

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Kalp ve Damar Cerrahisi
Anabilim Dalı

**DENEYSEL AORTİK İSKEMİ
REPERFÜZYON MODELİNDE AKCİĞER HASARI
ÜZERİNE ERİTROPOETİN'İN ETKİSİ**

Dr. ŞAHİN KAPAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr.Hüseyin OKUTAN

2007-İSPARTA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
KISALTMALAR	v
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.İskemi	4
2.2.Reperfüzyon Hasarı	8
2.2.1.Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı	12
2.3.Serbest Radikaller	13
2.3.1.Serbest Oksijen Radikallerinin Toksik Etkileri	18
2.3.2.Serbest Radikal Kaynaklı Hasara Karşı Savunma Mekanizmaları	19
2.3.2.1.Serbest Radikal Temizleyiciler	19
2.3.2.1.1.Süperoksit Dismutaz	19
2.3.2.1.2.Katalaz	19
2.3.2.1.3.Glutatyon	19
2.3.2.1.4. Glutatyon Peroksidaz	20
2.3.2.1.5. Glutatyon Redüktaz	20
2.3.2.2.Serbest Radikal Üretiminin İnhibisyonu	21
2.4.Antioksidanlar	21
2.5.İskemi Reperfüzyon Hasarını Önlemek İçin Tedavi Stratejileri	21
2.5.1.İskemik Önkoşullama (Preconditioning)	22
2.5.2.Antioksidan Tedavi	23
2.5.3.Antikompleman Tedavi	24
2.5.4.Antilökosit Tedavi	24
2.6.Aortik Kros Klempin Sistemik Etkileri	25
2.7.Aortik Kros Klemplemenin Diğer Organlar Üzerine Etkisi	29
2.7.1.Akciğer	29
2.7.2.Böbrek	30
2.7.3.Spinal Kord	31
2.7.4.Abdominal Organlar	31
2.8.İlaç-Eritropoetin	32

2.8.1.Eritropoetinin İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi	35
3.MATERYAL METOD	36
3.1.Aortik İskemi-Reperfüzyon Tekniği	36
3.2.Çalışma Dizaynı (Deney Modeli)	37
3.3.Biokimyasal İşlemler	37
3.3.1.Malondialdehid Ölçümü	38
3.3.2.Süper Oksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü	38
3.3.3.Katalaz Aktivitesi Ölçümü	39
3.3.4.Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü	39
3.4.Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi	39
3.5.İstatiksel Değerlendirme	40
4.BULGULAR	43
4.1.Biokimyasal Bulgular	43
4.2.Histopatolojik Bulgular	46
5.TARTIşMA	54
ÖZET	62
SUMMARY	63
KAYNAKLAR	64

ÖNSÖZ

Altı yıl süren Kalp ve Damar Cerrahisi Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle benden hiçbir desteği esirgemeyen Prof. Dr. Erdoğan İbrişim'e, Prof. Dr. Ahmet Öcal'a, Prof. Dr. Erkan Kuralay' a, Doç. Dr. Turhan Yavuz'a, Doç. Dr. Hüseyin Okutan' a, Yrd. Doç. Dr. Oktay Peker' e, Yrd. Doç. Dr. İlker Kiriş' e ve Uzm. Dr. Şenol Gülmen' e,

Tez çalışmamın planlama ve uygulama ve yazılması aşamasında en kısıtlı zamanlarında bile değerli vaktini bana ayıran ve bilgi ve kaynaklara ulaşmada yol gösterici olan tez danışmanım Doç. Dr. Hüseyin Okutan' a,

Tez çalışmamın uygulaması ve yazılması aşamasında her türlü konuda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. İlker Kiriş' e,

Desteklerinden dolayı aileme,

Üniversite eğitimimin ilk gününde tanıştığım bugünlere kadar hep yanımda olan ve her konuda destek olan sevgili eşime ve nöbet ertesi yorgunluğumu alan sevgili kızıma,

Uzmanlık eğitimim süresince gece-gündüz birlikte çalıştığım değerli meslektaşlarıma, hemşire ve personel arkadaşlarıma sevgilerimi, saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Şahin Kapan

KISALTMALAR

ATP	:Adenozin trifosfat
ROS	:Reaktif oksijen türevleri
NO	:Nitrik oksit
İR	:İskemi reperfüzyon
PMNL	:Polimorfonükleer lökosit
Epo	:Eritropoetin
TNF	:Tümör nekrozis faktör
AİR	:Aortik iskemi reperfüzyon
İAA	:İnfrarenal abdominal aorta
SOD	:Süperoksit dismutaz
KAT	:Katalaz
Gprx	:Glutatyon peroksidaz
MDA	:Malondialdehid
Ca	:Kalsiyum
SR	:Serbest radikal
AA	:Araşidonik asit
O ₂ ⁻	:Süperoksit
OH ⁻	:Hidroksil
HOCL	:Hipoklorik asit
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
DNA	:Deoksiribonükleik asit
NADPH	:Nikotinamid adenin nükleotid fosfat
C5a	:Kompleman5a
LT	:Lökotrien
İL	:İnterlökin
HPETE	:Hidroperoksieikozatetraenoik asit
PG	:Prostaglandin
TXA ₂	:Tromboksan A ₂
İCAM	:İntrasellüler adezyon molekülü
PARP (PARS)	: poli (ADP-riboz) polimeraz
NAD	:Nikotinamid dinükleotid
Cu	:Bakır
Zn	:Çinko
Mn	:Manganez
GSH	:Glutatyon
GSSG	:Okside glutatyon
AKK	:Aortik kros klemp
CO	:Kardiak output
TBA	:Thiobarbitürik asit

1.GİRİŞ

İskemi; organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesidir (1). İskemi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. İskemi hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak hücre içi adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açar. Bu durum hücre membranının ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum, sodyum ve su girmesi ile sonuçlanmaktadır. İskemi sırasında adenin nükleotidinin yıkımı da artmaktadır. Bu durum ise reaktif oksijen türevleri (ROS) prekürsörü hipoksantin hücre içi birikimini artırmaktadır. İskemi sonrasında o bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ve hücre içi moleküler oksijenin yeniden sunulması ile birlikte ROS hızla oluşmaktadır. İskemi aynı zamanda endotel hücrelerinde bazı proinflatuar gen ürünlerinin (lökosit adezyon molekülü, sitokinler vb.) ve bioaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A₂ vb.) sentezini artırırken, bazı koruyucu gen ürünlerinin (yapısal nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz-2) ve bu enzimlerin ürünlerinin [nitrik oksit (NO), prostasiklin] ekspresyon ve sentezini baskılamaktadır (2,3). Geri dönüşsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. Ancak reperfüzyonun gerçekleştirilmesi, iskemik dokularda iskeminin dokuda/organda oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara yol açabilmektedir (4). İskemi ve reperfüzyon periyodlarında oluşan bu zararlı etkilerin tümü iskemi-reperfüzyon (İR) hasarı olarak adlandırılmaktadır.

İskemi ve reperfüzyon klinikte çok çeşitli durumlarda gelişebilir. Bu azalmış perfüzyon durumlarından başlıcaları arasında akut arter tıkanıklığının olduğu çeşitli vasküler patolojiler, arterlere klemp koymanın gerekli olduğu vasküler cerrahi girişimler, iskemiye neden olmuş vasküler travmalar, transplantasyon ve şoktur. İR herhangi bir organ yada dokuda geliştikten sonra iskeminin süresi, şiddeti ve organın büyüklüğüne bağlı olarak hem o organda hemde uzak organlarda hasar gelişir. Temel olarak iskemi sonrası reperfüze edilen organda hücresel bütünlüğün bozulması sonucu ödem ve organ fonksiyon bozukluğu ile karakterize inflamatuvar ve metabolik bir hasar başlar. Olayın şiddetine bağlı olarak hasar hiçbir morfolojik değişikliğin

olmadığı durumdan bariz makroskopik hasarın olduğu bir düzeye kadar değişik derecelerde olabilir. Olay çoğu kez o organda sınırlı kalmayıp aktive olan bir çok sistem ve toksik medyatörlerin etkisi ile aralarında akciğerler, böbrekler, karaciğer ve kalbin olduğu eşitli organ ile endotel ve epitel gibi her organda olabilen hücreler etkilenir. Klinikte reperfüzyon hasarı sonrası uzak organ yetmezliğine bağlı komplikasyonlar ölüme bile yol açabilmektedir (5).

Akciğerlerde İR hasarı kardiopulmoner bypas, pulmoner tromboendarrektomi ve akciğer transplantasyonundan sonra sıklıkla oluşmaktadır (6). Akciğerlerde oluşan bu hasara lenfositler, pulmoner arteriyal endotel hücreleri, aveolar makrofajlar, pulmoner alveolar tip II hücreleri aracılık etmektedir (7). Aortanın geçici oklüzyonu ve takiben alt ekstremitelerin İR'i sonrası akciğer hasarın ortaya çıktığı bilinmektedir (8,9,10). Polimorfonükleer nötrofil lökositlerin (PMNL) alt ekstremitelerin İR'i nedeniyle olan akciğer hasarında esas role sahip olduğu gösterilmiştir ve azalmaları akciğerler üzerinde koruyucu bir etki gösterir (10). Klinik uygulamada alt ekstremitenin geçici iskemisi inotrop ve ventilatör destek gerektiren şok ve akut akciğer hasarı ile sonuçlanabilir (11). Ratlarda alt ekstremitenin İR'i serum tümör nekrosis faktör (TNF) konsantrasyonunda anlamlı bir artışa ve sonrasında da akciğerden NO üretiminde artışa yol açmaktadır. TNF ve NO alt ekstremiten İR'nin neden olduğu akciğer hasarı sürecinde anlamlı göstergelerdir (8,9,12,13).

Eritropoetin (Epo) 30.4 kDa moleküler ağırlığında bir glikoproteindir (14). Başlıca üretim yeri erişkinlerde böbrek iken fetüste karaciğerdir. Epo üretimi karaciğer ve böbrekte hipobarik hipoksi, iskemi ve anemi ile indüklenen oksijen defisitinin oluşturduğu uyarılar ile kontrol edilir (15).

Epo bugün kronik böbrek yetmezliği, human immun yetmezlik virüsü enfeksiyonu ve kemoterapi alan hastaların anemilerinde kullanılır ve cerrahi hastalarında allojenik kan transfüzyonunu azaltır. Bir çok çalışma eritrosit üretiminden öte beyin, böbrek ve kalp gibi dokuların İR'ine bağlı hasarlarını koruma yeteneğinde olduğunu göstermiştir (16). Veriler Epo' nun bu koruyucu etkilerinin, sitokinin antiapoptotik özelliğine bağlı olduğunu gösterir. Beyinde Epo' nun aynı zamanda İR sonrası inflamatuvar yanıtı azalttığı da bilinmektedir (17).

Epo' nun abdominal aorta cerrahisinde aortik iskemi reperfüzyon (AİR)' a bağlı akciğer hasarı üzerine etkileri henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmada Epo'nun infrarenal abdominal aorta (İAA) İR sonrası akciğer hasarına etkisi olup olmadığının deneysel olarak araştırılması amaçlandı. Bunun için rat İAA' da İR sonrası akciğer hasarına Epo'nun etkisi araştırıldı. Bu amaçla İR hasarı biokimyasal marker olarak akciğer doku örneklerinde malondialdehid (MDA) seviyeleri ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), ve glutatyon peroksidaz (Gprx) aktiviteleri ile dokulardaki histopatolojik değişiklikler incelendi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi

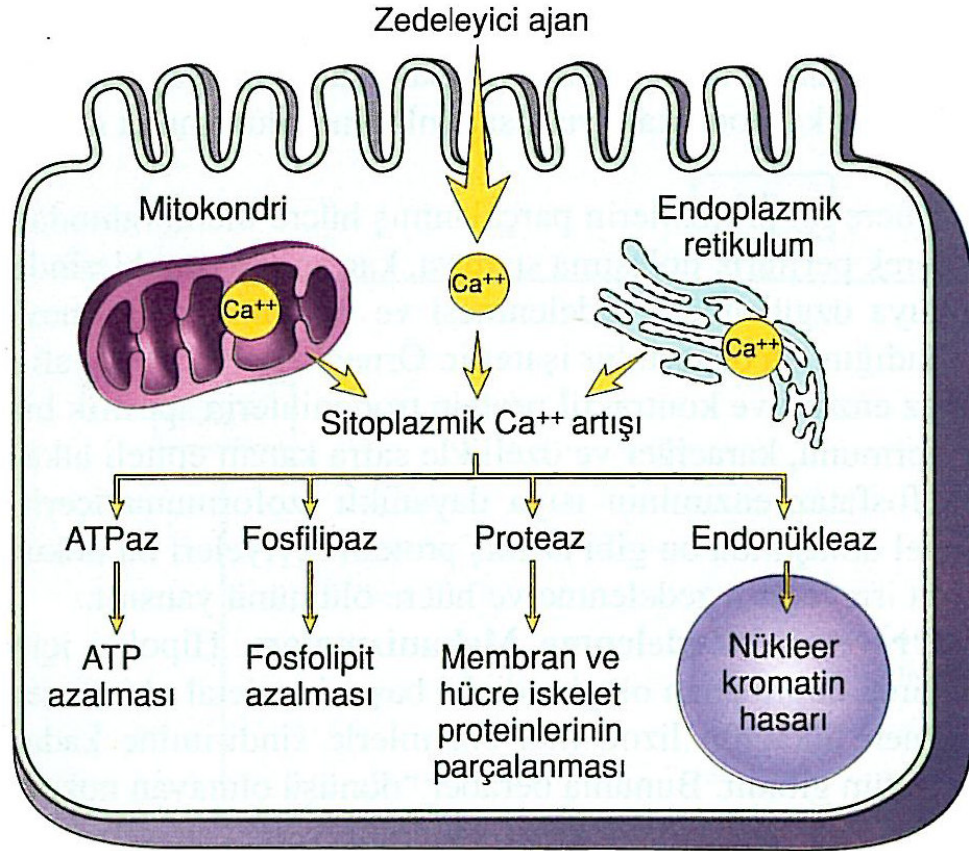
İskemi tanım olarak dolaşım tarafından dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılamamasıdır. İskemiye bağlı doku hasarında hücresele enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne neden olur (5).

İskemide hücre zedelenmesinin patogeneğinde oksijen yetersizliğinin önemi belirtilmekle birlikte kısmen azalmış reaktif oksijen türevleride hücre ölümünün önemli araçlarındanır. İleride ayrıntılı olarak anlatılacağı gibi bu serbest radikal türevleri hücre üzerinde lipid peroksidasyonu ve diğer zararlı etkilere neden olur (18).

Sitoplazmik serbest kalsiyum (Ca) normalde ATP bağımlı Ca taşıyıcıları ile oldukça düşük yoğunluklarda (0.1 M den az) tutulur. Bu durum canlılığını kaybeden mitokondrial ve endoplazmik retikulum Ca stokları varlığında ve hücre dışı Ca 1.3mM olduğunda geçerlidir. İskemi veya toksinler hücre dışı Ca' nın plazma membranından içeri akışına yol açar. Bunu hücre içi stoklardan Ca' nın serbest bırakılması izler. Artan sitoplazmik Ca sıra ile çeşitli fosfolipazları (membran hasarını ilerletir), proteazları (yapısal ve membran proteinlerini katabolize eder), ATPazları (ATP kaybını hızlandırır) ve endonükleazları (genetik materyali parçalar) aktive eder (18) (şekil 1).

İskemi klinik tıpta hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Glikolitik enerji üretiminin devam edebildiği hipoksinin aksine, iskemi glikoliz için gerekli maddelerin salınmasına olanak sağlar. Sonuç olarak iskemik dokularda anaerobik enerji üretimide yeterli maddelerin tükenmesi veya normalde kan akımı ile temizlenen metabolitlerin birikimiyle glikolizin engellenmesinden sonra durur. İskemi dokuları hipoksinin zedelediğinden daha çabuk zedeler. Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyonu üzerinedir. Oksijen basıncının azalması sonucu hücre içi ATP üretimi belirgin olarak azalır. ATP azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerinde etkisi olur. Yukarıda tanımlandığı gibi sitoplazmik serbest Ca' da bir artış vardır. Ayrıca plazma

membranının ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır. Bunu sodyumun hücre içinde birikimi ve potasyumun hücre dışına çıkışı izler. Sodyum eriyiğinin net artışı, suyun izoozmotik artışı ile birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme inorganik fosfatlar, laktik asit ve purin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan ozmotik yükü daha da artır (18).



Şekil 1: Hücre zedelenmesinde sitoplazmik alsiyum artışının kaynakları ve sonuçları. (Kumar V, Cotran R, Robbins SL., Temel patoloji (Basic Pathology), 6. edisyon, Temmuz 2000' den alınmıştır)

Hücresel ATP de azalma ile birlikte adenzin monofosfatta artma da fosfofruktokinaz enzimini uyararak glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır. Sonuç olarak glikojen hızla tükenir. Bu durum histolojik olarak karbonhidratların boyanmasının azalması ile gösterilebilir. Artan glikolizde fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH'nın düşmesine yol açar (18). Sonraki olay ribozomların granüllü endoplazmik retikülden ayrılması ve polizomlardan

monozomların oluşumu ile protein sentezinin azalmasıdır. Hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Ozmotik regülasyon kaybından dolayı hüme hücreler şişmiş gibi görünür. Eğer oksijen eski haline dönerse yukardaki tüm bozukluklar reverzibldır. Bununla beraber iskemi devam ederse irreverzibl zedelenme gelişir. Morfolojik olarak irreverzibl zedelenmeye mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz ve Ca' dan zengin yoğunlukların birikimi, plazma membranlarının geniş hasarı ve lizozomların şişmesi eşlik eder (18).

İskeminin hücresele etkileri (4):

- 1-Membran potansiyelinin değışmesi
- 2-İyon dağılımının değışmesi (↑ intrasellüler Ca^{2+} / Na^{2+})
- 3-Hücresele şişme
- 4-Hücre iskeletinin disorganizasyonu
- 5-Artmış hipoksantin
- 6-Azalmış ATP
- 7-Azalmış fosfokreatin
- 8-Azalmış glutasyon
- 9-Hücresele asidoz

Membran hasarının birçok potansiyel nedeni vardır (18) (şekil 2).

1- Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı: İskemiye bağılı Ca artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu artan parçalanmaya yol açabilir.

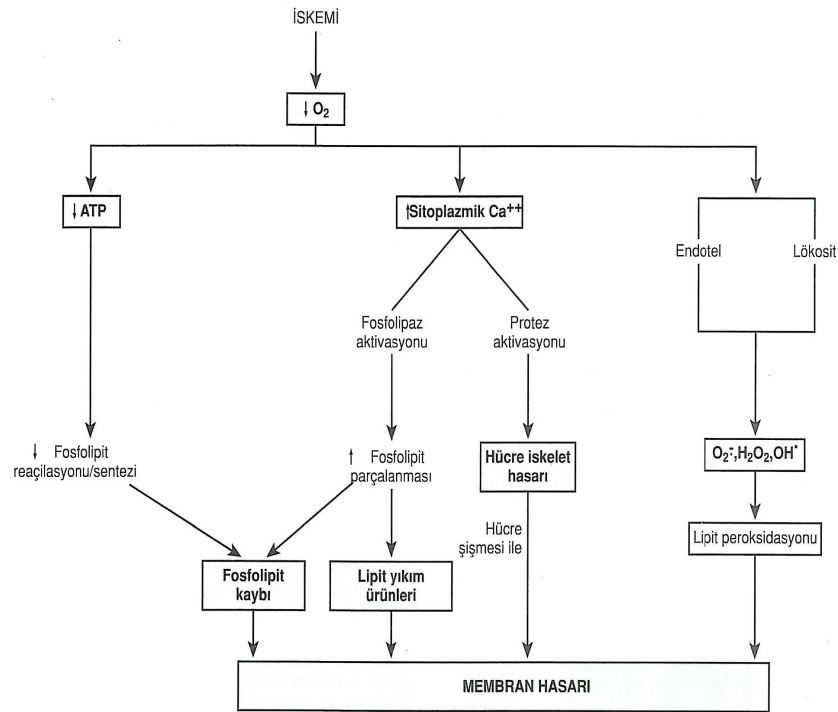
2- Hücre iskelet anormallikleri: Hücre içi Ca artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler.

3- Toksik oksijen radikalleri: İndirgenmiş oksijen türevleri hücre membranına ve elemanlarına zarar verirler. Bu gibi oksijen radikalleri iskemik dokularda, özellikle kan akımının düzelmesinden sonra artar. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında zedelenme alanına gelen PMNL tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.

4- Lipit yıkım ürünleri: Fosfolipit parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu katabolik ürünler membranlar üzerinde deterjan etkisi yapar.

Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç, yukarıda tanımlanan olaylarla Ca' nın bol miktarda hücre içine girmesidir (18) (şekil 1).

İskemi sırasında sellüler ATP hipoksantin oluşturmak üzere indirgenir. Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine oksidize edilir. Ancak iskemi sırasında ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüştürülür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotidi kullanan ksantin dehidrogenazın tersine ksantin oksidaz oksijeni kullanır ve bundan dolayı iskemi sırasında hipoksantin, ksantine dönüşümünü kataliz edemez. Sonuç olarak hipoksantin dokuda aşırı seviyelere çıkar. Reperfüzyonla oksijen tekrar sunulduğunda fazla miktardaki hipoksantin ksantin oksidaz tarafından dönüştürülmesi toksik ROS oluşumu ile sonuçlanır (19).



Şekil 2: iskemide membran hasarının mekanizmaları.(Kumar V, Cotran R, Robbins SL., Temel patoloji (Basic Pathology), 6. edisyon, Temmuz 2000'den alınmıştır).

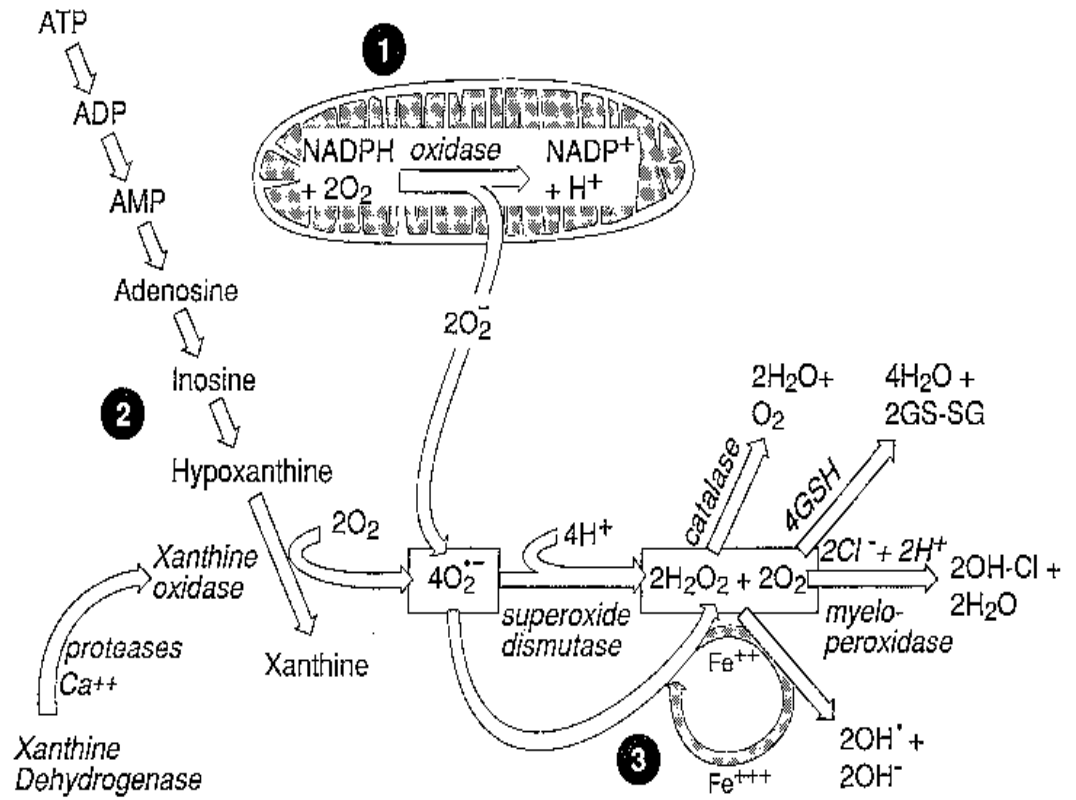
2.2.Reperfüzyon Hasarı

İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hemde toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu bir dizi olayın başlaması ile paradoksal olarak doku hasarına yol açar. İskemi döneminde dokuda biriken ksantin oksidaz dokuya aniden sunulan oksijeni kullanarak hipoksantini ürik asite çevirirken bu reaksiyon esnasında bol miktarda serbest radikal (SR) oluşumuna neden olur (5). Reperfüzyon döneminde dokuda nötrofil infiltrasyonu, kopleman sisteminin aktivasyonu, Ca aracılı proteazların aktivasyonu, araşidonik asit (AA) metabolizması gibi pek çok sistem de SR oluşumunu artırarak hasara neden olmaktadır (5). Günlük uygulama içerisinde tıbbın pek çok dalında iskemi ve reperfüzyonun yer aldığı olgular vardır. Şok, yanık, sepsis, pankreatit gibi olgularda ortaya çıkan hipovolemi ile iskemi ve bu durumların resusite edilmesi ile de reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır (5). Serebrovasküler olaylarda, myokard infarktüsünde, mezentriyovasküler olaylarda uygulanan trombolitik tedavi veya revaskülarizasyon ameliyatları da yine reperfüzyon hasarına neden olmaktadır. Travmalarda ve travma cerrahilerinde hipovolemi yada kanama kontrolü nedeniyle yapılan klemp, tampon uygulamaları iskemiye neden olurken resusitasyon sonrası mutlak bir reperfüzyon ile yine İR hasarı gündeme gelmektedir (5). Kardiyovasküler cerrahide aort yada periferik arter klemp uygulaması sonrası ortaya çıkan tablo İR hasarı ile karakterizedir. Transplantasyon cerrahisinde kaçınılmaz olarak transplante edilecek organın iskemi ve reperfüzyonu söz konusu olup oluşan hasar greft fonksiyonlarını etkilemektedir. Özetle bütün cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunun takip eden bir reperfüzyon periyodu vardır (5).

Reaktif oksijen türevlerinin rolü:

İskemik dokuların reperfüzyonu toksik ROS oluşumuna yol açar. Bunlar süperoksit anyonlar (O_2^-), hidroksil radikalleri (OH \cdot), hipoklorik asit (HOCl), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik oksitten derive peroksinitrittir (19). Oksijen kökenli SR aracıyla ile oluşan injuride başlangıç olay ksantin oksidaz kökenli O_2^- anyonlarının üretilmesidir (20). İskemi sırasında sellüler ATP hipoksantin oluşturmak üzere indirgenir. Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz

yardımıyla ksantine oksidize edilir. Bununla birlikte iskemi sırasında ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüştürülür. Substrat olarak nikotinamid adenin dinükleotid kullanan ksantin dehidrogenazın tersine ksantin oksidaz oksijeni kullanır ve bundan dolayı iskemi sırasında hipoksantin ksantine dönüşümünü katalize edemez ve bu da hipoksantin dokuda aşırı seviyelere çıkmasına yol açar. Reperfüzyonla oksijen tekrar sunulduğunda fazla miktardaki hipoksantin ksantin oksidaz ile dönüştürülmesi toksik ROS oluşumu ile sonuçlanır (19) (şekil 3).



Şekil 3: İskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisi (şeklin kaynağı: Kathleen E. De Greef 1,2, Dirk K. Ysebaert 1, Manuela Ghielli 2, Sven Vercauteren1, Etienne J. Nouwen2, Eric J. Eyskens1, Marc E. De Broe Neutrophils and acute ischemia-reperfusion injury, journal of nephrology vol. 11 no. 3 - 1998 / pp 110-122). 1. Solunum işleminin sonucunda normal fizyolojik koşullarda, oksijen radikalleri esas olarak hücrenin mitokondrilerinde olmak üzere, aynı zamanda nötrofillerde ve makrofajlardada üretilir 2. İskemik peryotta, ATP hipoksantine indirgenir ve ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. 3. Perfüzyon gerçekleşince, hipoksatin ksantine dönüştürülürken bu sırada O₂ radikalleri ve H₂O₂ üretilir. Fe²⁺ varlığında OH· radikali üretilir (Haber-Weiss reaksiyonu). Myeloperoxidaz varlığında, H₂O₂ hipoklorik asit (OH·-Cl)' e dönüştürülür. (ATP: adenosin trifosfat; ADP: adenosin difosfat; AMP: adenosin monofosfat GSSG: Glutasyon; GSH: Glutasyon (indirgenmiş formu); NADPH: nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş formu); NADP: nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.

Sellüler ve subsellüler membranların lipid peroksidasyonu da oksijen kökenli SR' nin artırdığı hücre injurisinde önemli bir mekanizmadır (21). Hücre membranları içerisinde poliansatüre yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu, hücresel bütünlük ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilir. Bu durum tek başına OH⁻ radikalleri ile başlatılabileceği gibi, uygun bir şelatör varlığında O₂⁻ ile de başlatılabilir. Lipid peroksidasyonu bitişik yağ asiti moleküllerinde otokatalitik (18) bir zincir reaksiyonu yaygınlaştırmak suretiyle lipid peroksil radikallerinin oluşumuna neden olabilir. OH⁻ radikalleri ilave olarak proteinler ve deoksiribonükleik asitin (DNA) direk oksidasyonuna neden olabilir. Bu aşamada enzim inaktivasyonu ve DNA ipliklerinin kırılması söz konusudur (21). Bu gibi DNA hasarı hem hücre ölümü hemde hücrelerin malin değişiminde rol alır. SR' ler ayrıca sülfidril aracılı protein çapraz bağları oluşturarak parçalanmanın artmasına veya enzimatik aktivitenin kaybolmasına neden olur. SR reaksiyonları direkt olarak polipeptid parçalanmasına da yol açabilir (18).

Lökositlerin rolü:

İR lökosit aktivasyonuna, kemotaksise, lökosit – endotelial hücre adezyonuna ve transmigrasyona neden olur (3,22). Lökositlerin vasküler lümeninden damar dışına çıkışında olayların oluş sırası (18);

1-Marjinasyon ve yuvarlanma

2-Adezyon ve endotelial hücreler arasından transmigrasyon

3-İnterstisyel doku içinde kemotaktik bir uyarıyı izleyerek migrasyon

Extravasküler kompartmana ulaşıldığında aktive edilmiş lökositler toksik ROS, proteazlar ve elastazlar salarlar ve buda mikrovaskuler permeabilite de artışa, ödeme, tromboza ve parankimal hücre ölümüne neden olur (3,22). Extravazasyondan sonra lökositlerin kimyasal bir uyarıyı izleyerek zedelenme bölgesine göç etmesine kemotaksi denir. Hem eksojen hemde endojen maddeler lökositler için kemotaktik olabilirler. Bunlar; çözülebilen bakteriel ürünler, kompleman sisteminin ürünleri (özellikle kompleman-5a), AA metabolizmasının lipooksijenaz yolu ürünleri (özellikle lökotrien-B4) ve sitokinlerdir (18). PMNL hücreler myeloperoksidaz ve nikotinamid adenin nükleotid fosfat (NADPH) oksidaz yoluyla SR' ler oluşturabilir (23). Oksijen metabolitlerinin oluşumu lökosit NADPH oksidazın hızlı aktivasyonuna

bağlıdır. Bu, NADPH'ı oksidasyona uğratar ve prosesde oksijen, O_2^- iyonuna indirgenir.



Süperoksit çoğu kez spontan dismutasyonla ($O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$) hidrojen peroksite dönüşür. Nötrofil lizozomları (azurofilik granüller) myeloperoksidaz enzimi içerirler ve klor gibi bir halid varlığında myeloproksidaz, H_2O_2 'yi HOCl' ye dönüştürür. HOCl kuvvetli bir oksidandır (18) (şekil 3). PMNL, H_2O_2 ve HOCl sekresyonu yoluyla hasarı indükleyebilir. Nötrofil granülleri ayrıca çok fazla sayıda enzim içerir. Bunlardan bazıları; serin roteaz, elastaz, kollojenaz ve jelatinaz'dır. Sonuç olarak bu enzimler ve ROS mikrovasküler permeabilite de artışa yol açarak yapısal matrix proteinlerinde lizise neden olur (23).

AA 20 karbonlu poliansatüre bir yağ asididir. Vücutta yalnızca hücre membran proteinlerinin bir komponenti olarak bulunur. AA bu fosfolipidlerden hücrel fosfolipazlar yoluyla salınır. Hücrel fosfolipazlar mekanik, kimyasal, fiziksel uyarı veya kompleman-5a (C5a) gibi iltihabi mediatörlerce aktive edilirler. Daha sonra siklooksijenaz enzimi ile prostoglandinler (PG) ve TXA_2 oluşturulur. Nötrofillerde baskın olarak lipooksijenaz enzimi ile de 5-HPETE oluşur. 5-HPETE oldukça kararsızdır; ya nötrofiller için kemotaktik olan 5-HETE' ye, yada lökotrienlere (LT) dönüşür. LT' lerdende özellikle LTB_4 nötrofiller için kemotaktiktir (18). Oksijen radikallerinin salımı sonucunda intra sellüler Ca' da bir artış olur ve bu Ca' artışının plazma membran fosfolipaz aktivasyonunun artışında çok önemli olduğu düşünülür. Fosfolipaz aktivasyonu ile de AA metabolizma ürünleri oluşmaktadır (21). Bu ürünler nötrofil aracılı İR hasarını şu üç yoldan biriyle etkiler.

1- Bu ürünlerden özellikle TXA_2 ve LTB_4 kemo-atraktan etkilidir (24,25). Myokardial iskemide AA metabolizma ürünleri inhibe edildiğinde nötrofil akümüülasyonu azaltılmıştır (26).

2-AA ürünleri aynı zamanda nötrofil aktivatörleri gibi çalışabilirler. LTB_4 nötrofil aracılı artmış kapiler permeabiliteyi in vivo ve in vitro indükleyebilir (27). TXA_2 ' ninde nötrofillerden H_2O_2 yapımını artırdığı bilinmektedir (28).

3- LT' ler ve TX mikrovaskularizasyon düzeyinde kan akımını ve böylelikle direk etkiyle doku perfüzyonunu etkiler (29). Bu yolla TX' in etkilerine bağlı reperfüzyon sırasındaki yavaş akımı ağırlaştırabilir (30).

Selektin ve adezyon molekülleri nötrofil aracılı hasarda önemli rol oynarlar. Selektinler; L-,P-, E-selektin olarak üçe ayrılır. P-selektin monoklonal antikolarlarının hayvan İR hasar modelinde, reperfüzyondan 10 dakika önce verildiğinde myokardial hasarı azalttığı gösterilmiştir (31). Hem P-, hemde E-selektin reperfüzyonda saatler içinde endotel üzerinde gösterilmişlerdir. Monoklonal antikolar ile açığa çıkmış nötrofil L-selektinin blokajıda nekroz alanlarında nötrofil infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (32).

2.2.1. Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Akciğerlerde İR hasarı kardiopulmoner bypas, pulmoner tromboendarrektomi ve akciğer transplantasyonundan sonra sıklıkla oluşmaktadır (6). Akciğerlerde oluşan bu hasara lenfositler, pulmoner arteryal endotel hücreleri, alveolar makrofajlar, pulmoner alveolar tip II hücreleri aracılık etmektedir (7). Pulmoner arter tromboendarrektomisininin takiben reperfüzyon sonrasında görülen pulmoner ödem, endotel hücrelerinin İR'ye maruz kalması sonucu değişen vasküler denge , reperfüzyon sırasında azalan NO, siklik guanozin monofosfat düzeylerine bağlı olarak gelişen vasküler disfonksiyon sonucu bozulan koagülasyon, vasküler permeabilite, vazomotor tonus, lökositlerin adezyonve agregasyon fonksiyonunda artış klinikte akciğerlerde iskemiye takiben reperfüzyonla karşılaşılan en önemli sorunlar olarak değerlendirilmektedir (33,34).

Akciğerlerde iskemik doku hasarının patolojik tablosu inflamatuvar yanıt ile ortak özellikler göstermektedir. İskemiye bağlı olarak akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artmakta, mononükleer ve PMNL aktivasyonu ve dokuya invazyonu görülmektedir. Akciğer inflamasyon yanıtında İL-1 β ve İL-6 en çok üzerinde durulan sitokinlerdir. Transdermal growth faktör $-\beta$ 1'in İR ve akciğer transplantasyonundaki önemi, İL-10 ile birlikte aut akciğer reddi ve reperfüzyon hasarını azaltmasının gösterilmesi ile gündeme gelmiştir (35). İR hasarı sırasında sitokin üretimi ile makrofaj, lenfosit ve nötrofil aktivasyonu paralel olarak

gelişmektedir. İskemi, makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemekte ve erken reperfüzyon hasarı oluşmaktadır. İL-8, İL-12, İL-18, TNF- α , interferon gama gibi sitokinler ise geç dönemde nötrofil ve T- lenfosit aktivasyonuna yol açmakta ve beraberinde geç dönem reperfüzyon hasarı oluşmaktadır. Adezyon moleküllerinin de iskemi sırasında pulmoner damar endotel hücrelerinde arttığı bilinmektedir. Bu moleküllerden P-selektin, intrasellüler adezyon molekülü (İCAM) -1 gibi moleküllerin deneysel olarak reperfüzyon sırasında bloke edilmelerinin de akciğer reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (1).

Oksidatif stres ROS oluşması ile karakterize bir durumdur. Bu türevler O_2^- , H_2O_2 ve OH^- dir. Bu türevler kararsız ürünler olup hücre permeabilitesinin artmasından hücre zarının erimesine kadar çeşitli derecelerde lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır (36). Akciğerde bir çok hücre tipi (endotel hücreleri, tip II pnömositler, klara hücreleri) ROS oluşturabilmektedir (37). Akciğerlerde iki ana mekanizma ROS oluşumuna katkı sağlamaktadır. Bu mekanizmalardan biri reperfüzyon yada solunum sırasında ortama oksijen yeniden sunulması ile O_2^- oluşumuna yol açan hipoksantin birikimidir. Anoksi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi ksantin oksidaz formuna dönüşmektedir. Enzimin oksidaz formu, ortamdaki oksijenin artışı ile hipoksantini O_2^- ye dönüştürmektedir. Diğer mekanizma ise iskemi ile aktive olan ve oksijenin O_2^- ve H_2O_2 ye dönüşümünü katalizleyen NADPH oksidaz sistemidir (38,39). Bu sistem yoğunlukla nötrofillerin, monositlerin ve makrofajların yüzey membranlarında bulunmaktadır.

Akciğerde reperfüzyon hasarını önlemek amacıyla farklı klinik stratejiler uygulanmaktadır. Bunlara örnek olarak iskemiden önce NO inhalasyonu, PG' lerin saklama solüsyonlarına eklenmesi, reperfüzyon sırasında kandaki kompleman faktörlerinin inhibisyonu, trombosit aktive edici faktör antagonistlerinin kullanılması ve sürfaktan tedavisi verilebilir (40).

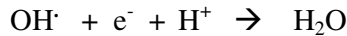
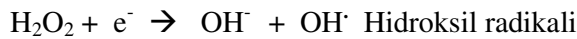
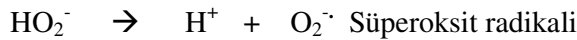
2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikal, dış orbitalinde eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak moleküle bir elektron ilavesi yada bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir. Bu özellikleri nedeniyle SR' ler

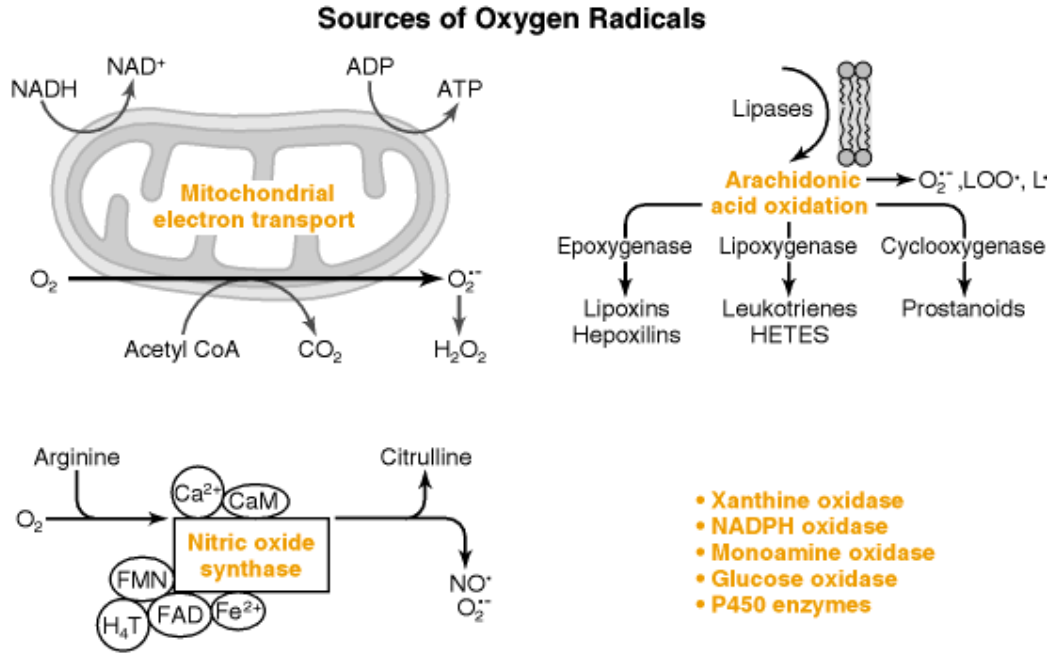
kolaylıkla hücre bileşenleri ile reaksiyona girebilir ve onların kimyasal yapılarını değiştirerek bu yapılarda hasar oluşturabilirler (5). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda pek çok hastalığın oluşumunda rol oynadıkları gösterilmiştir (5). Bunların başında kanser, ateroskleroz, katarakt, romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklar gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklar, epilepsi, alzheimer ve parkinson hastalıkları gibi bazı santral sinir sistemi hastalıkları, ülser ve kolit gibi gastrointestinal sistem hastalıkları sayılabilir (5).

SR' ler organizmada hem metabolizma sırasında endojen olarak sürekli oluşurlar, hemde radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasallar gibi etkenlere bağlı eksojen olarak ortaya çıkabilirler. Aerobik organizmalarda yaşamın sürdürülebilmesi için oksijene mutlak gereksinim vardır. Solunan oksijenin % 95 'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık % 5'ide oldukça toksik SR' lere dönüşmektedir (5). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile O_2^- radikali, iki elektron alarak indirgenmesi ile H_2O_2 oluşur. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif OH^- radikali oluşur. Dördüncü elektron ilavesi ile de su oluşmaktadır .

Serbest radikallerin oluşumu:



SR' ler organizmada mitokondrinin yanı sıra hücrelerin tüm fraksiyonlarında zara bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşmaktadır. Bunlar arasında mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi, sitoplazmada ksantin oksidaz, hücre zarına bağlı NADPH oksidaz ve lipoksigenazlar gibi enzimlerin kataliz ettiği reaksiyonlar sayılabilir (şekil 4).



Şekil 4. İskemi reperfüzyon sırasında hasara yol açabilen serbest radikallerin oluşum kaynakları (şekil; Basic Neurochemistry ,Molecular, cellular and medical aspects, sixth edition' dan alınmıştır) (48). Nitrik oksit sentaz, mitokondrial elektron-transport zinciri ve arachidonic asit metabolizması olası yollardır. LOO^* : lipid peroksil radikali, L^* : lipid alkoksil radikali, HETES; hidroieikosatetraenoik asitler, H4T; tetrahidriopterin, O^{*-2} ; superoksit radikali, CaM; calcium/calmodulin NO^* ; nitrik oksit, FAD; flavin adenin dinukleotide, FMN; flavin mononukleotid.

Aerobik organizmada oluşan SR' lerin çoğu oksijen ve azot kaynaklıdır. Bunlardan bir kısmı radikal niteliklidir, bir kısmı ise bazı reaksiyonlara katılıp radikallere dönüşebilmektedir, ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi organizmanın endojen antioksidan savunma sistemi tarafından engellenmektedir. Bu nedenle SR' lerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Bu dengenin bozulması durumunda SR' erin zararlı etkileri ortaya çıkmakta ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir.

SR' ler çevredeki tüm biyomoleküllere (nükleik asitler, membran lipidleri, enzimler, reseptörler gibi) zarar verirler. Hücresel hasar oluşumunda üç tip reaksiyon önemlidir.

Lipid peroksidasyonu: SR' lerin lipidler üzerindeki en önemli etkileri lipid peroksidasyonu uyarmasıdır. Lipid peroksidasyonu SR' ler tarafından başlatılan ve hücre zarlarında bulunan çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan

kimyasal bir olaydır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali, alkoksil radikali, lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir (5).

Hücre zarlarında lipid peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi etkilenmekte, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi Ca konsantrasyonu artmakta ve Ca bağımlı proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında önemli role sahiptir. Nitekim hücrede aşırı Ca birikmesinin sitotoksik olduğu gösterilmiştir (5). Öte yandan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik özelliğe sahiptirler.

Proteinlerin oksidatif modifikasyonu: SR' ler aminoasit yan zincirlerinin oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein ana- zincirini okside ederek protein parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel öneme sahip enzimlerde bozulmalar ortaya çıkmaktadır (5).

DNA hasarı: SR' ler, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Bu durumda DNA onarım mekanizmasının uyarılması ile poli (ADP-riboz) polimeraz (PARS) enzimi aktive olur (5). PARS nükleusta bulunan, protein modifikasyonu ve nükleotid polimerizasyonu yapan bir enzimdir. Fizyolojik rolü tam bilinmemekle birlikte gen ekspresyonu, gen amplifikasyonu, hücrel farklılaşma, malin transformasyon, hücre bölünmesi ve DNA replikasyonunda rolü olduğuna dair veriler vardır. PARS'ın aktivasyonu sonucu bu enzimin substratı olan nikotinamid dinükleotid (NAD) düzeyi düşer. NAD ise glikoliz ve trikarboksilik asit sikluslarında kofaktör olduğundan bu sikluslar durur ve böylece ATP oluşumu azalır. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tip hücre ölümü olur (5).

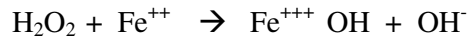
SR' ler molekülün yapısına göre oksijen merkezli (süperoksit radikali, peroksit radikali, hidroksil radikali, vb.), karbon merkezli (karbon tetraklorür, aromatik hidrokarbonlar) veya sülfür merkezli (glutatyon radikali) olarak gruplandırılabilir.

Oluşan SR' ler hücre membranı ve hücre içi organelleri etkilerken ekstrasellüler komponente de geçer ve uzak etkiler oluşturur. Burada SR' nin çözünürlüğü ile difüzyon hızı önem kazanmaktadır. Oksijen merkezli SR' ler incelendiğinde OH⁻ radikali çok potent olmasına rağmen difüzyon hızı yavaştır. Bu

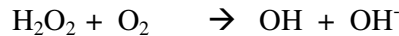
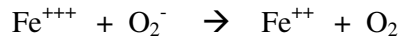
yüzden ancak oluştuğu yerde veya yakınında etki gösterir. Buna karşın H_2O_2 çok az potent olmasına rağmen plazma membranını, mitokondrial ve peroksizomal membranları rahatlıkla geçerek uzak etki gösterebilirler (41-43).

Günümüzde serbest oksijen radikalleri terimi yerine, daha kapsamlı olan ve hem süperoksit, hidroksil gibi oksijen içeren radikallere hem de aslında radikal olmayan ancak reaksiyonları ile oksijen içeren radikallerin oluşumuna neden olabilen peroksit, singlet oksijen, hipoklorik asit gibi molekülleri içine alan ROS terimi daha yaygın olarak kullanılmaktadır (54).

O_2^- radikali en çabuk ve en kolay oluşan radikaldir. Aktivitesi kısmen düşük olduğu halde diğer radikalleri oluşturduğu için önemlidir. OH^- radikali bu grupta en potent SR' dir ve oluşması için ortamda demir veya bakır gibi transizyonel metallerin varlığı gerekmektedir. Transizyonel bir metal tarafından katalizlenen bu reaksiyonlar Fenton reaksiyonları olarak bilinir (45).

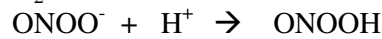
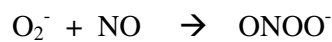


Bir transizyonel metalin varlığında O_2^- radikali H_2O_2 ile tepkimeye girerek OH^- radikalini oluşturur. Buna Haber-Weiss reaksiyonu denir (45).



OH^- radikali hücre içinde bulunan tüm moleküllerle reaksiyona girebilir. Diğer SR' ler gibi DNA'yı, lipitleri, karbonhidratlar ve proteinleri zedeleyebilir (46).

O_2^- radikali ile NO radikali reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturur. Fizyolojik pH da peroksinitrit hızla hidroksil ve nitrojen dioksit radikaline çevrilir (47,48).



2.3.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Toksik Etkileri

Serbest oksijen radikalleri hücrede aerobik metabolizma sırasında üretilir ve hücredeki tüm moleküller ile reaksiyona girebilirler ve en çok lipitler saldırıya uğrar (49). Üretim miktarı metabolizma hızına bağlı olarak artar (50). Normal şartlarda metabolik reaksiyonlarda kullanılan oksijenin sadece %5-10 'u kuvvetli toksik ürünlere dönüşür. Aerob organizmalar intrasellüler ve ekstrasellüler antioksidan savunma sistemleri ile bu toksik metabolitleri etkisiz hale getirerek kendilerini korur ve zararı minimum seviyede tutarlar. Antioksidan defans sisteminin gücünün zayıfladığı yada SR üretiminin bu savunma sisteminin gücünü aştığı hallerde hücreler zarar görür (51). Oksijen radikalleri çok kısa süreli oluştukları halde bu süre içinde etkin olarak detoksifiye edilmezlerse nükleik asitler, proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve glikoproteinleri içine alan bütün biyolojik materyal ile reaksiyona girerek reversibl yada irreversibl değişikliklere yol açarlar (50).

SR'lerin hücredeki başlıca zararlı etkileri; proteinlerin zarar görmesi, enzimlerin inaktivasyonu, membran ve serum lipitlerinde peroksidasyon, hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik, Na-K-ATPaz, Ca-ATPaz gibi hücre iyon transport proteinlerinin tahrip olması, DNA'nın zarar görmesi, bağ dokusu harabiyeti, ekstrasellüler etkiler olarak bildirilmektedir (49-51).

Bir kısım O_2^- vücutta nötrofil, monosit, makrofaj, eozinofil gibi inflamatuvar hücrelerden, hücrelerin yüzeylerinde bulunan redükte NADPH oksidaz sistemi ile kasten yapılmaktadır. Bu büyük miktardaki O_2^- yapımının amacı yabancı mikroorganizmaların öldürülmesidir. Kronik inflamasyonda bu normal koruyucu mekanizma hasara neden olabilir. Solunum yolu ile almış olduğumuz oksijenin yaklaşık %1-3 'ü O_2^- yapımı için kullanılır (52).

Bir diğer fizyolojik SR olan NO, vasküler endotel tarafından bir relaksing faktör olarak yapılır. Ayrıca beyinde ve fagositlerde de yapılır (53). NO pek çok fizyolojik fonksiyonlar için yararlı olmakla birlikte aşırısı toksik olabilir (53,54). O_2^- ve NO kimyasal olarak aşırı reaktif olmamakla birlikte bazı durumlarda daha toksik ürünler üretebilirler (54).

2.3.2. Serbest Radikal Kaynaklı Hasara Karşı Savunma Mekanizmaları

2.3.2.1. Serbest Radikal Temizleyiciler

SR temizleyicileri, reaktif oksijen parçaları ile reaksiyona girerek bunları zararsız maddeler haline dönüştüren ajanlardır. Bu ajanlardan enzimatik olanlar SOD, KAT, glutatyon (GSH), Gprx ve GSH redüktazdır.

2.3.2.1.1. Süperoksit Dismutaz

SOD, in vivo olarak dokuları SR' lere, özellikle $O_2^{\cdot -}$ ye karşı koruyan endojen bir enzimdir (55). İnsanlarda SOD' un Cu-Zn ve Mn kapsayan iki izoenzimi vardır. Cu-Zn içeren tipi sitozolde, Mn içeren tipi mitokondride yerleşmiştir (5). Bu izoenzimlerin her ikisi de $O_2^{\cdot -}$ nin H_2O_2 ' ye ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (5,55). $O_2^{\cdot -}$ i metabolize etme yeteneğine sahip sirkulatuar proteinler, seruloplazmin ve ekstrasellüler SOD'dir. Bununla birlikte bu sirkulatuar ajanların temizleyici etkisi aşırı değildir. Çünkü bu proteinlerin plazmadaki aktiviteleri oldukça azdır (55).

2.3.2.1.2. Katalaz

KAT vücutta doğal olarak oluşan bir metalloproteindir. İn vivo olarak SOD ile kombine bir şekilde etki eder (55). H_2O_2 peroksizomlarda KAT ile su ve oksijene indirgenir (56). KAT' ın canlı organizmanın eritrosit, karaciğer, böbrek, kemik iliği ve çeşitli dokularında da bulunur (57). KAT enzimi eritrosit içinde çözünür bir şekilde bulunmuştur (58). KAT enzimi için optimum pH 7.6' dır (59).

2.3.2.1.3. Glutatyon

Birçok hücrede bulunabilen GSH tripeptid (gama glutamil sisteinilglisin) yapıdadır. Glutamat, sisteine gama-karboksil aracılığı ile bağlanır. Molekülün aktif kısmı sisteinin sülfidril grubudur. Gama-glutamil kısmı hücre içi stabiliteyi ve peptidazlara direnci sağlamaktadır. GSH hücre zarında aminoasitlerin taşınmasında

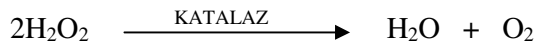
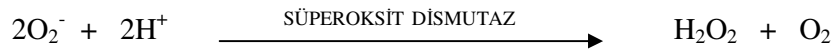
rol alır ve koenzim olarak enzim yapısına girer. Proteinlerin sülfhidril yapılarını korur, toksik maddelerin etkilerinin ortadan kaldırılmasında rol oynar (60).

2.3.2.1.4. Glutatyon Peroksidaz

GSH peroksidaz enzimi hücreleri organik hidroperoksitler ve H_2O_2 tarafından oluşturulan oksidatif tahribata karşı GSH' ı kullanarak korur (61). İndirgenmiş GSH, bol miktarda tiyol ihtiva eden, düşük moleküler ağırlıklı bir maddedir. GSH, sahip olduğu sülfhidril grubu ile oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreleri korur. GSH dokularda açığa çıkan lipit peroksitleri, H_2O_2 ' yi, askorbik asiti ve SR' leri indirger ve Gprx enzimi için kofaktör olarak görev yaparak sonuçta okside olur (62,63). Gprx, H_2O_2 varlığında redükte GSH' nin okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalize eder (64). Ayrıca H_2O_2 mitokondri ve sitoplazmada Gprx ile su ve oksijene indirgenir (56).

2.3.2.1.5. Glutatyon Redüktaz

GSH redüktaz bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu flavinadenin dinükleotiddir. Hem sitozol hemde mitokondride bulunmaktadır. GSSG hücreyi oksidanlara karşı koruyamaz. Hücre elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanan GSH redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla GSSG tekrar indirgenmiş GSH' a çevrilir (68).



Bu enzimlerin dışında ayrıca dimetilthioüre, dimetil sülfoksit ve merkaptopropionil glisin hidroksil radikalının tahmin edilen temizleyicileridir. Mannitol klinik olarak uzun yıllardan beri hidroksil radikal temizleyici etkisi nedeniyle kullanılmaktadır (50). Ayrıca N-asetilsistein ve kaptopril gibi tiol içeren bileşiklerin serbest oksijen radikalleriyle reaksiyona girdikleri ve NO oluşumuna yol açtıkları ileri sürülmektedir (65).

2.3.2.2. Serbest Radikal Üretiminin İnhibisyonu

SR hasarını azaltmak için kullanılan diğer bir yaklaşım SR üretiminde rol oynayan enzimlerin inhibisyonudur. Ksantin oksidaz inhibitörü allopurinol hipoksantin yapısal bir analogudur. Allopurinol ksantin oksidazı kompetitif olarak inhibe ederek O_2^- anyonunun üretimini azaltır (66).

2.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar, SR oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterirler. Antioksidan sistem grubuna giren enzimler; SOD, KAT, Gprx, glutatyon redüktaz, glutatyon transferazdır. Suda çözünen radikal tutucular; GSH, vitamin C, ürik asit, glikoz ve sisteindir. Yağda çözünen radikal tutucular; vitamin E, β -karoten, bilirubin, ubikinol ve flavanoidlerdir (5). Metal iyonlarını bağlayan proteinler; ferritin, transferin, haptoglobulin, seruloplazmin ve albumindir (5). Ayrıca propranolol, kalsiyum kanal blokerleri, kaptopril ve lipoksigenaz inhibitörü olan nafazotromunda deneysel olarak değişik sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (66).

2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarını Önlemek İçin Tedavi Stratejileri

Kontrollü deneysel modellerde İR hasarını başarıyla önleyen veya sınırlayan birçok tedavi stratejileri klinik pratik kullanımda süpheli sonuçlar vermektedir veya

insan klinik araştırmalarında kullanılmamaktadır. İR hasarını azaltmada kombine stratejilerin etkinliğini bulan az sayıda çalışma vardır (4).

İR hasarını azaltmak için tedavi stratejileri (4):

- 1-Kontrollü, dereceli reperfüzyon (controlled, graded reperfusion)
- 2-İskemik önkoşullama (preconditioning)
- 3-Aspirin-triggered Lipoxin Analogları
- 4-Antioksidan tedavi
 - a-Süperoksit dismutaz
 - b-N-asetilsistein
 - c-Allopurinol
 - d-Demir şelatörleri
 - e-Vitamin E
 - f-Katalaz
 - g-Mannitol
 - h-Tioller
- 5-Kalsiyum antagonistleri
- 6-Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri
- 7-Anti-kompleman tedavi
- 8-Lökosit deplesyonu / filtrasyonu
- 9-Anti-sitokin veya lökosit adezyon molekölü mAb
- 10-Endotelin reseptör antagonistleri
- 11-Platelet aktivasyon faktör antagonistleri
- 12-LTB4 antagonistleri

2.5.1. İskemik Önkoşullama (Preconditioning)

İskemik önkoşullama, dokuların kısa süreli iskemi ile karşı karşıya kalmasının onları uzamış İR'nin zararlı etkilerinden koruduğu şeklindeki fenomene işaret eder. Önkoşullama özellikle ventriküler fonksiyonu iyileştirmede ve İR sonrası myokardial nötrofil birikmesini ve apoptozisi azalttığını göstermiştir (67,68). İskemik ön koşullamanın yararlı etkileri bir çok yerde gösterilmiş olmasına rağmen insan klinik verileri sınırlıdır. İskemik önkoşullamanın koroner arter bypas greftleme

yapılan hastalarda sağ ventrikül kontraktilitesi üzerine koruyucu (69) ve karaciğer rezeksiyonu yapılanlarda da karaciğer hasarını azaltıcı (70) bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Akut ve geç iskemik önkoşullamanın koruyucu etkilerinin temelini farklı mekanizmalar oluşturur. Pertussis duyarlı G proteinlerin adenosin yada A₁ – adrenerjik reseptör aktivasyonu fosfolipaz C yada D stimülasyonu yolu ile akut önkoşullamanın kritik bir başlatıcısı olduğu görülmektedir, bu da sırasıyla protein kinaz C’yi aktive eder. Akut önkoşullamanın yararlı etkilerinin sebebi ATP duyarlı K⁺ kanallarının protein kinaz-C bağımlı fosforilasyonu olabilir (67). Akut önkoşullama hücre yüzeyine protein kinaz-C bağımlı 5’ nükleotidaz translokasyonunu da indükler. Bu hücrel adenosin yapımını artıran ve hücrel enerji depolarını destekleyerek ve/veya lökosit yapışmasını inhibe ederek koruma sağlayabilen bir etkidir (67). Her iki mekanizmada isofluranın yararlı myokardial etkilerinin nedenini açıklayabilir (71,72). Kısa ve uzamış iskemik hasar arasındaki zaman aralığı iki saatin üzerine çıktığında önkoşullamanın akut ve yararlı etkileri kaybediliyor olsada, eğer uzamış iskemik hasar ilk kısa iskemi periyodlarından 24 saat sonra oluşursa önkoşullamanın gecikmiş bir koruyucu etkisi gözlenir (3). Akut yanıtta farklı olarak gecikmiş önkoşullama değişmiş gen ekspresyonuna bağlı olduğu kadar antioksidan enzimler, nitrik oksit sentaz ve ısı şok proteinlerini içeren yeni protein sentezine bağlıdır (3).

2.5.2. Antioksidan Tedavi

Çok sayıda deneysel hayvan çalışmaları İR hasarını azaltmada ve önlemede antioksidan tedavinin, SOD, KAT, mannitol, allopurinol, vitamin E, N-asetil sistein, demir şelate eden bileşikler, anjiotensin konverting enzim inhibitörleri veya kalsiyum kanal blokerleri etkinliğini göstermiştir (2). İnsan rekombinant SOD ile ilgili küçük bir prospektif çalışmada hemorajik şoklu hastalarda Marzi ve arkadaşları (73) 5 gün boyunca devamlı süperoksid infüzyonu alan hastalarda anlamlı olarak daha az ciddi organ yetmezliği, daha az yoğun bakımda kalım ve daha düşük serum fosfolipaz ve PMNL elastaz konsantrasyonları olduğunu göstermiştir. İlaveten SOD’ un greft canlılığını artırdığı ve kadavra böbrek transplantasyonu sonrası akut rejeksiyon insidansını azalttığı gösterilmiştir (74).

2.5.3. Antikompleman Tedavi

İR sonrası doku hasarı kompleman inhibisyonu, kompleman deplesyonu veya kompleman eksik hayvanlarda anlamlı olarak azaltılmıştır (75). C3 dönüştürücü enzim inhibitörü, çözülebilen kompleman reseptör-1 uygulanmasının rat myokard IR modelinde infarkt alanını %44 azalttığı gösterilmiştir (76). Yakın zamanda insan C5 (h5G1.1-scFv) için spesifik humanize edilmiş rekombinant tek zincir antikorunun kardiopulmoner bypas ile koroner bypas ameliyatı geçirenlerde kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu, myokard hasarını, kan kaybını ve kognitif disfonksiyonu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (77). C5 inhibisyonunun rat İR modelinde myokardial infarkt alanını, apoptozisi ve lökosit infiltrasyonunu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (78).

2.5.4. Antilökosit Tedavi

Genelde lökosit aracılı İR hasarını engellemeyi hedefleyen deneysel terapötik stratejiler inflamatuvar medyatör alınımının veya reseptör bağlanmasıyla lökosit adezyon molekülü sentezinin veya lökosit endotelial adezyonunun inhibisyonu üzerine odaklanmıştır (22). İR sonrası lökosit aktivasyonu histamin, platelet aktivasyon faktörü, LTB₄ ve TNF- α gibi inflamatuvar medyatörlerin salınımı ile kolaylaştırılır. Çözülebilir IL-1 reseptör antagonisti, anti- TNF- α antikor veya platelet aktivasyon faktörü-LTB₄ antagonistleri gibi terapötik ajanlar kullanarak inflamatuvar medyatör salınımının veya reseptör bağlanmasıyla lökosit aktivasyonu İR'ın indüklediği lökosit aktivasyonunu hafifletir (22). Son zamanlarda aspirinin, 15-epi-lipoksin olarak tanımlanan (veya aspirin-triggered lipoksin), yeni bir grup bioaktif eikozanoidin biosentezini tetiklediği bulunmuştur (79). Lipoksinler AA'dan türetilen lipoksigenaz ürünleridir. Bir çok denemede lipoksinler LT' ler ve diğer medyatörler tarafından indüklenen nötrofillerin kemotaksisini, adezyonunu ve transmigasyonunu önler (79). Aspirin – triggered lipoksin analoglarının uygulanmasının vasküler permeabilitedeki nötrofil aracılı değişiklikleri ve hayvan arka alt extremitte İR modelinde ikinci organ hasarını hafiflettiği gösterilmiştir (79).

Lökosit aracılı İR hasarını azaltmada ikinci bir tedavi stratejisi lökosit adezyon molekül sentezinin inhibe edilmesidir. Lökosit adezyon molekül sentezini düzenleyen nükleer faktör κB gibi transkripsiyon faktörleri D-penisilamin, altın tuzları, salisilatlar, aspirin, glukokortikoid gibi yaygın olarak kullanılan antienflamatuvar ilaçların çoğunun hedefleridir (22).

Lökosit aracılı İR hasarını azaltmada üçüncü tedavi stratejisi lökosit endotelyal adezyonunun inhibisyonudur. Bu antilökosit adezyon molekülü monoklonal antikorları veya çözülebilen adezyon moleküllerinin membran bağımlı formunun kendi bağına bağlanmasını önlemek için uygulandığı çalışmalarda örneklerle gösterilmiştir (22).

2.6. Aortik Kros Klempin Sistemik Etkileri

Aortik kros klemp (AKK) uygulamasına hemodinamik yanıtta ilk değişiklikler genelde kalp hızında anlamlı değişiklik olmadan arter basıncında ve sistemik vasküler dirençte artıştan ibarettir (80). Kardiyak outputtaki (CO) değişiklikler hakkındaki bilgiler de çelişkilidir. CO'nun AKK sırasında düştüğü inancı yaygındır (81). Bu çelişkilerin sebebi afterload, preload ve kan volümü dağılımında, koroner kan akımı, myokardial kantraktilite ve diğer faktörlerdeki değişikliklerin derecesindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (82). Farklı seviyelerde AKK uygulanmasıyla kan volümü dağılımında da farklılıklar olur. Supraçölyak seviyedeki oklüzyon ortalama arter basıncında, dolum basıncında, end-sistolik ve end-diastolik ventrikül volümlerinde dramatik artışlara yol açabilir (81). Oklüzyonun distalindeki vücut kısmında oksijen tüketimi düşer ve paradoks olarak oklüzyonun üzerinde ki dokularda da oksijen uptake düşer. Aortik oklüzyonun üstündeki kas dokusunda azalmış oksijen tüketiminin sebepleri açık değildir (83). Kros klemp seviyesi üzerindeki dokularda oksijen uptake düşüşü (83) ve deltoid kastaki kreatin fosfat düşüşü kros klemp uygulanmasından hemen sonra başlamaktadır (84). Bu olayda aortik oklüzyonun distalindeki iskemik dokulardan kaynaklanan endotoksin veya diğer mediatörler anahtar rol oynar. AKK konulması sempato-adrenal deşarj ile ilişkilidir ve buda arteriollerini konstrikte eder ve klempin proksimalindeki dokularda kapiller akımı düşürür. Aortik klempin proksimalindeki

dokularda ki kan akımındaki bir artış aynı zamanda oklüzyonun üzerindeki vasküler yapılarda dramatik dilatasyona neden olur (85). Proksimal hipervolemi, vazodilatasyon ve klempin proksimalindeki dokularda akım artışı mikosirkülatuar bozukluklara yol açabilir ve oksijen değişimini tehlikeye atabilir.

Aortanın konstriksiyonu ve beraberinde gelen ortalama aortik basınç artışı myokardial dokuda adenozin, inosin ve hipoksantin konsantrasyonlarında artışla ilişkilidir (86). Myokard içinde adenozin ve inosin birikmesi sadece myokard kan akımı artışından değil aynı zamanda myokard kontraktilite artışından da sorumludur (87). İnosin hem adenozinin deaminasyonu hemde inosin monofosfatın defosforilasyonu yoluyla myokardial hücrelerde üretilen adenin nükleotidlerinin indirgenme ürünüdür (88). İnosin normal kalp ve iskemik kalp kasında myokardial kan akımını ve kontraktiliteyi artırır.

AKK' nin seviyesi hemodinamik yanıtın derecesinde önemli rol oynar. Ortalama arteriyel kan basıncındaki değişiklikler, dolum basınçları, end-diastolik ve end-sistolik sol ventrikül alanlarının değişiklikleri, ejeksiyon fraksiyon ve duvar hareketleri bozuklukları infrarenal AKK sırasında minimal iken supraçölyak AKK sırasında daha şiddetlidir (89). AKK süresi arttıkça sistemik vasküler rezistans artar ve CO düşer (82).

Kros klempin distalinde aortada basınç düşer (90). Oklüzyon distalindeki dokulardaki kan akımı basınca bağımlıdır ve birkaç kat düşer. Bundan başka oklüzyon distalinde kan akımı preload' u veya CO' u yükseltmekle artmaz, buda oklüzyon sonrası kan akımının perfüzyon basıncına bağlı olduğunu gösterir (90).

Torasik aorta klempinin kaldırılması vasküler dirençte ve arteriyel kan basıncında düşmeye neden olur (91,92). CO düşebilir (93), artabilir (91,92) veya değişmeyebilir (94). Sol ventrikül end-diastolik basıncı düşer ve myokardial kan akımı artar (91). Klemp kaldırılmasına yanıt olarak reaktif hiperemi önemli komponentlerden biridir (95).

Aortik oklüzyonun altındaki iskemik dokudan gelen kanda metabolik asidoz ve laktat konsantrasyonunda artış gösterilmiştir (81,93,96). Asidozun derecesi altta yatan hastalığa bağlıdır. Örneğin abdominal aort anevrizması onarımı yapılacak olan hastada infrarenal kros klemp iliak venöz kanda laktat konsantrasyonu ve laktat-pirüvat oranında dramatik artışa yol açar. Oklüzif aortik hastalıklarda bu değişiklikler

daha az belirgindir (97). Birçok araştırmacı derin asidozun deoksijene kandan kaynaklandığını belirtmektedir. Bununla birlikte aortanın klempini kaldırıldıktan sonra metabolik asidozun düzeltilmesi arteryal hipotansiyon derecesini etkilemez (112). Aortadan klempin kaldırılması karbondioksit salınımında artış (99) ve oksijen tüketiminde (100) anlamlı, geçici bir artışla ilişkilidir.

Renin aktivitesinde (101) ve anjiotensin konsantrasyonlarında (102) AKK sırasında artış gözlenir.

Torasik aortanın klempenmesi epinefrin ve norepinefrin konsantrasyonlarında büyük artışa neden olurken abdominal aortanın klempenmesi kan katekolamin konsantrasyonlarında daha az artışlara yol açar (103). Epinefrin kros klemp sırasında ve özellikle sonrasında; norepinefrin de sadece klemp kaldırılması sonrası artar (103).

Serbest oksijen radikalleri:

AKK sırasında oklüzyonun distalindeki kaslarda laktat-pirüvat oranı artar ve intramüsküler pH ve femoral venöz kan akımı düşer. Elektif abdominal aort cerrahisi geçirenlerde ciddi postop hipofosfatemisi görülmüştür (104). Bunun sebebi hemodilüzyon ve üriner fosfat atılımı ile ilişkili transient tübüler hasar olabilir. Bir sebebi de reperfüzyon sonrası yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin resentezinin takip ettiği iskemi ile indüklenen intrasellüler delesyondur. Resentez extrasellüler taraftan intrasellüler kompartmana fosfat şiftine neden olabilir. Bu süreç aynı zamanda aortik cerrahi sonrası hastalarda hipofosfatemisi gelişimine yol açabilir. Hipoksik durumlarda ATP nin metabolize olması adenozin, hipoksantin, ksantin oksidaz, purinler ve oksijen serbest radikalleri oluşturur (105). Tavşanlarda torasik aorta klempinin kaldırılması sonrası plazma ksantin oksiredüktaz konsantrasyonu beş kat artmıştır (105). İnsanlarda infrarenal aortik klempin kaldırılması sonrası sistemik hipoksantin konsantrasyonu üç, femoral venöz konsantrasyon yirmi kat artmıştır; aortik oklüzyon süresi ile hipoksantin konsantrasyonu arasında kuvvetli bir korelasyon gözlenmiştir (106). Hipoksantin repofüzyon sırasında oksijen radikalleri oluşturmak yoluyla hücresel hasara neden olabilir (107). Supraçölyak aortanın 45 dakika klempenmesi ve daha sonra klempin kaldırılıp iskemik dokuların reperfüzyonu interstisyel alana sıvı şiftine neden olur (108). Artmış permeabiliteye

bağlı sıvı şiftleri aort klempini kaldırılmadan önce uygulanan süperoksit dismuaz ile minimize edilir. Allopurinol torasik aorta klempinmesinin neden olduğu gastrik mukoza lezyonlarını azaltmıştır (109). Reperfüzyon sırasında azalmış veya gecikmiş oksijen sunumu ile İR hasarının anlamlı olarak azaltılabileceği gösterilmiştir. Örneğin iskemi sonrasında dokuların reperfüzyonun başlangıçta anoksik kan ile ve daha sonra normooksik kan ile yapılması postiskemik mikrovasküler hasarı azalttığı gösterilmiştir (110).

Prostaglandinler AA' dan siklooksigenaz yoluyla oluşur Yirmi karbonlu poliansatüre bir yağ asidi olan AA hücre membran fosfolipidlerinden fosfolipaz yoluyla salınır. AA' dan enzimatik reaksiyonlarla oluşan ürünler inflamasyon ve hemostaz olmak üzere birçok biyolojik olay üzerine etkilidir. Bunlardan PGI₂ vazodilatasyon yapar ve trombosit kümelenmesini engeller. TXA₂ vazokonstriksiyon yapar ve trombosit kümelenmesini uyarır. PGD₂, PGE₂, PGF_{2α} ise vazodilatasyon yapar (18). PG konsantrasyonları AKK sırasında ve sonrasında artmıştır (111).

Aortik cerrahi sonrası gözlenen kardiopulmoner komplikasyonlar anaerobik metabolik ürünlere ve iskemik dokulardan salınan ve daha sonra akciğer tarafından yakalanan mikroagregatlara bağlanabilir (112). TX akciğerlerde nötrofil yakalanmasını indükler (113) ve yakalanmayı akciğerlerde mikrovasküler permeabilitede artış takip eder (114). Nötropenik hayvanlarda reperfüzyon ile plazma veya akciğer lenf TXB₂ konsantrasyonlarında veya pulmoner permeabilitede artış gözlenmez (115). Nötrofiller büyük olasılıkla proteazlar ve serbest oksijen radikalleri içeren vazotoksik bileşiklerin salınımı yoluyla bu süreçler içinde yer almaktadırlar. Nötrofil adherence reseptör CD18 uzak iskemi ve reperfüzyon sonrası nötrofil bağımlı pulmoner hasarda önemli bir rol oynayabilir (116).

Anafilatoksin, C3a ve C5a konsantrasyonları abdominal aort cerrahisi sırasında artmaktadır (117). C3a konsantrasyonundaki artışlar AKK'nin süresi ile ilişkilidir (118). Anafilatoksinler arterler de dahil bir çok dokuda ve organda düz kas kontraksiyonunun potent mediatörleridir; pulmoner arter basıncını, pulmoner vasküler direnci ve vasküler permeabiliteyi artırır (119). Hem C3a ve hemde C5a mast hücrelerinden histamin, lökositlerden proteaz ve peroksidaz ve platelet aktive edici faktör salınımı yapar (120). C3a taşikardiye, atrioventriküler ileti bozukluklarına ve koroner vazokonstriksiyona sebep olur (120).

AKK kaldırılması sonrası gelişen myokardial disfonksiyon tüm hemodinamik yanıtta da önemli bir rol oynayabilir. Myokardial disfonksiyonun sebeplerinden biri iskemik dokulardan kaynaklanan myokardial depresan faktör oluşumu ve salınımı olabileceği bildirilmektedir (121).

Bir vasküler oklüzyonun kaldırılmasından sonra iskemik organda kan akımının tam olarak düzelmemesi yaygın bir klinik gözlemdir. Bu İR ile bağlantılı “no reflow” fenomeni mekanizmasını artmış lökosit endotelyal hücre adezyonu, platelet- lökosit agregasyonu, interstisyel sıvı akümülyasyonu ve azalmış endotelyum bağımlı vazorelaksasyon oluşturur. Bunlar hepsi mekanik olarak kan akımı obstrüksiyonuna neden olur (122). Klinik olarak bu kendini postreperfüzyon döneminde devam eden organ disfonksiyonu, transplante edilmiş greftin yetmezliği veya artmış infarkt alanı ile belli eder (4).

2.7. Aortik Kros Klemlemenin Diğer Organlar Üzerine Etkisi

2.7.1. Akciğer

Abdominal ve özellikle torakal aorta cerrahisi sonrası pulmoner komplikasyonlar sıklıkla gözlenir. Yakın bir çalışmada 1414 hastaya torakoabdominal anevrizma tamiri yapılmış ve sonuçları analiz edilmiş (123). % 8 oranında ciddi pulmoner komplikasyon görülmüş ve uzamış respiratuar destek ve trakeotomi uygulanmış. Torasik aortanın klemplenmesi ve sonrasında pulmoner vasküler direncin artması yaygın bir bulgudur (124,125). İAA’ dan klemp kaldırılmasında insanlarda pulmoner arter basıncında ve pulmoner vasküler dirençte artışa yol açmaktadır (117,124,126-128). Bu tip artışların mekanizması açık değildir fakat pulmoner mikroembolizm buna sebep olabilir (127,128).

AKK sırasında ve klemp kaldırıldıktan sonra pulmoner dolaşım bozukluklarında PG’ lerin rolü açık olarak gösterilmiştir. İskemi pulmoner arter basıncını artıran TX yapımına neden olur (129). Bu da akciğerlerde nötrofil tutulmasını indükler ve pulmoner mikrovasküler permeabiliteyi artırır (113). İnfrarenal AKK konulması insanlarda TXA₂ sentezinde artışa ve ortalama pulmoner arter basıncında ve pulmoner vasküler dirençte zaman bağımlı artışa yol açar (125).

Bundan başka TX sentezinin inhibisyonu veya TX reseptörlerinin blokajı pulmoner hipertansiyonu, lökopeniyi, akciğerlerde lökosit sekestrasyonu ve akciğerde mikrovasküler permeabilite artışını engeller (130). Arka bacak iskemisi sonrası akciğerlerde sekestre olan nötrofiller büyük olasılıkla hem elastaz hemde serbest oksijen radikalleri salınımı yoluyla akciğerde permeabilite ödemine yol açar (131). Bu nedenle vücudun iskemik alt yarısının reperfüzyonu TXA₂ sentezine ve nötrofil ve platelet aktivasyonu ve pulmoner disfonksiyona neden olmaktadır (132,133).

Aortik cerrahi sonrası tanımlanan pulmoner komplikasyonlar iskemik dokulardan salınan ve daha sonra akciğerlerde yakalanan anaerobik metabolik ürünlere ve mikroagregatlara bağlanır (112). Nötropenik hayvanlar reperfüzyonla pulmoner permeabilitede veya plasma veya akciğer lenf TX konsantrasyonlarında artış göstermedi. Nötrofillerin serbest oksijen radikalleri ve proteazları içeren toksik bileşikler saldığı olasıdır. Pulmoner mikroembolizasyon da akciğer dokularından vazoaaktif (esas olarak vazokonstriktif) maddelerin salınımı ile ilişkilidir (134-136).

Pulmoner dolaşımında gözlenen bu değişiklikler (artmış basınç ve vasküler direnç) aortik cerrahi sırasında gösterilmiş olan anafilatoksin aktivitesindeki artış ile kısmen açıklanabilir (118). C3a ve C5a pulmoner vasküler tonusu artırır (119), immün yanıtı suprese eder (137) ve bu nedenle pulmoner enfeksiyon riskini artırabilir.

2.7.2. Böbrek

İAA cerrahisinde hemodializ gerektiren böbrek yetmezliği insidansı %5 dir (138). Suprarenal aorta cerrahisi sonrası tüm renal komplikasyonların oranı yüksektir ve %17 lere ulaşır (139). İnfrarenal AKK renal vasküler dirençte büyük bir düşme ve renal kan akımında % 30 luk bir düşüş ile ilişkilidir (140,141). Renal hemodinamik detoriasyon klemp kaldırıldıktan sonra da devam eder (141). İAA cerrahi geçiren hastalarda cerrahiden altı ay sonra renal plazma akımı ve glomeruler filtrasyon oranı hala anlamlı derecede düşük bulunmuştur (142).

2.7.3. Spinal kord

Torasik aortanın klemplenmesi sonrası parapleji ilk kez 80 yıldan daha fazla yıl önce köpeklerde tanımlanmıştır (143). Nörolojik defisitinin nedenlerinin altında AKK sırasında spinal kordun kan akımında düşme yatar. Spinal kordun hasar almaması kollateral arterlere ve komunikasyonlara bağlıdır. Alt torasik veya üst lumbar aortadan çıkan Adamkewicz arteri genellikle alt spinal kord kan desteğinin önemli bir kısmını sağlar. İAA' dan çıkma sıklığı %25-50 arasındadır (144,145). Eğer Adamkewicz arteri kros klempin konulduğu taraftan çıkarsa anterior spinal arterdeki basınç distal aortadakinden daha az olabilir (146).

Desendan torasik AKK konulması ile ilişkili paraplejinin esas mekanizmasının altında spinal kord iskemisi ve reperfüzyonu yattığı için kros klempin süresi etkilidir. Çalışmalar 30 dakikanın altındaki kros klemp süresinin sıklıkla güvenli olduğunu gösterir (147,148). Distal aortik basınç (veya daha doğrusu anterior spinal arter basıncı) ile serebral spinal sıvı basıncı (veya venöz basınç) arasındaki fark olarak tanımlanan spinal kord perfüzyon basıncı, paraplejinin patogenezinde önemli rol oynar. Torasik aortanın krosklempini sadece distal aortik – anterior spinal arter basıncında düşüşle değil aynı zamanda serebrospinal sıvı basıncında artışla ve spinal sıvı boşluğunun kompliansında da düşüşle ilişkilidir (149). Komplians spinal sıvı boşluğundaki volüm ve basınç arasındaki ilişkidir.

2.7.4. Abdominal organlar

Spinal kord risk altındaki tek organ değildir. İç organlarda en fazla iskemi görülen kısım kolonun sol tarafıdır. Abdominal aort cerrahisi sonrası kolonoskopi yoluyla yapılan prospektif muayene % 6 kolon iskemisini göstermiştir (150,151). Bu iskeminin inferior veya superior mesenterik arterden kan sağlamadaki bozukluklardan kaynaklandığı açıktır (152). Aortanın infraplanknik kros klemplenmesinin iç organların besleyici akımında bozulma ile ilişkili olduğu olasıdır. Bu hipotez infrarenal kros klempleme yapılan köpeklerde yapılan gözlemlerle desteklenir ve bunlarda radyoaktif işaretli 9-mikrometre küreleri yakalamada büyük bir düşme görülür (153). Barsak iskemisi gelişmesinde

hipovolemi, tromboz, kardiyak yetersizlik ve mikroembolizm de göz önünde bulundurulmalıdır.

2.8. Eritropoetin

Epo birçok erişkin memeli türünde böbrekte üretilen ve plazma molekül ağırlığı yaklaşık 30400 dalton olan glikoprotein yapıda bir hormondur. Epo üretimi karaciğer ve böbrekte hipobarik hipoksi, iskemi ve anemi ile indüklenen oksijen defisitinin oluşturduğu uyaranlar ile kontrol edilir (15).

Böbrek Epo üretiminde primer organdır. Epo'nun de novo sentezi oksijen defisitine yanıt olarak oluşmakta ve sentez için diğer plazma faktörlerine ihtiyaç duyulmamaktadır. Böbrekte Epo üreten hücreler primer olarak peritübüler kapiller yataktaki interstisyel hücrelerdir. Ancak çalışmalarda Epo üretimi için glomerüler ve tübüler orjinli hücrelerin varlığında bildirilmektedir. Epo mRNA'sını üreten hücrelerin sayısı hematokrit ile ters orantılıdır. Şiddetli anemide hematokrit azaldıkça Epo salgılayan yeni hücrelerin sayısında artış olduğu ileri sürülmüştür (15).

Fetüste temelde Epo üretimi karaciğerdedir ve böbrekteki primer üretim ancak doğum sonrası 4-6 hafta sonra gerçekleşmektedir. Erişkin memeli türlerinde de karaciğer primer ekstra renal Epo üretiminde temel kaynaktır (15,154). Karaciğerdeki üretim için böbreğe oranla muhtemelen daha şiddetli hipoksik stimulus gereklidir. Anefrik olgularda karaciğer en önemli ekstrarenal Epo üreten organdır. Anemik transgenik farelerde yapılan çalışmalarda in situ hibridizasyon deneylerinde Epo mRNA'sının yaklaşık % 80 'inin hepatositlerde ve geri kalan %20 'inin sinüzoidal aralıktaki nonepitelyal hücrelerde lokalize olduğu açığa çıkarılmıştır (15).

Epo gen aracılığı ile üretilen 193 aminoasitlik bir proteindir ve hücrelerden salgılanma öncesinde N terminalinden 23 aminoasitlik bir rezidüel bölümü ayrılarak periferik kana verilir. Periferik kana salgılandığında karboksil terminalinde 166. pozisyondaki arjininin uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. İnsan plazmasında üriner Epo da yada pürifiye rekombinant Epo da arjinin rezidüleri bulunmaz. Bu nedenle dolaşımdaki Epo 165 amino asit içermektedir (15).

Epo bioassay, radyoimmunoassay ve enzyme linked immunoassay yöntemleri ile in vivo ve in vitro ölçümü yapılabilmektedir (15).

Hematolojik olarak normal sağlıklı kadınlarda erkeklere oranla daha düşük hemoglobin konsantrasyonları bulunmasına rağmen erkek ve kadın serum Epo konsantrasyonları arasında anlamlı fark yoktur. Plazmadaki Epo konsantrasyonları yaş ve sirkadiyen ritim ile ilişkili değildir (15).

Eritropoezis genellikle anemide ve yükseklik hipoksisinde oksijen sunumu azaldığında stimüle edilmektedir ancak bu durumlardan glomerüler filtrasyon oranı ve oksijen tüketimi etkilenmemektedir. Bununla birlikte klinikte ve hayvan modellerinde renal arter stenozunda renal kan akımında ve dolayısıyla oksijen sunumunda dramatik bir azalma meydana gelmesine karşın Epo sekresyonunda bir artışa neden olmaktadır. Bu durum reanal kan akımındaki primer azalmanın glomerüler filtrasyon oranında ve dolayısıyla sodyum reabsorbsiyonu ve oksijen tüketiminde orantılı bir azalmaya neden olduğu şeklinde açıklanmaktadır (15).

Epo'nun eritroid progenitor hücrelerin diferansiyasyon ve proliferasyonunun stimüle edilmesi ve eritroid hücrelerin matürasyon sürecinde yaşama kabiliyetini desteklemesi şeklindeki spesifik etkilerinin Epo' nun membran reseptörlerine bağlanması yolu ile ortaya çıktığı gösterilmiştir (155). Yüksek ve düşük afiniteli olmak üzere iki çeşit Epo reseptörü varlığı rapor edilmiştir. Epo membran reseptörüne bağlanmasını takiben Epo hücre içine alınır ve ardından parçalanır. Epo reseptörlerinin Epo ile etkileşimini takiben sinyal iletiminde AA metabolizmasının lipoksijenaz ürünleri, kemik iliğine kalsiyumun alınımının stimülasyonu, protein kinaz C aktivasyonu ve hedef eritroid hücre nükleusunda tirozin fosforilasyonu gibi yolların rolü bulunduğu öne sürülmektedir (15).

Epo metabolizmasında primer organ karciğerdir. Epo yarılanma ömrünün yaklaşık ratlarda 1.5-3.5 saattir. Normal insanlarda endojen Epo' nun yarılanma ömrü 4-12 saattir. İntravenöz bolus doz olarak verilen pürifiye rekombinant insan Epo plazma klirensi eksponansiyel bir şekilde gerçekleşir. Eliminasyon yarılanma ömrü normal insanlar ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda 2-13 saat olarak bildirilmiştir. Plazma Epo klirensi yaklaşık 10 ml/dk'dan azdır. İnsanlarda pürifiye insan Epo'su plazma volümüne bağlı olmakla birlikte dağılım volümü

yaklaşık 30-100 ml/kg olarak belirlenmiştir (15). Eritropoetin üretimini etkileyen farmakolojik ajanlar tablo 1’ de verilmiştir (15).

Rekominant insan eritropoetinin potansiyel klinikte kullanıldığı durumlar; böbrek yetmezliği anemisi (dializ ve predializ hastaları), otolog kan donasyonu, kemoterapi ve radyasyon tedavisinden iyileşme, prematürite anemisi, kronik anemiler [inflamasyon (romatoid artrit, vb), enfeksiyon (AİDS, vb), neoplazi, aplastik anemi, myelodisplastik sendromlar, hemoglobinopatiler (örn: Orak hücreli anemi)] olarak sıralanabilir (15).

Epo Üretimini Artıranlar	Epo Üretimini Azaltanlar
Kobalt	Civalı diüretikler
Tiroksin	Alkilleyici ajanlar
Büyüme hormonu	Östrojenler
Prolaktin	β_2 adrenerjik blokerler
Serotonin	Adenozin A ₁ Ag, (CHA)
Vazopresin	Kalsiyum ionofor (A23187)
Testosteron	Kalsiyum kanal blokerleri (yüksek doz)
5 α – androstanlar	Forbol eterleri(TPA)
3,5 adenozin siklik monofosfat (cAMP)	Diaçilgliserol
Prostasiklin (PGI ₂)	IL-1
Prostaglandin E ₂ (PGE ₂)	Tümör Nekrozis Faktör (TNF α)
Prostaglandin E ₁ (PGE ₁)	
6-keto PGE ₁	
Anjiotensin II	
Nikel	
Albuterol (Ad B ₂ Ag)	
Terbutalin (Ad B ₂ Ag)	
İzoproterenol (Ad B ₁ B ₂ Ag)	
Adenozin A ₂ Ag, (NECA)	
Kalsiyum kanal blokerleri	

Tablo 1: Eritropoetin üretimini artıran ve azaltan farmakolojik ajanlar (197).

2.8.1. Eritropoetin'in İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi

Orijinal olarak eritrosit üretimi yapan renal hormon olarak tanımlanan Epo'nun bugün diğer bir çok doku tarafından lokal olarak fiziksel ve metabolik strese cevaben üretildiği bilinmektedir. Otokrin ve parakrin rolleri ile önkoşullanmaya (iskemik tolerans) neden olur ve spesifik olarak TNF- α ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin beyin, kalp, böbrek ve diğer dokularda harap edici potansiyellerini sınırlar. Lokal Epo üretimi genel olarak hasarı takiben suprese olduğu için eksojen Epo verilmesi klinik ve prelinik çalışmalarda, İR, toksinin yol açtığı renal hasar ve stroku takiben, başarılı bir tedavi yaklaşımı haline gelmiştir. Epo' nun doku korumasında terapotik zamanlama aralığı, hasardan önce, sırasında ve sonrasında olmak üzere geniştir. Epo' nun doku koruyucu etkisinden sorumlu sinyal yollarını (signaling pathways) anlamada ilerleme kaydedilmiştir. Deneysel gözlemler Epo' nun değişik biyolojik aktivitelerine aracılık eden Epo reseptör izoformlarının varlığını gösterir ve Epo reseptör ve beta common reseptör (CD131) alt ünitesinden oluşan doku koruyucu reseptör kompleksi tanımlanmıştır (156).

Epo' nun iskemiye karşı antiapoptotik, antioksidan, anjiojenik ve nöroprotektif etkiler gibi çok sayıda koruyucu etkileri hücre kültüründe ve hayvan modellerinde gösterilmiştir (157). Ateş E ve ark renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine Epo' nun etkisini ve bu etkide tirozin kinaz yolunun rolünü araştırmışlar. Epo inhibitörü olarak genistein kullanmışlar. Sonuç olarak Epo' nun renal İR hasarını azaltmada etkili olduğunu ve bu etkinin tirozin kinaz aktivitesi ile ilişkili olabileceğini savunmuşlardır (157).

Epo'nun nöroproteksiyondaki mekanizması arasında glutamatın yol açtığı toksisitenin önlenmesi apoptozun inhibisyonu, antiinflamatuvar etkileri ve anjiogenezin stimülasyonu sayılabilir (158).

3. MATERYAL METOD

Süleyman Demirel Üniversitesi deney hayvan laboratuvarından elde edilen, her iki cinsten, ağırlıkları 200-250 g arasında olan 24 adet Wistar-Albino cinsi rat çalışmaya alındı. Ratlar deney öncesi tel kafeslerde 12 saat gece 12 saat gündüz sirkadiyan ritim de, ortam sıcaklığı 24-26 °C ve nem oranı %50-60 olacak şekilde tutuldular. Deneyden 12 saat önce, su hariç beslenmeleri durduruldu. Tüm ratların bakımı, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen ‘Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri’ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan (NIH basım no.85-23, 1985 revize edildi) ‘Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için Kılavuz’una uygun olarak yapıldı. Çalışma protokolü ve deneysel metod Süleyman Demirel Üniversitesi Etik Kurul tarafından onaylandı (08.11.2005 tarih ve 11/32 sayılı Etik Kurul kararı).

3.1. Aortik İskemi-Reperfüzyon Tekniği:

İskemi reperfüzyon modelini oluşturmak için ratlar üç ayrı deney grubunda farklı prosedür uygulandı. Tüm denekler için intramuskuler enjeksiyonla 100 mg/kg dozda ketamine hydrochloride (ketalar flakon, Pfizer, İstanbul, Türkiye) verilerek anestezi sağlandı ve bir ısıtma lambası altında ratlara supin pozisyon verildi (**fotoğraf 1**). Cilt aseptik olarak hazırlandı ve orta hattan laparotomi yapıldı (**fotoğraf 2**). Sıvı dengesini korumak amacıyla, 10 ml, ılık serum fizyolojik peritoneal boşluğa verildi. Barsaklar ıslak gaz ile sola çekilerek abdominal aortaya ulaşıldı (**fotoğraf 3**). İAA’ ya travmatik olmayan bir mikrovasküler klemp (vascustratts II, midi straight 1001-532; Scanlan Int., St. Paul, MN, USA) konuldu (**fotoğraf 4**). Isı ve sıvı kaybını en az miktara indirmek için batın insizyonu kapalı tutuldu. 30 dakikalık oklüzyon sonrası batın tekrar açılarak İAA’ daki mikrovasküler klemp kaldırıldı ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. Aortik klempleme ve reperfüzyon işlemi, klempleme işlemi sırasında distal aortada pulsasyonun kaybolmasıyla (**fotoğraf 6**) ve reperfüzyon ise klempin kaldırılması sonrası distal aortada pulsasyonun geri gelmesiyle (**fotoğraf 7**) değerlendirildi. Kontrol grubuna ait ratlara laparotomi ve eşit sürede İAA diseksiyonu uygulandı ancak bu gruba İR

uygulanmadı. Reperfüzyon sonrası tüm ratlar dekapitasyon yoluyla öldürüldü ve akciğerleri toraks boşluğundan çıkartıldı (**fotoğraf 8,9**). Akciğerlerin bir kısmı biyokimyasal incelemeler yapıncaya kadar -78°C de, diğer kısmı ise histopatolojik inceleme yapıncaya kadar %10 'luk formaldehid solüsyonu içinde saklandı.

3.2. Çalışma Dizaynı (Deney Modeli)

Ratlar, eşit sayıda (n = 8) ve rast gele olarak üç deney grubundan birine dahil edildi:

Grup 1 (Kontrol): Laparotomi ve İAA diseksiyonu yapıldı ancak İAA oklüzyonu yapılmadı.

Grup 2 (AİR): Laparotomi ve AİR yapıldı.(30 dakika iskemi ve takiben 60 dakika reperfüzyon)

Grup 3 (AİR + Epo): Laparotomi ve AİR yapıldı. Ek olarak Epo verildi.(30 dakika iskemi + 60 dakika reperfüzyon + 1000 Ü/kg subkutan Epo).

Ratlar randomize ve eşit sayıda olmak üzere üç gruba ayırıldı. I. gruptaki (kontrol grubu,n = 8) ratlara laparotomi ve abdominal aort diseksiyonu yapıldı ancak İR uygulanmadı. II. gruptaki (AİR grubu,n = 8) ratlara laparotomi ve abdomina aorta diseksiyonu yapıldı. Ardından infrarenal aortaya 30 dakika süreyle travmatik olmayan mikrovasküler klemp ile oklüzyon ve 60 dakikalık reperfüzyon uygulandı. III. gruptaki (AİR + Epo, n = 8) ratlara da laparotomi ve aynı sürede İR uygulandı. Epo (Eprex flakon, Santafarma , İstanbul, Türkiye) deneyin 30 dakikalık oklüzyon (iskemi) süresinin 25. dakikasında (reperfüzyondan 5 dakika önce) rat ensesinden 1000 Ü/Kg dozda ve subkutan yolla verildi (**fotoğraf 5**).

3.3. Biokimyasal İşlemler

Biokimyasal analizler için dondurulmuş rat akciğerleri serum fizyolojik ile yıkandı, ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra % 10 luk homojenat elde etmek için, % 0.05 sodium azide içeren 100 mmol/L soğuk fosfat tamponu (Ph:7.4) içinde homojenize edildi (Ultra Turrax T25, Janke and Kunkel GmbH and Co., KG Staufen, Almanya). Bu homojenatlar 30 dakika süreyle sonike edildi (Bandelin Sonoplus UW 2070, Berlin, Almanya) ve ardından süpernatant ele etmek için santrifüj edildi (5000 g 10

dk boyunca). Süpernatantlar biokimyasal incelemeler için kullanılmaya kadar –78°C derecede saklandı. Süpernatantın protein içeriği Lowry yöntemi ile saptandı (159).

3.3.1. Malondialdehid Ölçümü

Reperfüzyon süreci sonunda artan serbest radikal yapımının bir göstergesi olan ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyleri, Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi ile saptandı (160). Bu metodun değerlendirme prensibi MDA ile thiobarbitürik asit (TBA)' in reaksiyonu ile oluşan renk oluşumunun spektrofotometrik ölçümüyle gerçekleşir. Bu amaçla, 100 gr/L 'lık trichloroacetic asit solusyonundan 2.5 ml, her santrifurj tüpünde 0.5 ml serum (supernatan)' a eklenerek 15 dakika süre ile kaynayan su banyosuna tabi tutuldu. Musluk suyu altında soğutulan tüpler 1000 g hızda 10 dakika süre ile santrifurj edildikten sonra elde edilen materyalin 2 ml' si, 6.7 g/L lik TBA solusyonunun 1 ml' sine eklenerek 15 dakika süre ile kaynayan su banyosunda tutuldu. Bu solusyon musluk suyunda soğutulduktan sonra absorbansı 532 nm lik spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1601, shimadzu,kyoto) ölçüldü. MDA seviyesi, MDA-TBA kompleksinin emilim katsayısı (emilim katsayısı ϵ : $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$) ile hesaplandı ve sonuç proteinin miligramındaki nanomole olarak ifade edildi.

3.3.2. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi, Spitz ve Oberley (161) ve Woolliams'a (162) ait yöntemler kullanılarak ölçüldü. SOD aktivitesinin tayini, 2-(4-iodofenol)-3-(4-nitrofenol) -5-feniltetrazoliumklorid ile reaksiyona girerek kırmızı bir formazan boya oluşturan süperoksit radikallerini üreten ksantin oksidaz reaksiyonu temel alınarak yapıldı. SOD aktivitesi bu reaksiyonunun inhibisyon derecesi olarak saptandı. Sonuçlar (U/mg protein) olarak ifade edildi.

3.3.3. Katalaz Aktivitesi Ölçümü

KAT aktivitesi Aebi metoduna göre çalışıldı (163). Bu yöntemin prensibi, hidrojen peroksit (H_2O_2)' in parçalanma hızının hız sabitinin (s^{-1},k) belirlenmesi esasına dayanır. Hız sabiti, $k = (2.3/\Delta t)(a/b) \log (A_1/A_2)$ formülü kullanılarak hesaplandı. Formülde A_1 :0.saniye, A_2 :15. saniye absorbans değerlerini, a: dilüsyon faktörü, b: süpernatant protein içeriğini göstermektedir. Sonuçlar k/g protein olarak ifade edildi.

3.3.4. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

Gprx aktivitesi Paglia ve ark.'nın (60) metoduna göre çalışıldı. Gprx, H_2O_2 varlığında redükte GSH' nin GSSG' ye yükseltgenmesini katalize eder. H_2O_2 ' nin bulunduğu ortamda Gprx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH' ye indirgenir. Gprx aktivitesi, NADPH'ın $NADP^{+}$ 'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı ve ünite/gram (U/gr) doku proteini şeklinde belirtildi (60).

3.4. Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Ratların akciğer biopsileri ayrı ayrı formalin solüsyonunda tespit edilerek rutin takip işlemleri sonrası parafine gömülerek bloklandı. 5 mikrometrelik kesitler yapılarak hematoxilen eosin boyasıyla boyandı ve ışık mikroskopu ile incelendi. Tüm örnekler deney gruplarından habersiz aynı patolog tarafından değerlendirildi. Her örnekte en az iki farklı kesit incelendi. Akciğer hasarı kesitlerde saptanan alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji ve intraalveolar makrofaja göre aşağıdaki skalaya uygun olarak semikantatif olarak skorlandı (12,164,165).

Skorlama sistemi: (-) : Değişiklik yok

(+) : Fokal, hafif değişiklikler

(++) : Multifokal belirgin değişiklikler

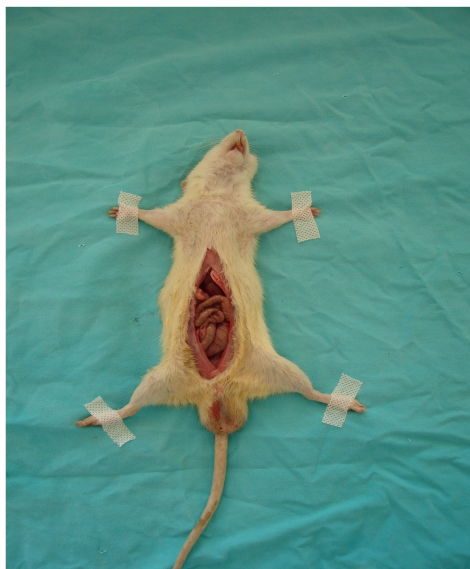
(+++): Yaygın belirgin değişiklikler

3.5. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL; USA) kullanıldı. Veriler 'ortalama \pm standart sapma' olarak sunuldu. Biokimyasal verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki farkların incelenmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey's honestly significant difference testi kullanıldı. P değerinin 0.05 ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Histopatolojik bulguların istatistiksel değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki anlamlı farkların belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi için $p < 0.05$ değerleri ve Mann-Whitney U testi için $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



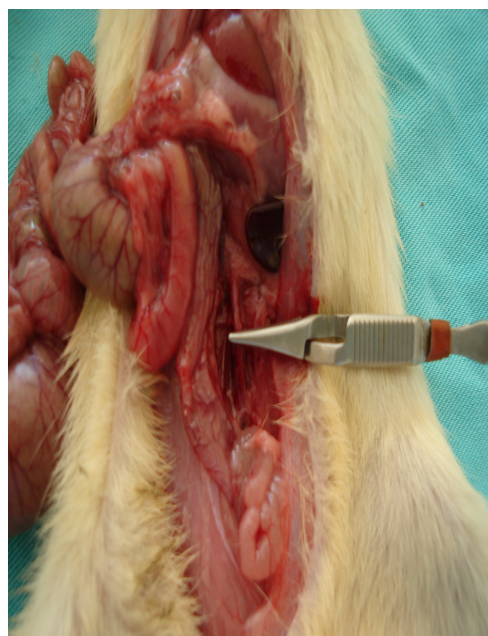
Fotoğraf 1.



Fotoğraf 2



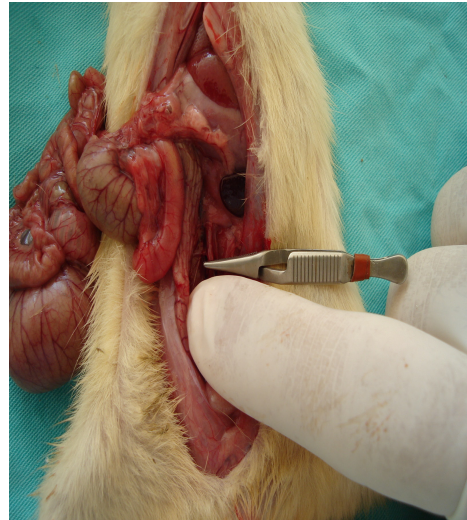
Fotoğraf 3



Fotoğraf 4



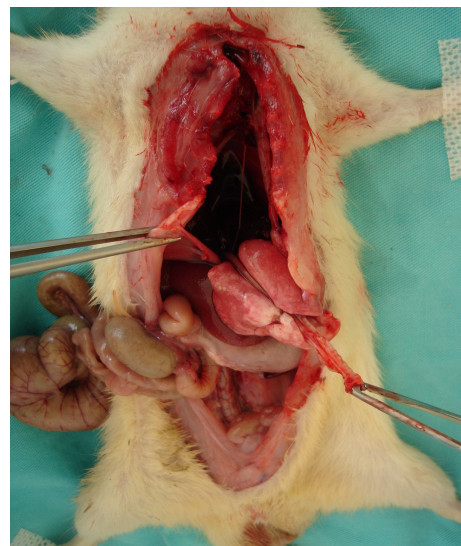
Fotoğraf 5



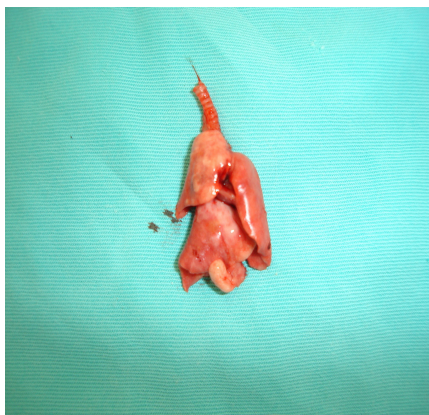
Fotoğraf 6



Fotoğraf 7



Fotoğraf 8



Fotoğraf 9

4. BULGULAR

4.1. Biokimyasal bulgular

	MDA(nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Katalaz (k/mg protein)	Gprx(U/gr protein)
1	5,21	2,65	-	0,46
2	5,16	2,54	0,03	-
3	-	2,82	0,11	0,42
4	-	3,55	0,10	0,44
5	8,30	2,76	0,04	0,42
6	4,34	3,51	0,05	0,48
7	5,07	3,60	-	0,45
8	3,66	-	0,10	0,43

Tablo2: Kontrol Grubuna Ait Biokimyasal Sonuçlar

	MDA(nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Katalaz (k/mg protein)	Gprx(U/gr protein)
1	7,90	2,88	0,10	0,37
2	-	-	0,17	-
3	13,54	3,28	0,12	0,42
4	11,55	3,70	0,11	0,53
5	10,10	3,94	0,16	0,56
6	6,68	4,17	0,14	0,62
7	6,41	3,98	-	0,53
8	8,72	4,10	0,07	0,58

Tablo3: AİR grubuna ait biokimyasal sonuçlar

	MDA(nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Katalaz (k/mg protein)	Gprx(U/gr protein)
1	6,39	3,24	0,09	0,47
2	7,51	4,11	0,08	0,51
3	9,04	3,35	0,07	0,50
4	-	3,7	-	0,58
5	8,01	2,80	0,05	0,53
6	8,16	-	0,08	0,50
7	9,58	3,43	0,07	-
8	-	-	0,07	-

Tablo 4: AİR + Epo grubuna ait biokimyasal sonuçlar

Not: Tablolardaki (-) işareti ile gösterilen parametreler, teknik nedenlerle biokimyasal değerlendirmelerin yapılamadığı veya hatalı çıkan sonuçları göstermektedir. Bu sonuçlar istatistiksel değerlendirmenin dışında tutulmuştur.

	MDA (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Katalaz (k/mg protein)	Gprx (U/gr protein)
Kontrol grubu	5,29 ± 1,59	3,06 ± 0,46	0,07 ± 0,03	0,44 ± 0,02
AİR grubu	9,27 ± 2,61 *	3,72 ± 0,47 *	0,12 ± 0,03 *	0,51 ± 0,08
AİR+Epo grubu	8,14 ± 1,06	3,44 ± 0,44	0,07 ± 0,01 **	0,51 ± 0,03

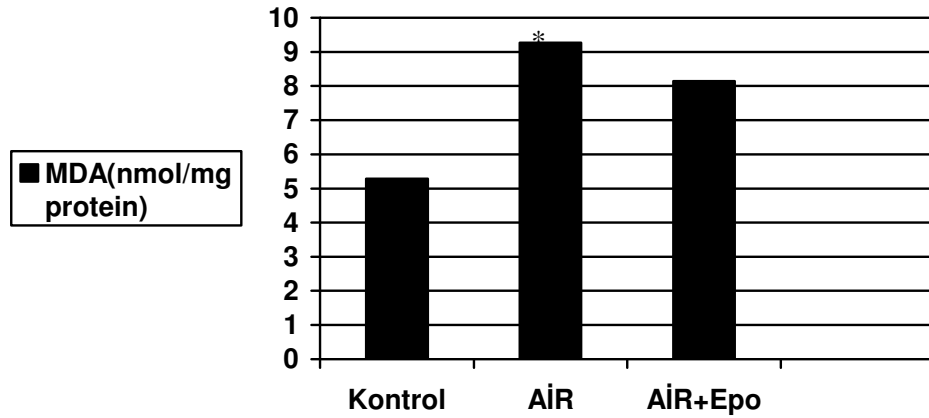
Tablo 5: Gruplara göre biokimyasal sonuçların ortalama ve standart sapma değerler

* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P< 0.05

** AİR grubu ile karşılaştırıldığında P< 0.05

AİR grubunda MDA düzeyleri ile SOD ve KAT enzim aktiviteleri kontrol grubundaki değerlere göre (p<0,05) anlamlı derecede yüksek bulundu. AİR grubunda Gprx enzim aktivitelerinde kontrol grubuna rakamsal olarak yükselme görüldü ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

AİR + Epo grubunda KAT enzim aktivitelerinde AİR grubundaki değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (p<0,05). AİR + Epo grubunda MDA düzeyleri ile SOD ve Gprx enzim aktivitelerinde AİR grubuna göre rakamsal olarak azalma gözlemlendi ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

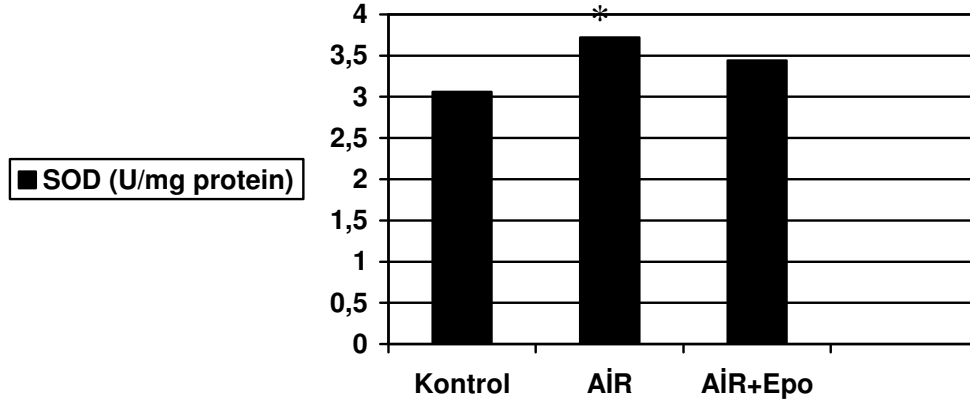


Grafik 1:MDA'nın (nmol/mg protein) gruplar arası değerlerin grafiksel analizi

* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P < 0.05

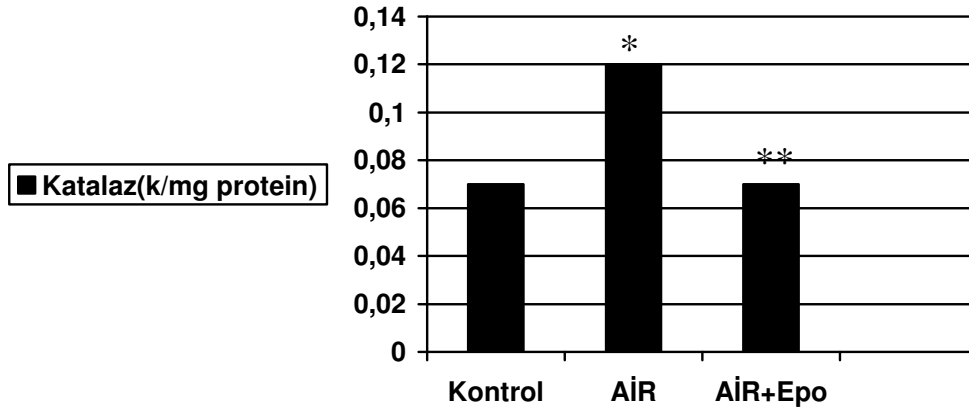
MDA, AİR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,05). AİR + Epo grubunda MDA değeri AİR grubuna göre rakamsal olarak düşük bulundu ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

AİR + Epo grubu ile kontrol grubu arasındaki MDA değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).



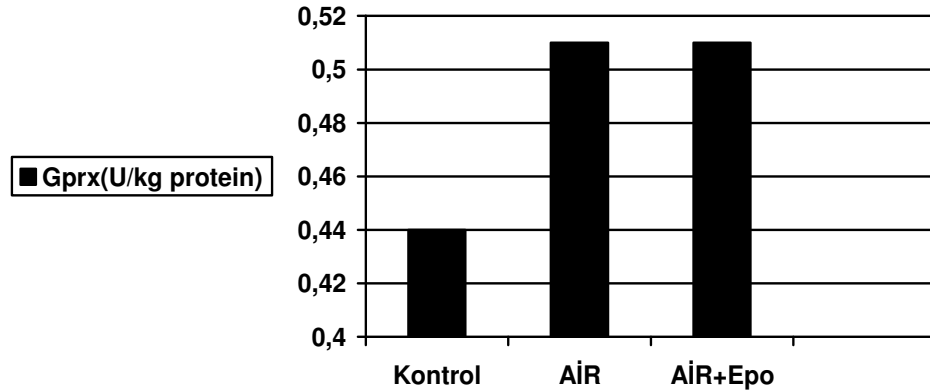
Grafik 3: SODun (U/mg protein) gruplar arası değerlerin grafiksel analizi
* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$

SOD enzim aktiviteleri AİR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$). AİR + Epo grubunda AİR grubuna göre SOD enzim aktivitelerinde rakamsal olarak azalma gözlemlendi ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). AİR + Epo grubu ile kontrol grubu SOD enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).



Grafik 2 :KAT' ın (k/mg protein) gruplar arası değerlerin grafiksel analizi
* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$
** AİR grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$

Katalaz enzim aktiviteleri AİR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). AİR + Epo grubunda KAT enzim aktiviteleri AİR grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.05$). AİR + Epo grubu ile kontrol grubu KAT enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).



Grafik 4: Gprx' in (U/gr protein) gruplar arası değerlerin grafiksel analizi

Gprx enzim aktiviteleri AİR grubunda kontrol grubuna göre rakamsal olarak yüksek bulundu ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). AİR + Epo grubu Gprx enzim aktiviteleri hem AİR grubu hemde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

4.2. Histopatolojik bulgular

Tüm akciğer doku kesitleri ışık mikroskopunda 100X ve/veya 200X büyütmelemlerle alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji ve intraalveolar makrofaj yönünden değerlendirildi. Ayrıca histopatolojik olarak incelenen dört parametrenin toplamı alınarak akciğer hasar skoru oluşturuldu.

Kontrol grubuna ait akciğer doku kesitlerinin mikroskopik değerlendirmesinde alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar hemoraji yönünden histopatolojik değişiklik görülmedi (skor -). İntraalveolar makrofaj yönünden fokal, hafif değişiklikler (skor +) görüldü.

AİR grubunda alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar makrofaj yönünden multifokal belirgin değişiklikler (skor ++) görüldü. İntraalveolar hemoraji yönünden fokal hafif değişiklikler (skor +) gözlemlendi.

AİR + Epo grubunda intraalveolar hemoraji de skor (-) olarak görüldü. Alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar makrofaj bulgularında ise skor (+) görüldü.

Histopatolojik bulguların Kruskal-Wallis yöntemiyle istatistiksel analizinde ortalama skorları alınan gruplarda alveolar konjesyon ($p<0.05$), inflamatuvar infiltrasyon ($p<0.05$), intraalveolar hemoraji ($p<0.05$), intraalveolar makrofaj ($p<0.05$), akciğer hasar skoru ($p<0.05$) yönünden anlamlı fark saptandı.

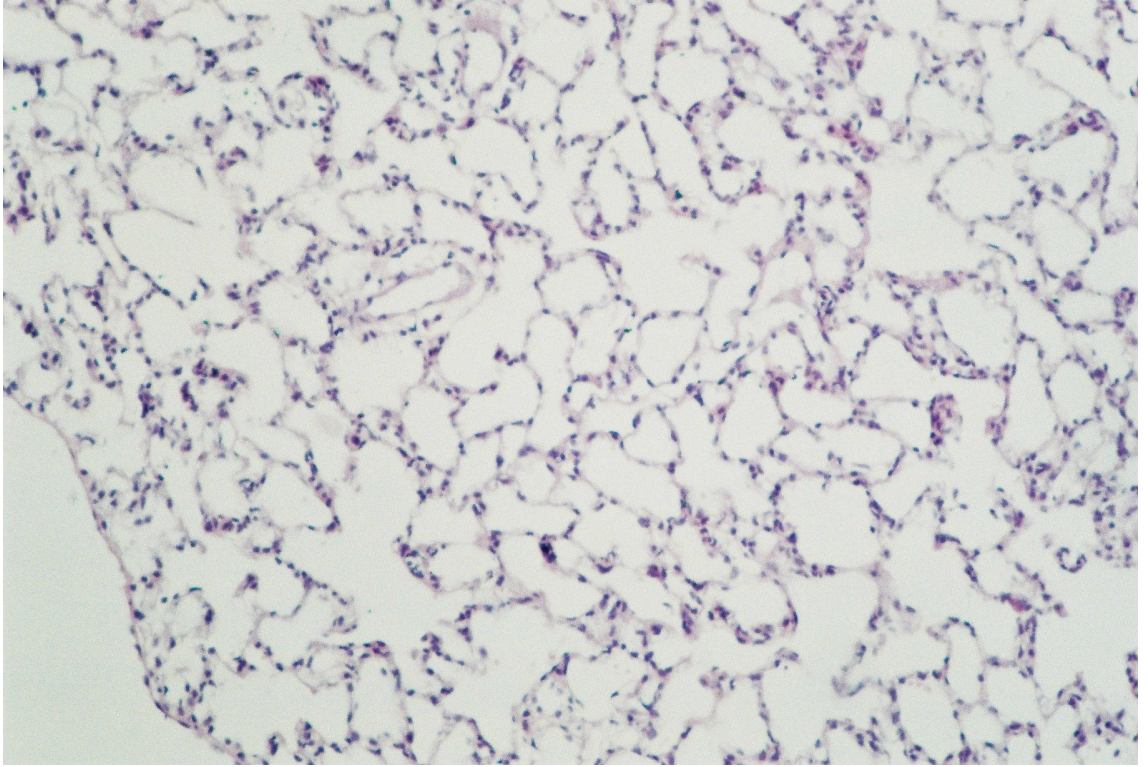
Grupların her biri kendi arasında karşılaştırılıp değişikliklerin Mann-Whitney U yöntemiyle istatistiki anlamlılığı incelendiğinde; grup I ve II arasında alveolar konjesyon ($p<0.05$), inflamatuvar infiltrasyon ($p<0.05$), intraalveolar hemoraji ($p<0.05$), intraalveolar makrofaj ($p<0.05$), akciğer hasar skoru ($p<0.05$) yönünden anlamlı fark saptandı. Grup II ve III arasında inflamatuvar infiltrasyon ($p<0.05$), intraalveolar makrofaj ($p<0.05$), akciğer hasar skoru ($p<0.05$) yönünden anlamlı fark saptandı. Ancak grup II ve III arasında alveolar konjesyon ($p>0.05$), intraalveolar hemoraji ($p>0.05$) yönünden anlamlı fark saptanmadı. Grup I ve III arasında alveolar konjesyon ($p<0.05$), inflamatuvar infiltrasyon ($p<0.05$), intraalveolar hemoraji ($p<0.05$), intraalveolar makrofaj ($p<0.05$), akciğer hasar skoru ($p<0.05$) yönünden anlamlı fark saptandı.

	Kontrol Grubu (n=8) (Grup I)						AİR Grubu (n=8) (GrupII)						AİR + Epo Grubu (Grup III)						Kruskal Wallis P	Mann- Whitney U P<0.05
	İDS	-	+	++	+++	Ortalama skor	İDS	-	+	++	+++	Ortalama Skor	İDS	-	+	++	+++	Ortalama skor		
Alveolar konjesyon	16	16	0	0	0	-	14	0	7	5	2	++	13	4	4	5	0	+	P<0.05	I-II, I-III
İnflamatuvar infiltrasyon	16	15	1	0	0	-	16	1	7	7	2	++	16	3	10	3	0	+	P<0.05	I-II,II-III I-III
İntraalveolar hemoraji	16	16	0	0	0	-	14	8	5	1	0	+	13	8	5	0	0	-	P<0.05	I-II,I-III
İntralveolar makrofaj	16	8	7	1	0	+	12	0	1	9	2	++	14	3	3	8	0	+	P<0.05	I-II,II-III I-III
Akciğerhasar skoru						1						7						3	P<0.05	I-II,II-III I-III

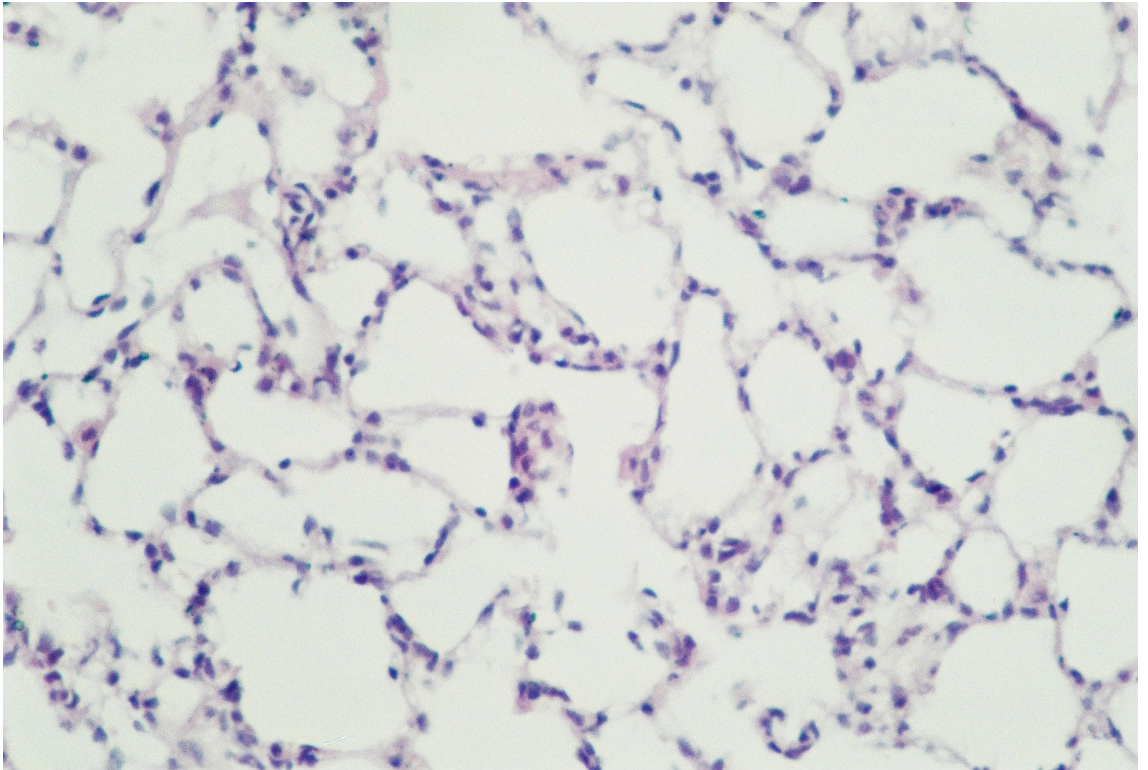
Tablo 6: Grupların histopatolojik skorları ve sonuçların gruplar arandaki istatistiksel değerlendirmesi.

Histopatolojik bulguların ortalama skorları ; (-) değişiklik yok, (+) fokal hafif değişiklikler, (++) multifokal belirgin değişiklikler, (+++) yaygın belirgin değişiklikler olarak değerlendirildi. Gruplar arası anlamlı farkların belirlenmesinde Kruskal Wallis testi, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kruskal Wallis testi ve Mann Whitney U testi için P< 0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

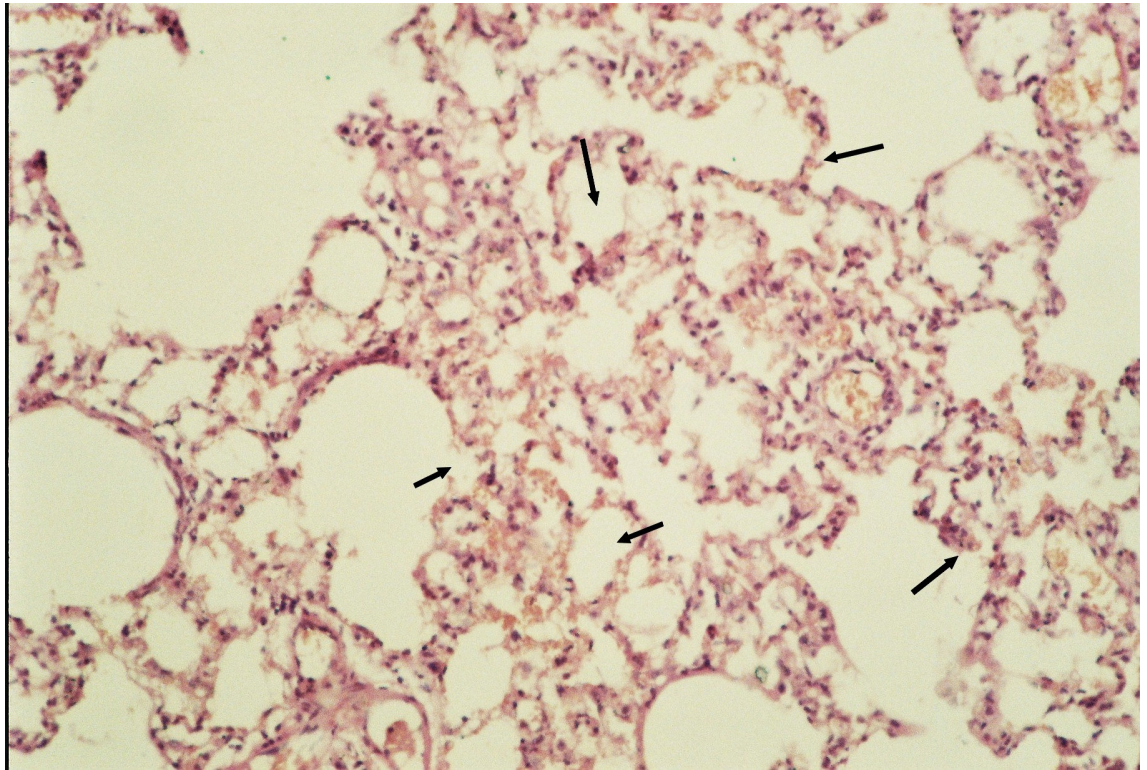
İDS: İncelenen doku sayısı



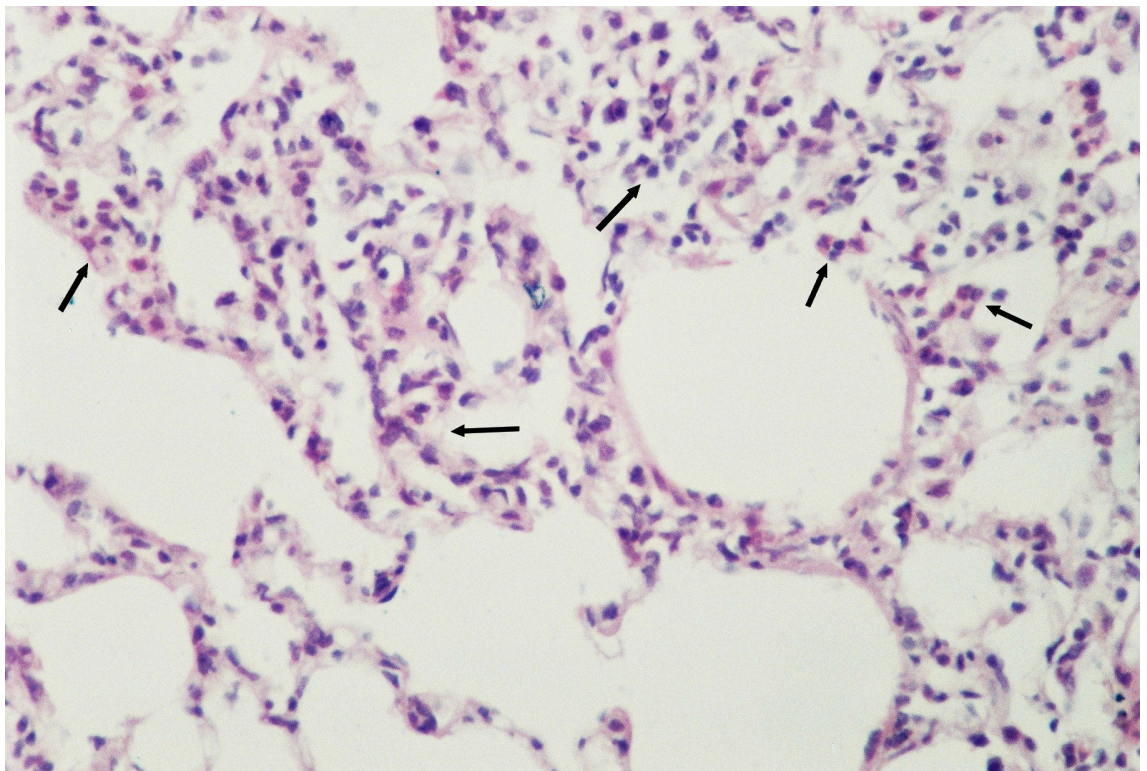
Resim 1: Kontrol grubu; normal akciğer dokusu (100xHE)



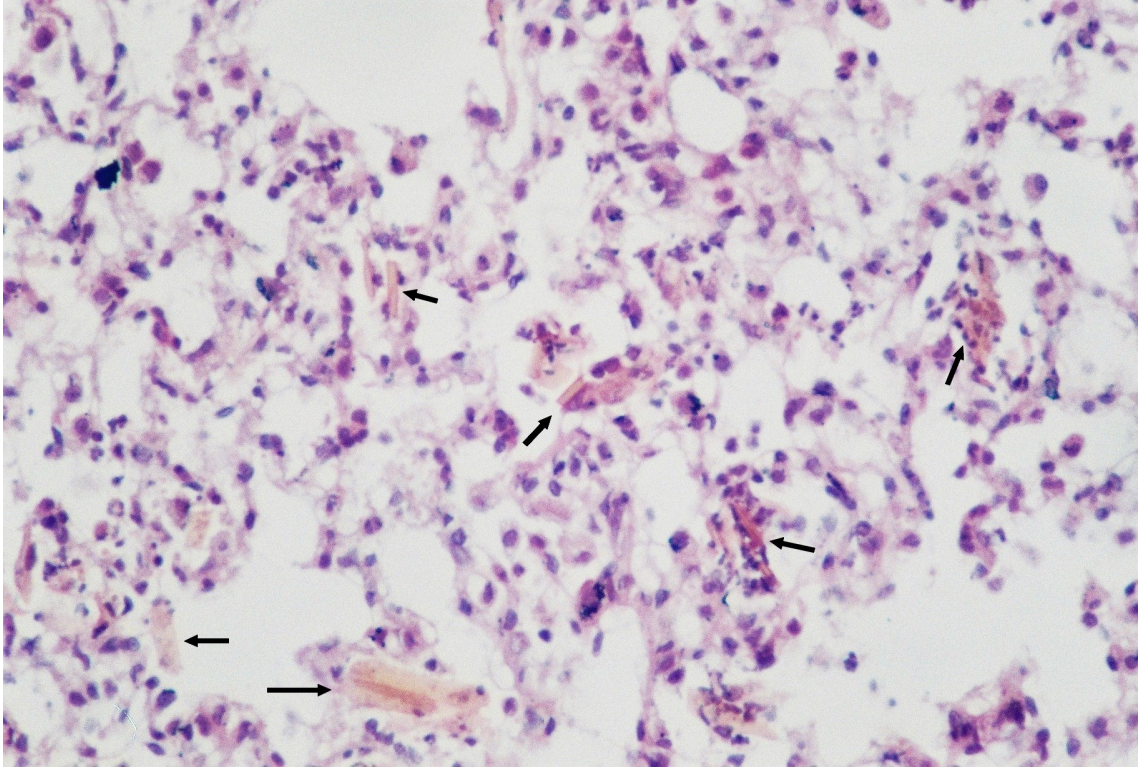
Resim 2: Kontrol grubu; normal akciğer dokusu (200x HE)



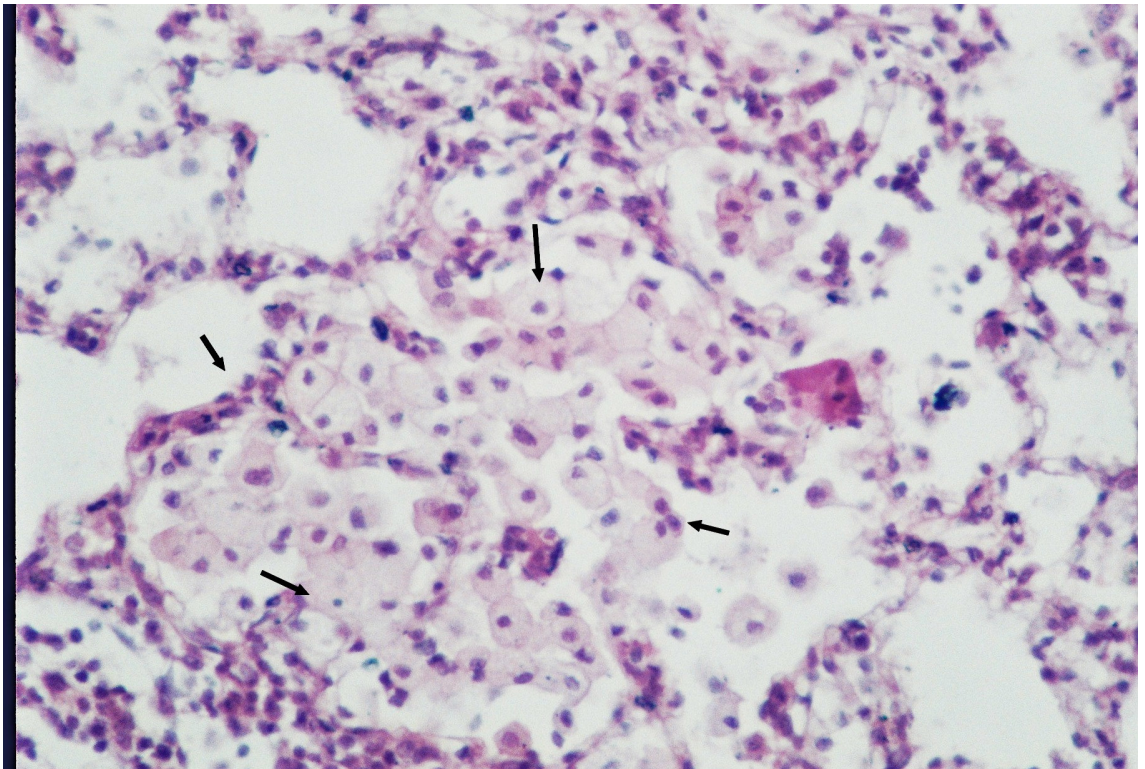
Resim 3: AİR grubu; alveolar konjesyon (100x HE)



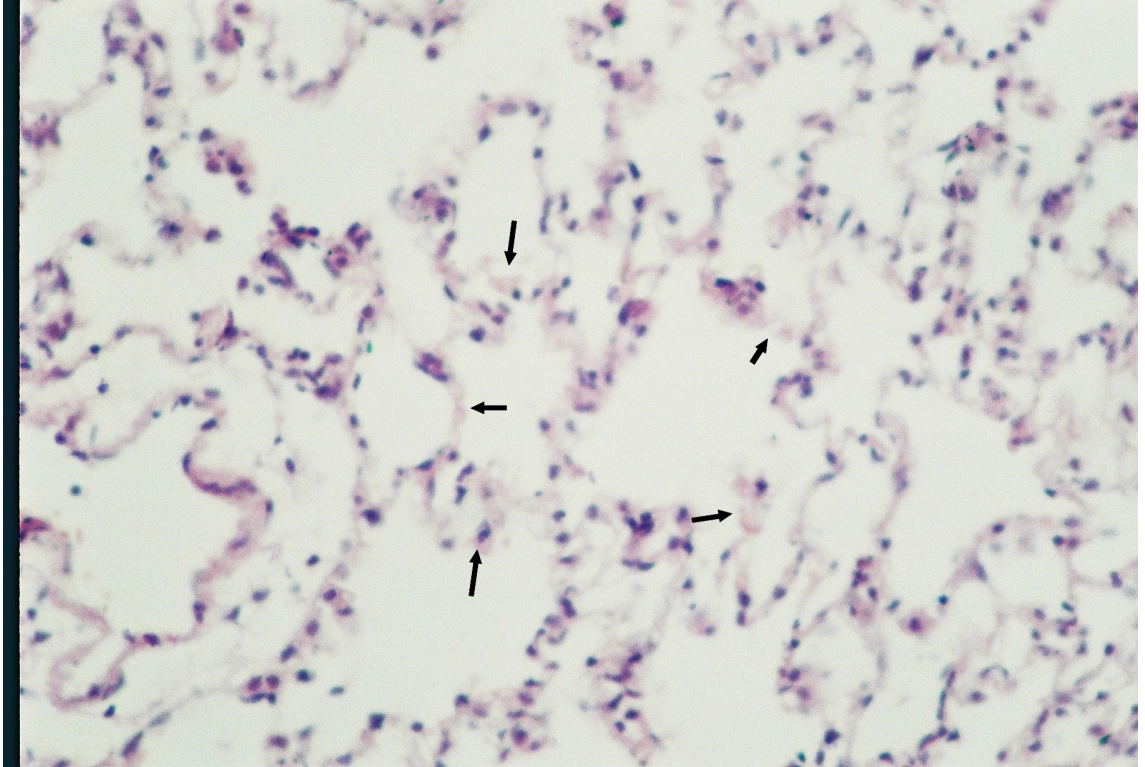
Resim 4: AİR grubu: İnflamatuvar infiltrasyon, skor (+++) (200x HE)



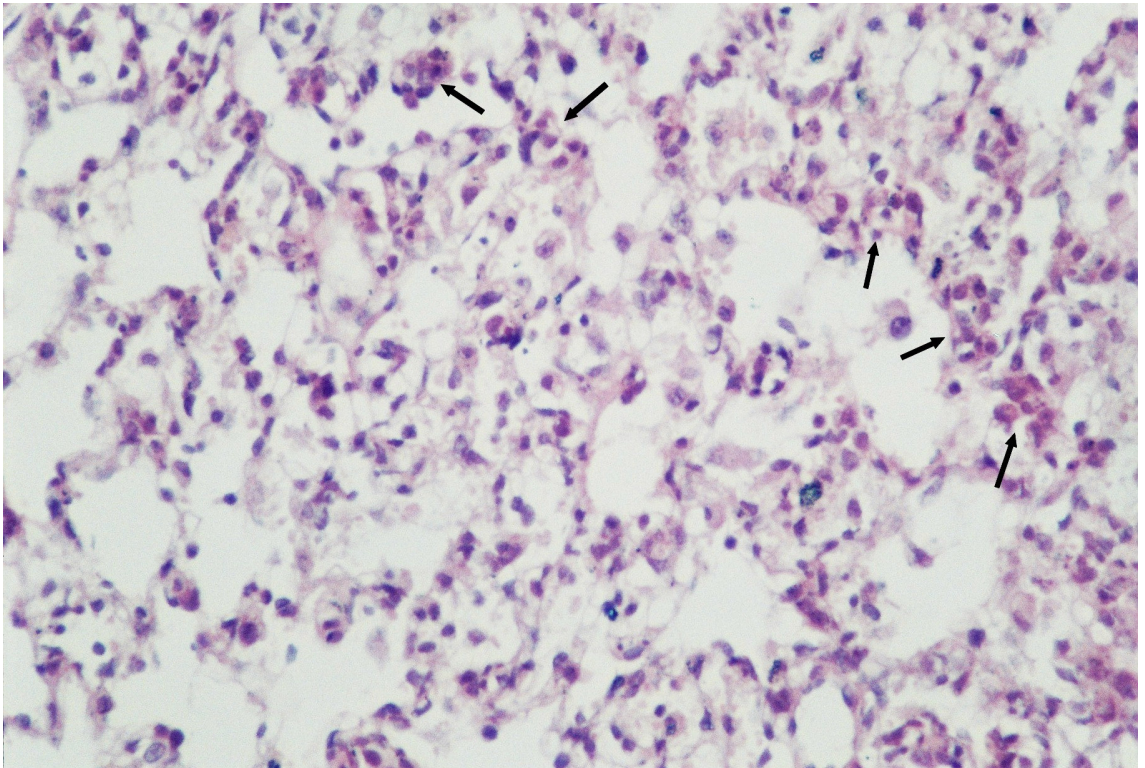
Resim 5: AİR grubu; intraalveolar hemoraji (200x HE)



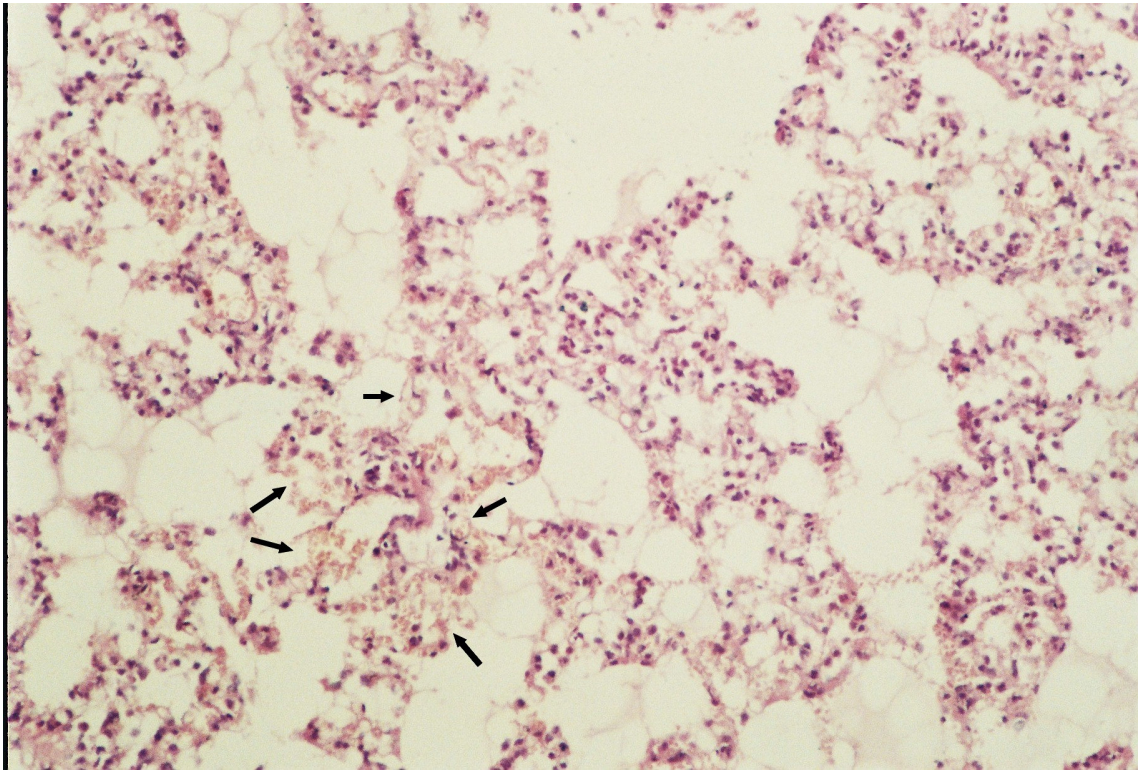
Resim 6: AİR grubu; intraalveolar makrofaj, skor (+++) (200xHE)



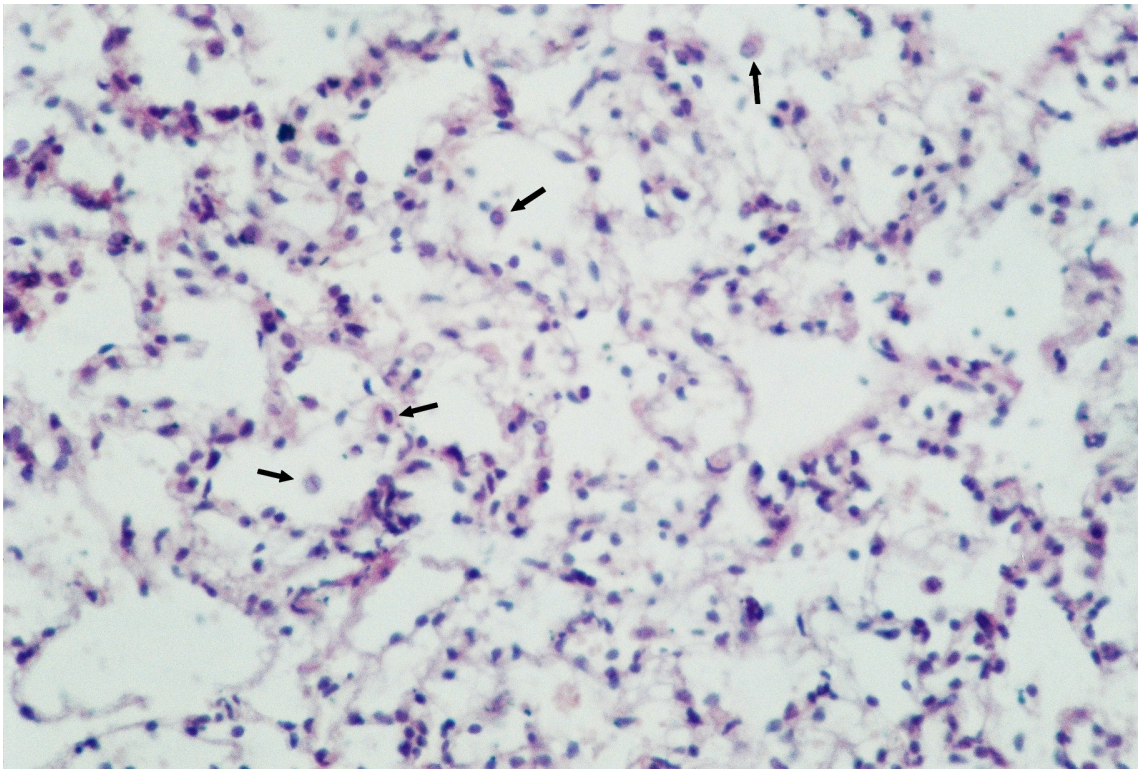
Resim 7: AİR + Epo grubu; alveolar konjesyon (200xHE)



Resim 8: AİR + Epo grubu; inflamatuvar infiltrasyon (200xHE)



Resim 9: AİR + Epo grubu; intraalveolar hemoraji (100xHE)



Resim 10: AİR + Epo grubu; intraalveolar makrofaj, skor (+) (100xHE)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda ratlarda infrarenal abdominal aorta oklüzyonu ile deneysel iskemi reperfüzyon modeli oluşturuldu ve oluşan uzak organ (akciğer) hasarına karşı eritropoetin etkisi araştırıldı. Çalışmanın sonucunda eritropoetin akciğerdeki uzak organ hasarını azalttığı saptandı.

Epo' nun çeşitli organlarda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruduğunu gösteren bir çok çalışma vardır. Sepodes ve ark.(166) ratlarda Epo' nun karaciğeri İR hasarından koruduğunu ve bu etkiyi oksidatif stres ve caspase-3 aktivasyonunu azaltarak oluşturduğunu göstermişlerdir. Ateş E. ve ark.(157) böbrek İR hasarına karşı Epo' nun koruyucu etkisini, tirozin kinaz aktivasyonu yoluyla, başardığını göstermişlerdir. Kumral A. ve ark. (167) yenidoğan ratlarında hipoksik beyin hasarına karşı Epo' nun koruyucu etkilerini Gprx enzim aktivitesini artırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak başardığını göstermişlerdir. Joyeux-Faure M ve ark. (168) eksojen olarak verilen Epo' nun myokardı İR hasarına karşı koruduğunu ve bu etkiyi sellüler apopitozu ve nekrozu azaltarak yaptığını göstermişlerdir. Calapai G. ve ark. (169) yaptıkları çalışmada eritropoetin beyin iskemik hasarına karşı nitrik oksit oluşumunun inhibisyonu yoluyla koruyucu olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda ratlarda ketamin HCl ampul (ketalar flakon, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ile dissosiyatif anestezi oluşturuldu. Dissosiyatif anestezi beyindeki motor, integratif, hafıza ve duyuusal aktiviteleri ortadan kaldırır. Genel anestezinin bir türü olup enjeksiyon yolu ile uygulanan ilaçlar ile hafif bir sedasyon ve beraberinde periferik analjezi olarak tarif edilebilir. Ketamin HCl ampul intravenöz, intramuskuler ve intraperitoneal yolla uygulanabilir. İntravenöz uygulamada yutkunma refleksi nedeniyle regurjitasyona bağlı aspirasyon riski mevcuttur. İlacın intraperitoneal ve intramuskuler enjeksiyonu ilacın asidik özelliğinden dolayı çok ağrılıdır. İntraperitoneal uygulamada induksiyon daha uzun zaman alır ancak uyanma daha geç olur. Kullanılan hacim küçük olduğu için özellikle küçük hayvan türlerinde intraperitoneal uygulamanın bir avantajı yoktur ve mümkünse intramuskuler enjeksiyon kullanılmalıdır. İntramuskuler uygulamada induksiyon üç ile beş dakika içinde oluşur ve genellikle 20 dakika içine uyanma olur. İlacın analjezik etkileri kötü olduğu için analjeziklerle kombine uygulanması

önerilmektedir. Ancak kombinasyonun tek başına kullanıma oranla kardiyak ve solunum depresyonunu artırıcı etkisi daha fazladır (5). Tüm bu özellikler göz önüne alınarak bizim çalışmamızda ketamin ampul intramuskular enjeksiyonla ve kombine edilmeden uygulandı.

Periferik alt ekstremitte hastalıkların en sık rastlanılan sonucu kronik yada akut süreçte periferik arterlerin tıkanması ve sonuçta ekstremitte perfüzyonunun bozulmasıdır. Klinik uygulamada da abdominal aort anevrizması, Leriche sendromu ve aortailiak hastalıklarda infrarenal aortaya klemp konulmakta ve anastomozlar tamamlanana kadar alt ekstremitte iskemik kalmakta, anastomozun tamamlanması ile aortik klempin kaldırılması ile iskemik dokuların reperfüzyonu gerçekleşmektedir. Deneysel araştırmalar için ekstremitte iskemisinin oluşturulmasında çok sayıda model geliştirilmiştir. Bunlardan biri ve en kolay uygulanılanı turnike yöntemidir. Bacağın mümkün olan en proksimali standart bir paket lastiği tarafından sıkıştırılır (5,170). Bu uygulamada 2-6 saatlik bir iske mi ve 24 saatlik reperfüzyon yeterlidir. Bu yöntem bacağın hem arteryal hemde venöz dolaşımını engellediği için klinik ile tam olarak uyuşan bir iske mi modeli oluşturulamaz (5). İkinci bir yöntem iliak arter iske mi modelidir. 4 saatlik iske mi ve 1-6 saatlik reperfüzyon yeterlidir. Üçüncü yöntem aortaya klemp konulmasıdır. Özellikle hemodinamik izlemin yapılacağı ve iske mi reperfüzyonun sistemik etkilerinin araştırılacağı durumlarda sıklıkla uygulanır (5,171-175). Bu modelde infrarenal abdominal aortaya klemp konularak model oluşturulması klinikte özellikle aortailiak girişimlere uygun deneysel bir rat çalışma modelidir. Kiriş ve ark. (171) infrarenal aortik iske mi reperfüzyon modelinde renal hasarı araştırmışlar. 30 dakika iske mi ve 60 dakika reperfüzyon ile oklüzyonun proksimalindeki uzak organda (böbrek) İR hasarının oluştuğunu, MDA düzeyi ve antioksidan enzim aktivitelerinin artışının tespiti ile göstermişlerdir. Bizde çalışmamızda infrarenal aortik iske mi (30 dakika) ve reperfüzyon (60 dakika) uyguladık ve akciğer hasarını araştırdık. Patel N.S. ve ark. (176) rat bilateral renal arterlerine 30 dakika iske mi ve 24 saat reperfüzyon uygulamışlar. Epo'yu bir gruba subkutan yolla deney öncesi 3 gün boyunca 1000 Ü/kg dan ve diğer bir gruba reperfüzyondan 5 dakika önce 1000 Ü/ kg dan tek doz yine subkutan yolla uygulamışlar. Sonuç olarak 3 gün tedavi uygulanan grupta daha fazla olmak üzere her iki grupta böbrek hasarına karşı koruyucu olduğunu göstermişler. Bizde

çalışmamızda 30 dakikalık iskemi süresinin 25. dakikasında, reperfüzyondan 5 dakika önce, subkutan yolla 1000 Ü/kg dozdan Epo uyguladık.

İskemi reperfüzyonda oluşan serbest radikaller yüksek reaktiviteleri nedeniyle membranlardaki lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Akciğerde iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında akümüle olan lipid peroksidasyon ürünü MDA'nın, tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri ile verdiği reaksiyon spektrofotometrik olarak ölçülerek akciğer hasarının derecesi hakkında fikir edinilebilir (177). Bizim çalışmamızda da aynı ölçüm tekniği ile akciğer dokusunda MDA ya bakıldı. AİR grubunda kontrol grubuna göre MDA düzeyinde anlamlı artış saptandı. Ancak AİR + Epo grubunda ise MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmadı. Uysal ve ark. (170) alt extremitte İR nin akciğer üzerindeki hasarı göstermek için kanda ve dokuda MDA düzeyi bakmışlar. İR grubunda MDA'nın yükseldiğini ve melatonin verilen grupta MDA düzeyinin azaldığını saptamışlardır. Okutan ve ark. (175) aortik oklüzyon ve reperfüzyon sonrasında oluşan akciğer hasarına karşı melatoninin etkisini araştırmışlar. MDA seviyesinin AİR grubunda yükseldiğini ve melatonin uygulanan grupta MDA seviyesinin anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır. Calapai G. ve ark. (169) yaptıkları çalışmada eritropoetin'in beyin iskemik hasarına karşı nitrik oksit oluşumunun inhibisyonu yoluyla koruyucu olduğunu göstermişler ve eritropoetin'in postiskemik MDA seviyelerini düşürdüğünü bulmuşlardır. Patel NS. ve ark. (176) ile Ateş E. ve ark. (157) rat böbreğinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı Epo' nun etkisi araştırmışlar. Epo uygulanan grupta iskemi reperfüzyon sonucu gelişen lipid peroksidasyonda anlamlı azalma saptamışlar. Bununla birlikte Ozakyol AH. ve ark.'nın (178) ratlarda karaciğer İR hasarına L-nitro-arginine-methyl-ester (L-NAME)' in etkisini araştırdıkları çalışmanın sonucunda L-NAME verilen grupta karaciğer dokusunda MDA' nın anlamlı azalmadığı ancak oluşan İR hasarının histopatolojik olarak azaldığı saptanmıştır. Bununla ilgili olarak verilen ilacın oluşan İR hasarını lipid peroksidasyonundan bağımsız olarak azaltabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Ozakyol ve ark.'nın (178) çalışmasına benzer şekilde Epo verilen grupta MDA' da anlamlı azalma saptanmadı ancak histopatolojik incelemede İR hasarının azaldığı saptandı. Bizde Epo' nun İR hasarını lipid peroksidasyondan bağımsız olarak azaltabileceği kanaatindeyiz. Yine çalışmamızda Epo verilen grupta

MDA düzeyinde anlamlı azalmanın saptanmaması uygulanan Epo dozunun yetersizliğine bağlı olabileceğini düşündürebilir. Daha yüksek Epo dozları ile yapılacak yeni çalışmalar bu konuda aydınlatıcı olabilir.

AİR hasarı oluşumunda serbest oksijen radikalleri önemli bir yer tutar (51). İskemik dokuların reperfüzyonu toksik ROS oluşumuna yol açar. Bunlar süperoksit anyonlar, hidroksil radikalleri, hipoklorik asit, hidrojen peroksit ve nitrik oksitten derive peroksinitrittir (19). Oksijen kökenli serbest radikaller aracılığı ile oluşan hasarda başlangıç olay ksantin oksidaz kökenli süperoksit anyonlarının üretilmesidir (20). Serbest radikal temizleyicileri, reaktif oksijen parçaları ile reaksiyona girerek bunları zararsız maddeler haline dönüştüren ajanlardır. Bu ajanlar SOD, KAT ve Gprx olarak sıralanabilir.

İnsanlarda SOD' un Cu-Zn ve Mn kapsayan iki izoenzimi vardır. Cu-Zn içeren tipi sitozolde, Mn içeren tipi mitokondride yerleşmiştir (5). SOD, süperoksitin hidrojen peroksit dönüşümünü katalizler (5,55). Çalışmamızda SOD aktivitesinin tayini, 2-(4-iodofenol)-3-(4-nitrofenol) -5-feniltetrazoliumklorid ile reaksiyona girerek kırmızı bir formazan boya oluşturan süperoksit radikallerini üreten ksantin oksidaz reaksiyonu temel alınarak yapıldı. Çalışmamızda AİR grubunda SOD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı yükselme saptandı ancak AİR + Epo grubunda SOD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmadı. Dimakakos PB.ve ark. (172) deneysel bir çalışmada abdominal aortada oklüzyon oluşturup intestinal organlarda oksidan hasara karşı vitamin E'nin etkisini araştırmışlar. Bunun için kanda SOD aktivitesine bakmışlar. E vitamini verilen grupta SOD aktivitesinde azalma saptamışlar ve vitamin E nin postiskemik hasara karşı koruduğunu savunmuşlardır. İlhan A. ve ark. (173) yaptıkları çalışmada tavşanlarda kafeik asit fenil esterinin spinal kord iskemisi reperfüzyon hasarına olan etkilerini araştırmışlar ve serbest radikal hasarının göstergesi olarak SOD aktivitesi bakmışlar ancak tüm gruplar arasında anlamlı fark saptayamamış olup özellikle ilaç verilmesiyle SOD aktivitesinin anlamlı azalmaması çalışmamızla uyumludur. Ege E. ve ark. (174) tavşan spinal kord iskemisi reperfüzyon hasarına erdosteinin etkisini araştırdıkları çalışmada İR grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SOD aktivitesinde anlamlı artma saptamış olmaları çalışmamızla uyumlu iken erdostein verilen grupta SOD enzim aktivitesinde anlamlı azalma saptamışlardır. Bizim

çalışmamızda AİR + Epo grubunda SOD düzeyinde belirgin azalma olması ancak bunun kontrol seviyesine inmemesi oksidatif stresin Epo uygulanan grupta azaldığını ancak tamamen ortadan kalkmadığını düşündürmektedir.

Katalaz enzimi SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksiti peroksizomlarda su ve oksijene çevirir. KAT vücutta doğal olarak oluşan bir metalloproteindir. İn vivo olarak süperoksit dismutaz ile kombine bir şekilde etki eder (55). Çalışmamızda biyokimyasal olarak hidrojen peroksitin parçalanma hızının hız sabitinin (s^{-1},k) belirlenmesi esasına göre hesaplandı. Yine çalışmamızda KAT aktivitelerinde AİR grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artma saptandı. AİR + Epo grubunda da AİR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı. Kiriş ve ark. (171) infrarenal aortik iskemi reperfüzyon modelinde renal hasarı araştırdıkları çalışmada İR hasar göstergesi olarak KAT aktivitesini incelemişler ve AİR grubunda kontrol grubuna göre KAT aktivitesinin anlamlı olarak arttığını saptamışlar. Erten SF. ve ark. (179) deneysel spinal kord iskemi reperfüzyon hasarına melatoninin etkisini araştırmışlar. İR grubunda KAT aktivitelerinde anlamlı artış saptamışlar. Melatonin verilmesi ile de bu aktivitelerde anlamlı azalma saptamışlar. Mezzetti A. ve ark. (180) kardiopulmoner bypass sırasında kanda KAT ve diğer antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlar. İskemi ve takiben yapılan reperfüzyon ile KAT ve diğer antioksidan enzim aktivitelerinde artış bulmuşlar. Ayrıca bu değişikliklerin iskemik arrestin süresi ile ilişkili olduğunu ve reperfüzyonla serbest radikal üretiminin önceki iskemik peryodun şiddetine bağımlı olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızın AİR ve AİR+Epo gruplarındaki KAT aktivite değerlerinin istatistiksel sonuçları bu literatürlerle uyumludur. Çalışmamızda AİR grubunda KAT aktivite artışı, yükselmiş SOD aktivitesi ile oluşan hidrojen peroksitin KAT enzimi ile elimine edildiğini düşündürmektedir. Epo uygulanan grupta azalan SOD aktivitesi oksidatif stresin azaldığını, ancak tam ortadan kalkmadığını, bununla birlikte bu grupta oluşan hidrojen peroksitin indirgenmesi için KAT aktivitesinde artışa yol açmadığı görülmüştür. KAT aktivitesinin EPO grubunda kontrol grubu değerlerine inmesinin bu nedenle olabileceği kanaatindeyiz.

Gprx hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun okside glutatyona yükseltgenmesini katalize eder (64). Ayrıca SOD tarafından oluşturulan hidrojen

peroksiti mitokondri ve sitoplazmada su ve oksijene indirger (56). Çalışmamızda Gprx aktivitelerinde AİR grubunda, kontrol grubuna göre ve AİR + Epo grubunda da AİR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. İlhan A ve ark. (181) nebivololün tavşanlarda spinal kord iskemi reperfüzyon hasarına etkisini araştırmışlar ve İR grubunda spinal kord dokusunda Gprx'in anlamlı derecede yükseldiğini bulmuşlardır. Castedo E. ve ark. (182) deneysel kalp transplantasyonunda iskemi reperfüzyon hasarını ve bu hasara trimetazidinin sitoprotektif etkilerini araştırmışlar. Serbest radikallere bağlı iskemi reperfüzyon hasarını göstermek için antioksidan glutatyon peroksidaz çalışmışlar. İskemi ve reperfüzyon peryodlarında Gprx aktivitelerini yüksek bulmuşlardır. Bir grupta standard myokardial koruma yapmışlar diğer grupta kardioplejik solüsyona trimetazidin eklemişler. Sonuç olarak trimetazidinin serbest radikal kaynaklı hasara karşı koruyucu olduğunu saptamışlardır. Aceto ve ark. (183) yaptıkları araştırmada kardiopulmoner bypas uygulanan hastalarda aortik klempleme ve klemp kaldırılması sonrası kanda Gprx aktivitelerinde artış olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada, AİR grubunda Gprx aktivite artışı olması SOD aktivitesi ile oluşan hidrojen peroksitin Gprx enzimi ile de elimine edildiğini gösterebilir. Epo uygulanan grupta Gprx aktivite değerlerinin kontrol grubundaki değerlerden daha yüksek ve hatta AİR grubundaki kadar yüksek değerlerde kalması hidrojen peroksit eliminasyonun bu grupta Gprx tarafından devam ettirilmesi ile ilgi olabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda histopatolojik incelemede alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji ve intraalveolar makrofaj değişikliklerine bakıldı. Kontrol grubuna ait akciğer doku kesitlerinin mikroskopik değerlendirmesinde alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar hemoraji yönünden herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmaz iken intraalveolar makrofaj yönünden fokal, hafif değişiklikler görüldü. AİR grubunda alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar makrofaj yönünden multifokal belirgin değişiklikler görüldü. İntraalveolar hemoraji yönünden fokal hafif değişiklikler gözlemlendi. AİR + Epo grubunda intraalveolar hemoraji yönünden histopatolojik değişiklik gözlenmezken alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon ve intraalveolar makrofaj bulgularında fokal, hafif değişiklikler görüldü. Histopatolojik olarak incelen dört parametrenin toplamı alınarak oluşturulan akciğer

hasar skoruna göre de incelendiğinde AİR grubunda kontrol grubuna göre oluşan hasar anlamlı bulundu. Bununla birlikte AİR grubunda oluşan hasarın AİR + Epo grubunda azalması da anlamlı bulundu. Histopatolojik bulguların istatistiksel analizinde ortalama skorları alınan gruplarda alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji, intraalveolar makrofaj ve akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı. Grupların her biri kendi arasında karşılaştırılıp değişikliklerin istatistiki anlamlılığı incelendiğinde; grup I- II ve grup I-III arasında alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji, intraalveolar makrofaj ve akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı. Grup II ve III arasında inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar makrofaj ve akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptanırken grup II ve III arasında alveolar konjesyon, intraalveolar hemoraji yönünden anlamlı fark saptanmadı.

Çalıköğlü M ve ark. (184) yaptıkları çalışmada periferik iskemi reperfüzyonun akciğerdeki nitrozatif etkileri ve kafeik asit fenilesterin koruyucu rolünü araştırmışlar ve gruplar arası peribronşial ve perivasküler lökosit infiltrasyonu bakımından anlamlı fark olduğunu ve İR grubunda lökosit infiltrasyon artışının ilaç grubunda azaldığını saptamışlar. Köksel O. ve ark. (185) yaptıkları bir çalışmada iskemi reperfüzyonun indüklediği akciğer hasarına α -lipoik asidin etkisini araştırmışlar ve iskemi ve reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre PMNL artışı bulmuşlar ve tedavi edilen grupta da PMNL sayısında anlamlı bir azalma saptamışlardır. Ayrıca iskemi ve reperfüzyon grubunda belirgin derecede artan intraalveolar makrofaj da α -lipoik asitle tedavi edilen grupta azalmış olarak bulunmuş olup çalışmamızla uyumludur. Wu H. ve ark. (186) yaptıkları çalışmada ratlarda Epo tedavisinin iskemi reperfüzyonun indüklediği akciğer hasarını azalttığını bulmuşlardır. Akciğer histopatolojik hasar skoru bakılmış ve Epo ile tedavi edilen grupta iskemi reperfüzyon grubuna göre akciğer alveolar ödem ve nötrofil infiltrasyonunda anlamlı azalma tespit etmiş olup çalışmamızla uyumludur. Berkan Ö. ve ark. (187) yaptıkları çalışmada, alt ekstremitelerdeki geçici iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına bağlı akciğerlerde oluşan patolojik değişiklikler ve bunları önlemede askorbik asidin koruyucu etkisi araştırmışlardır. Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubunda normale yakın bir akciğer dokusu görülmüştür. Bununla birlikte AİR ve AİR+ askorbik asit grubunda, kontrol grubuna göre daha fazla PMNL

birikimi, ödem ve konjesyon saptanmış olup AİR + askorbik asit grubunda AİR grubuna göre PMNL sayısının, interstisyel ödem ve konjesyonun daha az olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalara genel olarak bakıldığında İR ile akciğerde oluşan hasarı göstermek için bakılan histopatolojik değişiklikler bizim çalışmamızdaki parametrelerine benzemektedir ve sonuçlarımız yukarıda sunulan tüm çalışmalarla uyumludur. Yukarıda belirtildiği gibi akciğerde oluşan İR hasarına alveolar makrofajlar (7) aracılık etmektedir ve makrofajlar proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemekte ve erken reperfüzyon hasarı oluşmaktadır (1). PMNL' nin alt ekstremitenin İR' i nedeniyle olan akciğer hasarında esas role sahip olduğu gösterilmiştir ve azalmaları akciğerler üzerinde koruyucu bir etki gösterir (10). Çalışmamızda Epo' nun akciğer İR hasarını azalttığı ve bu etkiyi alveolar makrofaji ve inflamatuvar infiltrasyonu azaltarak sağladığı görülmektedir.

Yukarıda belirtildiği gibi klinik uygulamada abdominal aort anevrizması, Leriche sendromu ve aorta iliak hastalıklarının cerrahi tedavisinde infrarenal abdominal aortaya klemp konulması gerekmektedir. Aortanın geçici oklüzyonu ve takiben alt ekstremiteletin İR'i sonrası akciğer hasarının ortaya çıktığı da bilinmektedir (8,9,10). Polimorfonükleer nötrofil lökositlerin alt ekstremiteletin İR'i nedeniyle olan akciğer hasarında esas role sahip olduğu gösterilmiştir ve azalmaları akciğerler üzerinde koruyucu bir etki gösterir (10). Çalışmamızda infrarenal aortik oklüzyon ve takiben uygulanan alt ekstremitte reperfüzyonu ile akciğerde gerek biokimyasal ve gerekse histopatolojik bulgularla İR hasarının oluştuğunu saptadık. Bulgularımız göstermektedir ki Epo uygulanması akciğerde oluşan İR hasarını azaltmaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızda deneysel infrarenal aortik iskemi reperfüzyon modelinde oluşan akciğer hasarına karşı eritropoetin akciğer İR hasarını azalttığı histopatolojik olarak saptandı. MDA düzeylerinde anlamlı azalma olmaması oluşan hasarın lipid peroksidasyonundan bağımsız olabileceği ve eritropoetin lipid peroksidasyonunu değiştirmeden iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını düşündürmektedir. Buna rağmen eritropoetin bu konudaki etki mekanizmasının ayrıntılı olarak tanımlanması için yeni deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu deneysel çalışmaların sonucunda eritropoetin infrarenal abdominal aortadaki

cerrahi girişimlerde gelişen akciğer hasarına etkisinin klinik olarak araştırılabileceği düşüncesindeyiz.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, rat infrarenal abdominal aortasında oklüzyon-reperfüzyon sonrası akciğerlerde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına eritropoetin etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Yirmi dört adet Wistar-Albino rat rastgele ve eşit sayıda (n=8) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Kontrol grubunda laparotomi ve infrarenal abdominal aorta (İAA) diseksiyonu yapıldı ancak oklüzyon uygulanmadı. Aortik iskemi reperfüzyon (AİR) grubunda İAA diseksiyonu yapıldı, İAA'ya kros-klemp konularak 30 dakika iskemi ve kros-klemp kaldırılarak 60 dakika reperfüzyon gerçekleştirildi. AİR + Eritropoetin (Epo) grubunda ise İAA'ya kros-klemp konularak 30 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı, kros-klemp kaldırılmadan 5 dakika önce 1000 Ü/kg dozda subkutan yolla Epo verildi. Ratlar sakrifiye edildi ve rat akciğer örneklerinde biyokimyasal yöntemlerle malondialdehit (MDA) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (Gprx) aktiviteleri ölçüldü. Ek olarak akciğer dokularında histopatolojik inceleme yapıldı.

Sonuçlar: AİR grubuna ait MDA düzeyleri, SOD ve KAT aktivite değerleri kontrol grubundaki değerlere göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). AİR + Epo grubuna ait KAT aktivite değeri AİR grubundaki değere göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,05$). Ancak her bir gruba ait Gprx aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Histopatolojik incelemede, AİR grubunda alveolar konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar hemoraji, intraalveolar makrofaj ve akciğer hasar skoru değerleri kontrol grubundaki değerlere göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). AİR + Epo grubunda inflamatuvar infiltrasyon, intraalveolar makrofaj ve akciğer hasar skoru değerleri AİR grubundaki değerlere göre anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$).

Tartışma: Bu çalışmanın sonucu eritropoetin'in infrarenal aortik iskemi-reperfüzyon sonrası oluşan akciğer hasarını azalttığını göstermektedir.

SUMMARY

Purpose: The purpose of this study is to examine the effect of erythropoietin on ischemia reperfusion injury in lungs occurring after occlusion –reperfusion of infrarenal abdominal aorta in rat.

Material and Method: Twenty four Wistar-Albino rats were randomized in equal numbers (eight per group) into three groups. Control group underwent laparotomy and dissection of the infrarenal abdominal aorta (IAA) without occlusion. Aortic ischemia reperfusion (AIR) group underwent dissection of the IAA, and then ischemia and reperfusion were done by clamping of the IAA for 30 min and declamping of the IAA for 60 min, respectively. AIR+ erythropoietin (Epo) group underwent ischemia and reperfusion by clamping of the IAA for 30 min and declamping of the IAA for 60 min, respectively, and 1000 U/kg Epo was given subcutaneously 5 min before declamping of the IAA. Rats were sacrificed and the tissue levels of malondialdehyde (MDA) and activity levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathion peroxidase (Gprx) were measured in rat lung specimens. Histopathological examination of the lung specimens was also done.

Results: Tissue levels of MDA and activity levels of SOD and CAT in the AIR group were significantly higher than the levels in the control group ($p<0.05$). Activity level of CAT in the AIR+Epo group was significantly lower than the level in the AIR group ($p<0.05$). However, when activity level of Gprx of each group was compared, there was no statistically significant difference. Histopathological examination showed that alveolar congestion, inflammatory infiltration, intraalveolar haemorrhage, intraalveolar macrophage and lung injury score in the AIR group were significantly higher than in the control group ($p<0.05$). Inflammatory infiltration, intraalveolar macrophage and lung injury score in the AIR+Epo group were significantly lower than in the AIR group ($p<0.05$).

Discussion: The results of this study indicate that erythropoietin attenuates the lung injury occurring after infrarenal aortic ischemia reperfusion.

KAYNAKLAR

- 1- Siemionow M, Arslan E.:İschemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers . Microsurgery,24,468-475(2004)
- 2- Maxwell S.R.J., Lip,G.Y.H.: Reperfusion injury : a review of the pathophysiology , clinical manifestations and therapeutic options. İnt.J.Jardiol.,58,95-117(1997)
- 3-Carden,D.L.,Granger, D.N., pathophysiology of İschemia-reperfusion injury. J.Pathol.,190,255-66(2000)
- 4-Collard ,C.D., Gelman,S.: pathophysiology , clinical manifestations and prevention of İschemia-reperfusion injury. Anesthesiology,94,1133-1138(2001)
- 5- Nuh zafer Cantürk, İskender Sayek.Cerrahi araştırma kitabı.2005 nobel tıp kitabevleri
- 6- Nakamura T., Vollmar B.,Vinning J., Ueda M., Menger M.D.,Schafers,H.J.: Heparin and the nonanticoagulantN-Acetyl heparin attenuate capillary no-reflow after normothermic ischemia of the lung. Ann. Thorac.Surg. ,72,1183-1189 (2001)
- 7-Crestani,B., Cornillet,P.,Dehoux,M., Rolland,C.,Guenounou,M.,Aubier,M.:Aleolar type II epithelial cells produce interleukin -6 in vitro and in vivo :regulation by alveolar macrophage secretory products. J.Clin.İvest 94,731-740 (1994)
- 8-Stallone R.J.,Lim RC Jr.,Blaisdell FW,Pathogenesis of the pulmonary changes following ischemia of the lower extremities.Ann.Thorac Surg 1969;7:539-549.
- 9-Welbourn R.,Goldman,G.,O'Riordain ,et al.: Role for tumor necrosis factor as a mediator of the lung injury following lower torso ischemia. J Appl Physiol 1991;70:2645-2649
- 10-Klausner JM, Anner H,Pateron IS, et al: lower torso ischemia- induced lung injury is leukocyte dependent.Ann Surg 1988;208:761-767.
- 11-Gregory C,Gaines GC,Welborn MB,et al: Attenuation of skeletal muscle İschemia/reperfusion injury by inhibition of tumor necrosis factor.J Vasc Surg.1999,29:370-376
- 12- Tasiopoulos AK,Carlin RE, Gao Y,et al: Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by İschemia/reperfusion of the lower extremities. J Vasc Surg.1997,26:647-656.
- 13- Thiemermann C, Wu CC, Szab Perretti M, Vane JR: Role of tumor necrosis factor in the induction of nitric oxide synthase in a rat model of endotoxin shock.Br J Pharmacol 1993;110:177-182.
- 14- Bahlmann FH,de Groot K, Haller H, Fliser D.Erythropoietin: is it more than correcting anaemia? Nephrol Dial Transplant. 2004 Jan;19(1): 20-2. Review.
- 15- Fisher JW, Erythropoietin;İn Massry SG, Glasscock RJ, Textbook of nephrology,third edition 1995 Williams and Wilkins Baltimore ,Maryland USA 191-197.
- 16-BakerJE. Erythropoietin mimics ischemic preconditioning. Pharmacology and Toxicology, Biochemistry and Pediatric Surgery, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA.
- 17- A nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusioninjury.Fiordaliso F, Chimenti S, Staszewsky L, Bai A, Carlo E, Cuccovillo I, Doni M, Mengozzi M, Tonelli R, Ghezzi P, Coleman T, Brines M, Cerami A,LatiniR.,Mario Negri Institutefor Pharmacological Research, Milan 20157, Italy.

18. Kumar V, Cotran R, Robbins SL., Temel patoloji (Basic Pathology), 6. edisyon, Temmuz 2000 (syf 6-10, 30-36)
- 19- Toyokuni S: Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999; 49: 91-102)
20. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischaemia-reperfusion injury. *Am L Physiol* 1988; 255: H1269-75).
21. Ernster L. Biochemistry of reoxygenation injury. *Crit Care Med* 1988; 16: 947-53).
- 22- Panes J, Perry M, Granger DN: Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 537-50).
- 23- Wellbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hectman HB.: Pathophysiology of ischaemia-reperfusion: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78: 651-5.
- 24- Gimbrome MA, Brock AF, Schafer AI. Leukotriene B4 stimulates polymorphonuclear leukocyte adhesion to cultured vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1984; 74: 1552-55
- 25- Spagnuolo PJ, Ellner JJ, Hasid A, et al. Thromboxane A2 mediates augmented polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *J Clin Invest* 1980; 66: 406-14).
26. Mullane KM, Read N, Salmon JA, et al. The role of leukocytes in acute myocardial infarction in anaesthetized dogs: relationship to myocardial salvage by antiinflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 228: 510-22)
27. Arfors KE, Lundberg C, Lindbom L, et al. A monoclonal antibody to the membrane glycoprotein complex CD18 inhibits polymorphonuclear leukocyte accumulation and plasma leakage in vivo. *Blood* 1987; 69: 338-40)
28. Paterson IS, Klausner JM, Goldman G, et al. Thromboxane mediates the ischemia-induced neutrophil oxidative burst. *Surgery* 1989; 106: 224-29).
29. Utsonomiya T, Krausz MM, Dunham Bea. Maintenance of cardiodynamics with aspirin during abdominal aortic aneurysmectomy. *Ann Surg* 1981; 194: 602-08).
30. Thornton MA, Winn R, Alpers CE, et al. An evaluation of the neutrophil as a mediator of in vivo renal ischemic reperfusion injury. *Am J Pathol* 1989; 135: 509-15).
31. Weyrich AS, Ma XY, Lefer DJ, Albertine KH, Lefer AM. In vivo neutralization of P-selectin protects feline heart and endothelium in myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest* 1993; 91: 2620-29).
32. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, et al. Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* 1993; 88: 649-58)
33. Levinson RM, Shure D, Moser KM.: Reperfusion pulmonary edema after pulmonary artery thromboendarterectomy. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134, 1241-1245 (1986)
34. Vural KM., öz MC.: Endothelial adhesivity, pulmonary hemodynamics and nitric oxide synthesis in ischemia – reperfusion. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 18, 348-352 (2000)
35. Krishnadasan B, Naidu BV, Byrne K, et al.: The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia reperfusion injury. *J. Cardiothorac. Surg.*, 125, 261-272 (2003)
36. McCord JM.: Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.*, 312, 159-163 (1985)

37. Al-Medi AB, Shuman H, Fisher AB.:İntracellular generation of reactive oxygen species during nonhypoxic lung ischemia.Am J Physiol 272,L294-300(1997)
38. Kelly RF.: Current strategies in lung preservation. J Lab Clin Med., 136, 427-440 (2000)
- 39.Zhao,G.,Al-Mehdi,A.B.,Fisher ,A.B.:Anoxia-reoxygenation versus ischemia in isolated rat lungs. Am.J.Physol., 273,L1112-1117 (1997).
- 40.De Perrot M, Liu M, Waddell TK,Keshavjee S.: İschemia-reperfusion-induced lung injury.Am.J.Respir Crit Care Med.,167,490-511(2003)
- 41.Dutka AJ, Kochanek PM, Hallenbeck JM, İnfluence of granulocytopenia in canine cerebral ischemia induced by air embolism. Stroke 20:390-95,1989.
- 42.Freeman BA, Crapo JD:Biologie of disease:Free radicals and tissue injury.Lab invest 47:49-58,1982.
- 43.Slater TF, Free radicals mechanisms in tissue injury. J Biochem 222:1-15,1984.
- 44.Halliwell B, Okezie IA, DNA damage by oxygen derived species: İt's mechanism and measurement in mammalian systems. J Biochem 281:9-19,1991.
- 45.Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa Tıp Dergisi:cilt/sayı:35/4,2004)
- 46.Philips JW: A radical view of cerebral ischemic injury. Prog Neurobiol 42:441- 448,1994.
- 47.Beckman JS, Chen , Conger Carl: The importance of superokside in nitric okside dependent cerebral ischemic injury: Cerebrovascular disease. Moskowitz MA,Caplan LR (eds) Butterworth-Heinemann, Newton MA. 1995,S:25-37
- 48.Chan PH: Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 27:1124-1129,1996.
- 49.Cheeseman KH, Slater TF.An introduction to free radical biochemistry.British Medical Bulletin 1993;49(3):481-93.
- 50.Ceyhan A, Günel S, Çıkan T, Bababalım M, Ünal N.Serbest radikaller ve anestezi. Sendrom 1996;12(8):65-9
- 51.Clark IA. Tissue damage caused by free oxygen radicals.Pathology 1986;18:181-86
52. Halliwell B.Free radical antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? The Lancet 1994;344:721-24
- 53.Moncado S, Higgs A.The L-arginine –nitric oxide pathway.N Engl J Med.1993; 329: 200212
- 54.Beckman JS, Chen J, İschiropoulos H, Crow JP. Oxidative chemistry of peroxynitrite. Meth Enzymol 1994;233:229-40.
- 55.Halliwell B. Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury.Free Radic Res Common 1989;5:315-18
- 56.Jaeschke H. Mechanism oxidant stress induced acute tissue injury PSEBM. 209:104- 111,1995.
- 57.Demir H, Akkoyun HT, Çimen Ç ve Çelik İ (2004): İnsan eritrositlerinden ve rat eritrositlerinden Katalaz enzimi aktivitesi üzerinde bazı ilaç ve antibiyotiklerin (in vivo) inhibisyon kinetiğinin incelenmesi. XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Çukurova Üniversitesi, 21–24 Haziran, Adana.

58. Percy ME (1984): Catalase an old enzyme with a new role?, *Can.J.Biochem.Cell Biol.*62: 1006-1014.)
59. Halliwell B, and Gutteridge JMC, (1990): Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186: 1-85
60. Paglia DE, Valentine WN, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathion peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(1):158-69).
61. Mates JM, Gomez CP, Castro I (1999): Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochem.* 32, 8, 595-603.)
62. Akkuş İ (1995): Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları., Konya.
63. Halliwell B, Gutteridge JMC (1996): *Free Radicals in Biology and Medicine.* 2nd Edition Clarendon Pres, Oxford.
64. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, Türkoğlu AÖ, Pekmez H, Sarsılmaz M. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi erciyes üniversitesi sağlık bilimleri dergisi (e.ü. journal of health sciences) 13(2) 1-7, 2004
65. Chopra M, Scott N, Macmurray J. Captopril. A free radical scavenger. *Br J Clin Pharmacol* 1989;27:396-9.
66. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membran protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992;26:641-55
67. Jerome SN, Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ: Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1995; 268:H2063-7
68. Wang NP, Bufkin BL, Nakamura M, Zhao ZQ, Wilcox JN, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, Vinten-Johansen J: Ischemic preconditioning reduces neutrophil accumulation and myocardial apoptosis. *Ann Thorac Surg* 1999; 67:1689-95
69. Wu ZK, Tarkka MR, Pehkonen E, Kaukinen L, Honkonen EL, Kaukinen S: Beneficial effects of ischemic preconditioning on right ventricular function after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2000; 70:1551-7
70. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC: Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000; 232:155-62
71. Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C III: Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *ANESTHESIOLOGY* 2000; 92:1692- 701
72. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P: Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100:II340-4
73. Marzi I, Buhren V, Schuttler A, Trentz O: Value of superoxide dismutase for prevention of multiple organ failure after multiple trauma. *J Trauma* 1993;35:110-9
74. Land W, Schneeberger H, Schleichner S, Illner WD, Abendroth D, Rutili G, Arfors KE, Messmer K: The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994; 57:211-7
75. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL: Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999; 36:941-8).

76. Weisman HF, Bartow T, Leppo MK, Marsh HC Jr, Carson GR, Concino MF, Boyle MP, Roux KH, Weisfeldt ML, Fearon DT: Soluble human complement receptor type 1: In vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. *Science* 1990; 249:146–51
77. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard CD, Dewar M, Eleftheriades J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Shernan SK: Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100:2499–506
78. Vakeva AP, Agah A, Rollins SA, Matis LA, Li L, Stahl GL: Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: Role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation* 1998; 97:2259–67
79. Chiang N, Gronert K, Clish CB, O'Brien JA, Freeman MW, Serhan CN: Leukotriene B4 receptor transgenic mice reveal novel protective roles for lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in reperfusion. *J Clin Invest* 1999; 104: 309–16
80. Shenaq SA, Hentz JG, Cohen E, . Anesthesia for the surgery of the thoracic and thoracoabdominal aorta. *Ann Fr Anesth Reanim.* 1987;6(3):150-5
81. Falk JL, Rackow EC, Blumenberg R, Gelfand M, Fein IA: Hemodynamic and metabolic effects of abdominal aortic crossclamping. *Am J Surg* 142:174-177, 1981.
82. Gelman, S. The pathophysiology of aortic cross clamping and unclamping. *The journal of the American Society of Anesthesiologist, Inc.* Volum 82(4), April 1995, pp1026-57).
83. Gregoretti S, Gelman S, Henderson T, Bradley EL: Hemodynamics and oxygen uptake below and above aortic occlusion during crossclamping of the thoracic aorta and sodium nitroprusside infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 100:830-836, 1990.
84. Balschi JA, Henderson T, Bradley EL, Gelman S: The effects of crossclamping of the thoracic aorta on the high-energy phosphates of myocardium and skeletal muscle: A ³¹P NMR study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 106:346-356, 1993.
85. Gelman S, Khazacli MB, Orr R, Henderson T: Blood volume redistribution during crossclamping of the descending aorta. *Anesth Analg* 78:219-224, 1994.
86. Foley DH, Herlihy JT, Thompson CI, Rubio R, Berne RB: Increased adenosine formation by rat myocardium with acute aortic constriction. *J Mol Cell Cardiol* 10:293-300, 1978.
87. Czarnecki W, Noble MIM: Mechanism of the inotropic action of inosine on canine myocardium. *Cardiovasc Res* 17:735-739, 1983.
88. Berne RM, Rubio R: Adenine nucleotide metabolism in the heart. *Circ Res* 35:109-120, 1974.
89. 15. Roizen MF, Beaupre PN, Alpert RA, Kremer P, Cahalan MK, Shiller N, Sohn YJ, Cronnelly R, Lurz FW, Enrenfeld WK, Stoney RJ: Monitoring with two-dimensional transesophageal echocardiography: Comparison of myocardial function in patients undergoing supra-celiac, suprarenal-infraceliac, or infrarenal aortic occlusion. *J Vasc Surg* 1:300-305, 1984
90. Gelman S, Reves JG, Fowler K, Samuelson PN, Lell WA, Smith LR: Regional blood flow during cross-clamping of the thoracic aorta and infusion of sodium nitroprusside. *J Thorac Cardiovasc Surg* 85:287-291, 1983.

- 91.Roberts AJ, Nora JD, Hughes A, Quintanilla AP, Ganote CE, Sanders JH Jr, Moran JM, Michaelis LL: Cardiac and renal responses to cross-clamping of the descending thoracic aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg* 86:732-741, 1983.
- 92.Symbas PN, Pfaender LM, Drucker MH, Lester JL, Gravanis MB, Zacharopoulos L: Cross-clamping of the descending aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg* 85:300-305, 1983.
- 93.Perry MO: The hemodynamics of temporary abdominal aortic occlusion *Ann Surg* 168:193-200, 1968.
- 94.Askitopolou H, Young CA, Morgan M, Sykes MK: Some cardiopulmonary effects of infrarenal clamping of the abdominal aorta, *Anaesth Intensive Care* 6:44-48, 1978.
- 95.Bayliss WM: On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol* 28:220-231, 1902.
- 96.Vetto RM, Brant B: Control of declamping shock. *Am J Surg* 116:273-279, 1968.
- 97.Neglen P, Carlsson C, Eklof B, Gustafson I, Thomson D: Skeletal muscle metabolism and central hemodynamics during temporary incomplete ischemia induced by aortic clamping in man. *Acta Chirurgica Scandinavica* 146:323-331, 1980.
- 98.Baue AE, McClerkin WW: A study of shock: Acidosis and the declamping phenomenon. *Ann Surg* 161:41-45, 1965.
- 99.Akata T, Tominaga M, Sagiyama M, Taniyama T, Inaba S, Takahashi S, Yoshitake J: Changes in end-tidal CO sub 2 level following tourniquet deflation during orthopedic surgery. *Journal of Anesthesia* 6: 9-16, 1992.
- 100.Perkins RJ, Roberts KW, Shah DM, Feustel PJ, Cohen IL: Estimation of oxygen deficit and debt resulting from abdominal aortic cross-clamping in humans (abstract). *anesthesiology* 75:a113, 1991.
- 101.Grant RP, Jenkins LC: Modification by preoperative beta-blockade of the renin response to infrarenal aortic cross-clamping. *Can Anaesth Soc J* 30:480-486, 1983.
- 102.Grindlinger GA, Vegas AM, Manny J, Bush HL, Mannick JA, Hechtman HB: Volume loading and vasodilators in abdominal aortic aneurysmectomy. *Am J Surg* 139:480-486, 1980.
- 103.Quintin L, Bonnet F, Macquin I, Szekely B, Becquemin JP, Ghignone M: Aortic surgery: Effect of clonidine on intraoperative catecholaminergic and circulatory stability. *Acta Anaesthesiol Scand* 34:132-137, 1990.
- 104.Andersen PT, Nielsen LK, Moller-Petersen J, Henneberg EW, Egebald K: Severe hypophosphatemia following elective abdominal aortic bypass grafting. *Acta Chirurgica Scandinavica* 153:641-646, 1987.
- 105.Nielsen VG, Weinbroum A, Tan S, Samuelson PN, Gelman S, Parks DA: Xanthine oxidoreductase release after descending thoracic aorta occlusion and reperfusion in rabbits. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107:1222-1227, 1994.
- 106.Schoenberg MH, Fredholm BB, Hohlbach G: Changes in acid-base status, lactate concentration and purine metabolites during reconstructive aortic surgery. *Acta Chirurgica Scandinavica* 151:227-233, 1985.
- 107.Parks DA, Granger DN: Ischemia-induced vascular changes: Role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol* 245: G285-G289, 1983.

108. Bourchier RG, Gloviczki P, Larson MV, Wu QH, Hallett JW Jr, Ahlquist DA, Pairolero PC: The mechanisms and prevention of intravascular fluid loss after occlusion of the supraceliac aorta in dogs. *J Vasc Surg* 13:637-645, 1991.
109. Svensson LG, Von Ritter C, Oosthuizen MMJ, Fimmel CJ, Rickards E, Hunter SJ, Robinson MF, Hinder RA: Prevention of gastric mucosal lesions following aortic cross-clamping. *Br J Surg* 74:282-285, 1987.
110. Korthuis RJ, Smith JK, Carden DL: Hypoxic reperfusion attenuates posts ischemic microvascular injury. *Am J Physiol* 256:H315-H319, 1989.
111. Rittenhouse EA, Maixner W, Knott HW, Barnes RW, Jaffe BM: The role of prostaglandin E in the hemodynamic response to aortic clamping and declamping. *Surgery* 80:137-144, 1976.
112. Blaisdell FW, Lim RC, Stallone RJ: The mechanism of pulmonary damage following traumatic shock. *Surg Gynecol Obstet* 130: 15-22, 1970.
113. Anner H, Kaufmann RP Jr, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Pulmonary hypertension and leukosequestration after lower torso ischemia. *Ann Surg* 206:642-648, 1987.
114. Goldman G, Welbourn R, Rothlein R, Wiles M, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Adherent neutrophils mediate permeability after atelectasis. *Ann Surg* 216:372-380, 1992.
115. Beal SL, Heimbach D, Chi E, Reynolds L: Physiology and histology of the pulmonary micro-embolism syndrome. *Surgical Forum* 35:37-39, 1984.
116. Welbourn R, Goldman G, Kobzik L, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Role of neutrophil adherence receptors (CD 18) in lung permeability following lower torso ischemia. *Circ Res* 71:82-86, 1992.
117. Bengston A, Heideman M: Altered anaphylatoxin activity during induced hypoperfusion in acute and elective abdominal aortic surgery. *J Trauma* 26:631-637, 1986.
118. Bengston A, Lannsjö W, Heideman M: Complement and anaphylatoxin responses to cross-clamping of the aorta. *Br J Anaesth* 59: 1093-1097, 1987.
119. Marceau F, Hugli TE: Effect of C3a and C5a anaphylatoxins on guinea-pig isolated blood vessels. *J Pharmacol Exp Ther* 230: 749-754, 1984.
120. Hachfeld del Balzo U, Levi R, Polley MJ: Cardiac dysfunction caused by purified human C3a anaphylatoxin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:886-890, 1985.
121. Lefer AM, Martin J: Origin of myocardial depressant factor in shock. *Am J Physiol* 218:1423-1427, 1970.
122. Maxwell S.R.J., Lip, G.Y.H.: Reperfusion injury : a review of the pathophysiology , clinical manifestations and therapeutic options. *Int.J.Jardiol.*,58,95-117(1997)
123. Svensson LG, Hess KR, Coselli JS, Sfi HJ, Crawford ES: A prospective study of respiratory failure after high-risk surgery of the thoracoabdominal aorta. *J Vasc Surg* 14:271-282, 1991. 86.
124. Lunn JK, Dannemiller FJ, Stanley TH: Cardiovascular responses to clamping of the aorta during epidural and general anesthesia. *Anesth Analg* 58:372-376, 1979.
125. Paterson IS, Klausner JM, Pugatch R, Allen P, Mannick JA, Shepro D, Hechtman HB: Noncardiogenic pulmonary edema after abdominal aortic aneurysm surgery. *Ann Surg* 209:231-236, 1989.

126. Carroll RM, Laravisco RB, Schauble JF: Left ventricular function during aortic surgery. *Arch Surg* 111:740-743, 1976.
127. Bowald S, Gerdin B: Pulmonary microembolization during and after aortic cross-clamping in heparinized and non-heparinized pigs. *Acta Chir Scand* 146:351-356, 1980.
128. Bowald S, Eriksson I, Wiklund L: The influence of heparin on haemodynamics and blood gases during abdominal aortic surgery. *Acta Chirurgica Scandinavica* 146:333-341, 1980
129. Mathieson MA, Dunham B, Huval WV, Lelcuk S, Stemp LI, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Ischemia of the limb stimulates thromboxane production and myocardial depression. *Surg Gynecol Obstet* 157:500-504, 1983.
130. Klausner JM, Paterson IS, Goldman G, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Thromboxane A₂ mediates increased pulmonary microvascular permeability following limb ischemia. *Circ Res* 64:1178-1189, 1988
131. Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Neutrophil elastase and oxygen radicals: Synergism in lung injury after hindlimb ischemia. *Am J Physiol* 260:H1852-H1856, 1991.
132. Paterson IS, Klausner JM, Goldman G, Kobzik L, Welbourn R, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Thromboxane mediates the ischemia induced neutrophil oxidative burst. *Surgery* 106:224-229, 1989.
133. Klausner JM, Paterson IS, Mannick JA, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Reperfusion pulmonary edema. *JAMA* 261:1030-1035, 1989.
134. Tucker A, Weir EK, Reeves JT, Grover RF: Pulmonary microembolism: Attenuated pulmonary vasoconstriction with prostaglandin inhibitors and antihistamines. *Prostaglandins* 11:31-41, 1976.
135. Todd MH, Forrest JB, Cragg DB: The effects of aspirin and methysergide on responses to clot-induced pulmonary embolism. *Am Heart J* 105:769-776, 1983.
136. Hyman AL, Spannhake EW, Kadowitz PJ: State of the art: Prostaglandins and the lung. *Am Rev Respir Dis* 117:111-136, 1978.
137. Morgan EL, Weigle WO, Hugli TE: Anaphylatoxin-mediated regulation of the immune response: C3a-mediated suppression of human and murine humoral immune responses. *J Exp Med* 155:1412-1426, 1982.
138. McCombs PR, Roberts B: Acute renal failure following resection of abdominal aortic aneurysm. *Surg Gynecol Obstet* 148: 175-178, 1979.
139. Noirhomme P, Buche M, Louagie Y, Verhelst R, Matta A, Schoevaerdt JC: Ischemic complications of abdominal aortic surgery. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 32:451-455, 1991.
140. Abbott WM, Austen WG: The reversal of renal cortical ischemia during aortic occlusion by mannitol. *J Surg Res* 16:482-489, 1974.
141. Gamulin Z, Forster A, Morel D, Simonet F, Aymom E, Favre H: Effects of infra-renal aortic cross-clamping on renal hemodynamics in humans. *ANESTHESIOLOGY* 61:394-399, 1984.
142. Awad RW, Barham WJ, Taylor DN, Woodward DA, Bullen BR: The effect of infrarenal aortic reconstruction on glomerular filtration rate and effective renal plasma flow. *Eur J Vasc Surg* 6:362-367, 1992.

143. Carrel A: On the experimental surgery of the thoracic aorta and the heart. *Ann Surg* 52:83-95, 1910.
144. Djindjian R: Arteriography of the spinal cord. *Am J Roentgenol* 107:461-478, 1969.
145. Kadyi H: *Über die Blutgefäße des menschlichen Rückenmarkes*, Lemberg, Gubryonwicz and Schmidt, 1889, pp 21-57.
146. Svensson LG, Von Ritter C, Groeneveld HT, Rickards ES, Hunter SJS, Robinson MF, Hinder RA: Cross-clamping of the thoracic aorta: Influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons. *Ann Surg* 204:38-47, 1986.
147. Hollier LH: Protecting the brain and spinal cord. *J Vasc Surg* 5:524-528, 1987.
148. Katz NM, Blackstone EH, Kirklin JW, Karp RB: Incremental risk factors for spinal cord injury following operation for acute traumatic aortic transection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 81:669-674, 1981.
149. Berendes JN, Bredee JJ, Schipperheyn JJ, Mashhour YAS: Mechanisms of spinal cord injury after cross-clamping of the descending thoracic aorta. *Circulation* 66:112-116, 1982.
150. Ernst CB, Hagihara PF, Daugherty ME, Sachatello CR, Griffen WO: Ischemic colitis incidence following abdominal aortic reconstruction: A prospective study. *Surgery* 80:417-421, 1976.
151. Hagihara FP: Incidence of ischemic colitis following abdominal aortic reconstruction. *Surg Gynecol Obstet* 149:571-573, 1979.
152. Jonung T, Ribbe E, Norgren L, Thorvinger B, Thorne J: Visceral ischemia following aortic surgery. *Vasa* 20:125-131, 1991.
153. Gelman S, Patel K, Bishop SP, Fowler KC, Smith LR: Renal and splanchnic circulation during infrarenal aortic crossclamping. *Arch Surg* 119:1394-1399, 1984.
154. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, Divoux D, Nouvelout A, MacKenzie ET, Petit E. A potential role of erythropoietin in focal permanent ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19(6):643-651
155. Youssofian H, Langmore G, Neumann D, Yoshimura A, Lodish HF. Structure, function and activation of the erythropoietin receptor. *Blood* 1993;81:2223-2236.
156. Brines M, Cerami A. Discovering erythropoietin's extra-hematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney Int.* 2006 Jul;70(2):246-50. Epub 2006 May 31
157. Ateş E, Yalçın A U, Yılmaz S, Köken T, Tokyol Ç. Protective effect of erythropoietin on renal ischemia and reperfusion injury. *ANZ Journal of Surgery* volume 75, page 1100-December 2005
158. Olsen NV., Central nervous system frontiers for the use of erythropoietin. *Clin Infect Dis* 2003;37 Suppl 4:S323-30
159. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
160. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzimol* 1990;186:421-431
161. Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem* 1989;179:8-18

162. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH et al. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Research in Veterinary Sciences* 1983;34:253-256
163. Aebi Y. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:12-126
164. Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin e on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr.* 1991 Apr;53(4 Suppl):1061S-1063S.
165. Shields CJ, Winter DC, Manning BJ, Wang JH, Kirwan WO, Redmond HP. Hypertonic infusion for pulmonary injury due to ischemia reperfusion. *Arch Surg.* 2003 Jan;138(1):9-14.
166. Sepodes M, Maio R, Pinto R, Sharples E, Oliveira P, McDonald M, Yaqoob M, Thiemermann C, Mota Filipe H. Recombinant human erythropoietin protects the liver from hepatic ischemia reperfusion injury in the rat. *Transpl Int*, 2006 Nov;19(11):919-26
167. Kumral A, Gonenc S, Acikgoz O, Sonmez A, Genc K, Yilmaz O, Gokmen N, Duman N, Ozkan H. Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate.* 2005;87(1):15-8. Epub 2004 Aug 27
168. Joyeux-Faure M, Godin-Ribuot D, Ribouot C. Erythropoietin and myocardial protection: what's new? *Fundam Clin Pharmacol.* 2005 Aug;19(4):439-46
169. Calapai G, Marciano MC, Corica F, Allegr A, Parisi A, Frisina A, Caputi AP, Buemi M. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol.* 2000 Aug 11;401(3):349-56.
170. A Uysal, İ Akar, KK Özsin, A Rahman, B Üstündağ, Hİ Özercan. Alt ekstremité iskemî reperfúzyonunun yol açtığı akciğer hasarında melatoninin koruyucu etkinliği. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi Ekim 2006, Cilt 14, Sayı 4, Sayfa(1ar) 308-314)*
171. Kiriş, İ., Okutan, H., Savaş, Ç., Yönden, Z., Delibaş, N.. Deneysel aortik iskemî reperfúzyon modelinde renal hasara gadolinyum klorürün etkisi. *Turkish J Vasc Surg* 2005;14(2):13-18
172. Dimakakos PB, Kotsis T, Kondi-Pafiti A, Katsenis K, Doufas A, Chondros K, Kouskouni E. Oxygen free radicals in abdominal aortic surgery. An experimental study. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2002 Feb;43(1):77-82
173. İlhan A, Koltuksuz U, Özen S, Uz E, Çıralık H, Akyol O. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999 Oct;16(4):458-63
174. Ege E, İlhan A, Gurel A, Akyol O, Özen S. Erdosteine ameliorates neurological outcome and oxidative stress due to ischemia/reperfusion injury in rabbit spinal cord. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004 Oct;28(4):379-86
175. Okutan H., Savaş Ç., Delibaş N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 3 (2004) 519-522
176. Patel NS, Sharples EJ, Cuzzocrea S, Chatterjee PK, Britti D, Yaqoob MM, Thiemermann C. Pretreatment with EPO reduces the injury and dysfunction caused by ischemia reperfusion in the Mouse kidney in vivo. *Kidney Int.* 2004 Sep;66(3):983-9
177. Sakamaki F, Hoffmann H, Muller C, Dienemann H, Messmer K, Schildberg FW. Reduced lipid peroxidation and ischemiareperfusion injury after lung transplantation using low-potassium dextran solution for lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(4 Pt 1):1073-81.

- 178.Ozakoyol AH.,Tuncel N.,Saricam T.,Uzuner K.,Ak D.,Gürer F. Effect of nitric oxide inhibition on rat liver ischemia reperfusion injury. *Pathophysiology*, 2000 Sep;7(3):183-188
- 179.Erten SF,Kocak A, Ozdemir I,Aydemir S,Colak A,Reeder BS. Protective effect of melatonin on experimental spinal cord ischemia. *Spinal Cord*. 2003 Oct;41(10):533-8
- 180.Mezzetti A, Lapenna D,Pierdomenico SD,Di Giammarco G, Bosco G,Di Ilio C, Santarelli P,Calafiore AM, Cuccurullo F. Myocardial antioxidant defenses during cardiopulmonary bypass. *J Card Surg*. 1993 Mar;8(2):167-71
- 181.İlhan A., Yılmaz HR.,Armutçu F.,Gürel A., Akyol O. The protective effect of nebulolol on ischemia reperfusion injury in rabbit spinal cord. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.2004;28(7):1153-60.
182. Castedo E, Segovia J, E scudero C, Olmedilla B, Granado F, Blas C, Guardiola JM, Millan I, Pulpon LA, Ugarte J. İschemia-reperfusion injury during experimental heart transplantation. Evaluation of trimetazidine's cytoprotective effect. *Rev Esp Cardiol*.2005 Aug;58(8):941-50.
183. Aceto A,Mezzetti A,Di Ilio C,Calafiore AM,De Cesare D, Bosco G,Acciai N,Cappelletti L,Federici G, Cuccurullo F. Effect of ischaemia-reperfusion on glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione transferase activities in human heart protected by hypothermic cardioplegia.*Free Radic Res Commun*. 1990;8(2):85-91.
- 184.Çalıkoğlu M,Ünlü A, Sucu N, Aktaş S,Tamer L, Çalıkoğlu İ. Periferik iskemi reperfüzyonun akciğerdeki nitrozatif etkileri ve “ caffeic acid phenethylester” in koruyucu rolü . *Tuberküloz ve toraks dergisi* 2004;52(3):218-223.
- 185.Köksel O, Çekirdekçi A, Kükner A, İlhan N. The effect of alpha -lipoic acid on ischemia-reperusion induced lung injury. *Mersin ÜniversitesiTıp Fakültesi Dergisi* 2001;4:459-465
- 186.Wu H, Ren B, Zhu J, Dong G, Xu B, Wang C, Zheng X,Jing H. Pretreatment with recombined human erthropoietin attenuates ischemia-reperfusion-induced lung injury in rats. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Jun;29(6):902-7
- 187.Öcal Berkan, Nurkay Katrancıoğlu, İlhan Günay, Esin Yıldız Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyona Bağlı Gelişen Akciğer Hasarında Askorbik Asidin Etkisi *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* Ekim 2001, Cilt 9, Sayı 4, Sayfa(lar) 238-241