

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

**L-KARNİTİN'İN RAT AORTİK İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE
AKCİĞER VE ENDOTEL HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. DOLUNAY ODABAŞI

DANIŞMAN
Prof. Dr. AHMET ÖCAL

2006-İSPARTA

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan, Prof. Dr. Erdoğan İBRİŞİM , Prof. Dr. Ahmet ÖCAL, Doç. Dr. Turan YAVUZ, Doç. Dr. Hüseyin OKUTAN, Yard. Doç Dr. İlker KİRİŞ ve Yard. Doç. Dr. Oktay PEKER'e teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinin yanında, her zaman bana destek olan tez hocam . Prof. Dr. Ahmet ÖCAL 'a ayrıca teşekkür ederim.

Bu çalışmanın oluşturulması sırasında tüm aşamalarında sağladığı destek ve yardımları ile tezin tamamlanmasında büyük yardımları olan Yard. Doç. Dr. İlker KİRİŞ ve Araş. Gör.Dr. İlker TEKİN' e teşekkür ederim.

Asistanlık yaşantım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm doktor arkadaşlarıma ve diğer klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca bugün'ü yaşamamda en büyük katkısı olan sevgili eşim ve anneme teşekkür ederim.

Dr. Dolunay ODABAŞI

SİMGELER VE KISALTMALAR

AC	: Akciğer
ARDS	: Erişkin Sıkıntılı solunum sendromu
Ark	: Arkadaşları
AIR	: Aortik İskemi reperfüzyon
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
CO₂	: Karbondioksit
CPAP	: Devamlı Pozitif Havayolu Basıncı
c AMP	: Siklik Adenozin monofosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen dinitrilotetra asetik asit
Fe:	Demir
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSSH	: Okside glutatyon
Hb	: Hemoglobin
ICAM-1	: İntraselüler adezyon molekülü
IL	: İnterlökin
İNOS	: Nitrik oksit sentetaz
K	: Potasyum
LT	: Lökotrien
MDA	: Malonil dialdehit
MOF	: Multipl organ disfonksiyonu
MPO	: Myeloperoksidaz
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
NO	: Nitrik oksit
NO₂	: Azot dioksit
NO₂⁻	: Nitronyum iyonu
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil radikali
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PaCO₂	: Parsiyel karbondioksit basıncı
PaO₂	: Parsiyel oksijen basıncı
PDGF	: Trombosit büyüme faktörü
PEEP	: Pozitif Ekspirasyon sonu basıncı
PG	: Prostoglandin
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
-SH	: Sülfür grubu
SOD	: Süperoksit dismutaz
TxA₂	: Tromboksan A ₂
UV	: Ultraviyole
VCAM	: Vaskülo selüler adezyon molekülü

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	<i>i</i>
SİMGELER VE KISALTMALAR	<i>ii</i>
GENEL KONULAR VE GİRİŞ	1
A- GENEL BİLGİLER	1
B-SERBEST RADİKALİN TANIMI	3
C-SERBEST RADİKALLERİN OLUŞ MEKANİZMASI VE KİMYASAL REAKSİYONLAR:	4
D-SERBEST RADİKALLERİN SINIFLANDIRILMASI:	12
E-SERBEST RADİKALLERİN KAYNAKLARI:	14
E.1. Hücre dışı kaynaklar:	14
E.2. Hücre içi kaynaklar:	14
F-SERBEST RADİKALLERİN HÜCRE HASARINDAKİ ROLLERİ :	17
F.1. Hücre İçi Etkileri:	17
F.2. Hücre Dışı Etkileri:	18
G- ANTİOKSİDANLAR	19
G.1. Genel Bilgiler:	19
G.2. Diğer Antioksidanlar:	21
G.3. Doğal Endojen antioksidanlar:	22
H- LİPİD PEROKSİDASYONU	25
I- İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI'NIN PATOFİZYOLOJİSİ:	27
I.1. Endotelin Rolü:	30
I.2. Nötrofillerin Rolü:	31
I.3. Endotel hücreleri ve lokositler arasındaki ilişki:	32
İ- İSKEMİ MODELLERİ	34
J- İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI	35
K- AKUT AKCİĞER HASARI	35
K.1. Akut Akciğer Hasarının Patofizyolojisi:	40
K.2. Akut Akciğer Hasarının Kliniği:	41
K.3. Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Endotel:	42
L- ADEZYON MOLEKÜLLERİ:	44
M- L-KARNİTİN:	53
M.1. Yapı ve Biyosentez	53
M.2. Fizyolojik Etkileri:	54
M.3. Karnitin Yetersizliği	57
M.4. Karnitin Eksikliği ile Ortaya Çıkan Metabolik Bozukluklar:	58
AMAÇ	59
YÖNTEM VE GEREÇLER	62
DENEY HAYVANLARI	63
DENEY PROTOKOLÜ	63
BIYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER	63
PATOLOJİK ANALİZLER	68

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	70
TARTIŞMA	79
SONUÇ	83
ÖZET	84
SUMMARY	85
KAYNAKLAR	86

GENEL KONULAR VE GİRİŞ

Fizyopatolojik olarak karmaşık ve çok faktörlü olan iskemi-reperfüzyon sendromunun yol açtığı lokal doku hasarı ve sistemik etkileri, cerrahide önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. 1960'lı yıllardan beri akut ekstremite arter tıkanıklıkları sonrası revaskülarizasyonu takiben myoglobinüri, hiperkalemi ve metabolik asidoz oluşacağı, bunların da şiddetli ve çoğunlukla öldürücü metabolik komplikasyonlara yol açacağı bilinmektedir. Bu olumsuz etkiler reperfüzyon sırasında üretilen toksik serbest oksijen radikallerine bağlanmaktadır (1,2). Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemede bugüne kadar birçok farmakolojik ajan deneysel ve klinik olarak araştırılmıştır. Bu çalışmada; L-Karnitin serbest oksijen radikali temizleyici etkisi, oluşturulan alt ekstremite deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde araştırılmıştır.

A- GENEL BİLGİLER

Canlı organizma bir hücreler kümesidir ve canlılığın devamı için çeşitli dış ve iç etkenlerle savaşıır. Gerek dışarıdan dolaşım yoluyla gelen, gerek içerisindeki metabolik süreçler sonucunda ortaya çıkan zararlı etkenler, hücrenin savunma mekanizmaları ile zararsız hale getirilir. Eğer bu başarılmaz ise geriye dönüşebilir hücre hasarı veya geri dönüşümsüz hücre ölümü olur.

Hücre yaranmasına neden olan etkenleri aşağıdaki gibi sınıflandırabiliriz (1):

- 1- Hipoksi,
- 2- Kimyasal ajan ve droglar,
- 3- Fizik ajanlar,
- 4-İmmüolojik reaksiyonlar,
- 5- İnfeksiyöz ajanlar,
- 6-Beslenme bozuklukları,
- 7-Genetik bozukluklar.

Hücre hasarına yol açan ajanların biyokimyasal etki yeri her zaman

saptanamayabilir ancak hücre içi dört önemli sistem özellikle hasarlanma'ya hassastır ve bunların çalışmasının devamını sürdürmek gereklidir (1) :

- 1- Hücrenin genetik yapısının bütünlüğünü korumak,
- 2- Enzim ve yapı proteinlerinin sentezinin sağlanması,
- 3- Oksidatif fosforilasyon ve adenosin trifosfat üretimini içeren aerobik solunum,
- 4 - Hücre zarlarının bütünlüğünün devamı.

Hücre hasarının morfolojik belirtileri hücre içinde bazı kritik biyokimyasal mekanizmaların değişmesinden sonra görünür hale gelir. Önceleri ışık mikroskobu kullanımıyla bu değişimlerin örneğin kalp kasında total iskemiden 10-12 saat sonra olduğu düşünülürken şimdi geriye dönüşsüz hücre hasarının 20-60 dakikada başladığını biliyoruz. (1).

Hipoksi, iskemik hücre hasarı patogeneğinde altta yatan en önemli etkidir. İndirgenmiş aktif oksijen türlerinin çoğu patolojik durumda hücre hasarının en önemli sebebidir. Bu serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olup hücre yapısında pek çok hasar yapıcı özelliğe sahiptir (1,2).Hipoksi'nin başlattığı olaylar dizisi ayrıntılı olarak ortaya konmuştur. Geri dönüşsüz hücre hasarını oluşturmak için gerekli hipoksi süresi hücre tipine ve hayvanın beslenme ve hormonal durumuna göre değişmektedir (3).

Öldürücü hipoksik yaralanmada iki bulgu geri dönüşsüz hasarda sürekli gözlenir. Birincisi mitokondriyal işlev bozukluğunun ATP üretiminde azalmaya neden olması. İkincisi hücre zar işlevlerinde belirgin bozukluğun gelişmesidir. İkinci olay, yani hücre zarı hasarı geriye dönüşsüz hasarın merkezi noktasıdır. Hücre zarı hasarına birçok biyokimyasal mekanizma katılabilir (1):

- 1- Fosfolipidlerin ilerleyici kaybı,
- 2- Hücre iskeleti anormallikleri,
- 3- Reaktif oksijen türleri,

- 4- Lipid parçalanma ürünleri,
- 5- Hücre içi aminoasitlerin kaybı.

Özet olarak, hipoksi oksidatif fosforilasyonu ve sonuç olarak ATP yapımını azaltır; öldürücü hücre hasarının gelişiminde hücre zarı hasarın kritik noktasıdır ve kalsiyumun hücre ölümüne giden süreçte biyokimyasal ve morfolojik değişimlerin önemli elemanıdır.

B-SERBEST RADİKALİN TANIMI

Moleküllerdeki atomlar uzayda bir yer kaplarlar ve bu kapladıkları yere orbital adı verilir. Her orbitalde biri saat yönünde diğeri de tersi yönde hareket eden iki elektron bulunur. Eğer bir orbitalde yalnızca bir adet elektron bulunuyorsa buna eş olmayan elektron denir. Serbest radikal ise dış orbitalinde tek sayıda eş olmayan elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir (3,4). Kimyasal formüllerde bu elektron bir nokta ile (OH) gösterilir. Yani Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler, pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği gösterirler. (1,4,5).

Serbest radikaller özellikle aktive oksijen türleri, kimyasal ve radyasyon yaralanması, oksijen ve diğeri gaz yaralanmaları, hücre yaşlanması, fagositik hücrelerle mikrobiyal öldürme, inflamatuvar hasar ve makrofajlarla tümör destrüksiyonu gibi pek çok olayın ortak sonucudur (1).

Serbest radikal özelliğine sahip moleküllerde, genellikle elektronlar ve protonlar

arasında sayısal açıdan eşitliğin olmadığı bilinmektedir. Bu durumda elektronlar elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemek isteyeceklerinden aşırı derecede reaktifdirler. Eşlenmemiş elektron fazlası bulunan bir serbest radikal elektronunu eşlemek ve elektron konfigürasyonunu dengelemek için bağlanabileceği başka bir molekül arayacaktır. Böylece serbest radikal tanımına giren moleküller, bir başka molekül ile elektron alışverişinde bulunarak diğer molekülü kararsız hale getirirler (7).

Serbest radikaller;

1- Radyant enerjinin emilmesiyle (ultraviyole ışıkları, x-ışınları),

2- Endojen yolla, normal metabolik süreçler süresince oluşan genellikle oksidatif reaksiyonlarla, veya

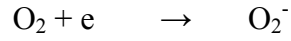
3- Ekzojen kimyasallar veya drogların enzimatik metabolizması yoluyla (örn: CCL_4 'ün bir ürünü olan CCL_3) hücre içinde başlatılabilirler (1).

C-SERBEST RADİKALLERİN OLUŞ MEKANİZMASI VE KİMYASAL REAKSİYONLAR:

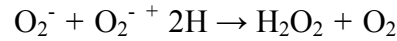
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Doğal oksijen molekülü (O_2), iki tane eşi olmayan elektrona sahiptir ve kimyasal açıdan bir diradikaldir. Oksijen molekülündeki iki eşsiz elektron ayrı orbitallerde bulunur, ancak hareket yönleri aynıdır. Oksijen molekülü, elektron alıcısı olarak davranır ve oksidasyon yapar, ancak orbital yapısındaki özellik nedeniyle oksijen diradikali termodinamik olarak elektron almaya eğilimli iken kinetik olarak elektron vermek istemez. Eğer bir oksijen diradikali bir molekül veya atomu okside edecekse (2 elektron alacaksa), bu elektronların her biri mevcut elektronların hareket yönünün tersinde hareket eden elektronlar olmaları gerekir. Başka bir molekülün aynı orbitalindeki bir çift elektron bu gerekliliğe uymaz ve bu nedenle oksijen non-radikallerle çok yavaş reaksiyona girer. Ancak birçok oksidaz ve oksijenaz enzimleri ile mitokondriyal elektron

transport zincirinde bulunan başta demir olmak üzere metal iyonları, bir elektron alma (veya verme) kapasiteleri sayesinde bu yörünge kısıtlanmasının üstesinden gelebilirler (1,6,8,9). Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler, oksijenin kendisi, O_2^- , hidrojen peroksit (H_2O_2), geçiş metallerin iyonları ve hidroksil radikali.

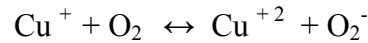
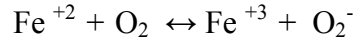
Süperoksit radikali: Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest O_2^- meydana gelir.



Bu radikalden spontan ya da enzimatik dismütasyon ile, ikinci bir ara ürün, H_2O_2 oluşur :

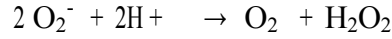


Demir (Fe) ve Bakır (Cu) gibi geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması bakımından da önemlidir :



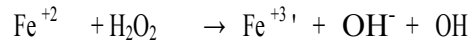
Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO'nun normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca, peroksinitlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali (OH^-) ve nitronyum iyonu (NO_2^-) iyonu gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler.

Hidrojen peroksit : H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki O_2^- molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar:

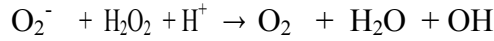


H_2O_2 , bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü O_2^- ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

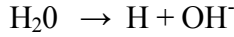
Hidroksil radikali: OH^- , H_2O_2 'nin geçiş metallere varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu adı verilir:



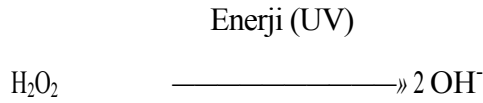
H_2O_2 ile O_2^- reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur. Bakır veya demir iyonları varlığında gerçekleşen bu reaksiyona Haber-Weis reaksiyonu adı verilir:



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur:



Ayrıca H_2O_2 'nin UV(Ultraviyole) ışığına maruz kalması ile de OH^- oluşabilir:



Hidroksil radikali; son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yanlanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur (10).

Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir (11,12). Ancak organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır.

Oksijen normal olarak sitokrom oksidaz tarafından katalize edilerek H₂O'nun 4 elektron indirgenmesine neden olur. Hücre içi oksijenin varlığı kısmen indirgenmiş toksik ara oksijen türlerinin uygunsuz üretimine yol açar. Bu türlerden en önemli üçü süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil iyonlarıdır. En önemli üç serbest radikali oluşturan bu toksik bileşikler sitozol, mitokondri, lizozom, peroksizom ve plazma membranları gibi hücrenin çeşitli yerlerinde çeşitli oksidatif enzimlerin aktivitesi ile üretilebilirler (1,8).

Süperoksit hem mitokondride oto-oksidasyon süresince direkt olarak hem de ksantin oksidaz, sitokrom P-450 ve diğer sitoplazmik enzimler yoluyla enzimatik olarak oluşturulur (1). Süperoksit bir kez oluştuğunda hızla süperoksit dismutaz sayesinde H₂O₂ oluşturularak inaktive edilir (1). Süperoksit radikali asıl toksisitesini hidroksil radikali oluşturarak gösterir ve O₂'nin ferritin ve transferrinden iyonik demiri çözme yeteneğine de sahip olduğu gösterilmiştir. Ortama süperoksit dismutaz eklenmesi demir çözülmesini %95-97 oranında önleyebilmekte, ortam hipoksik oldukça O₂'nin demir çözme yeteneği artmaktadır (2).

Demir toksik oksijen hasarında özellikle önemlidir. Süperoksit, demirin Fenton reaksiyonu için gerekli ferric (Fe⁺⁺⁺) şeklinden ferröz (Fe⁺⁺) şekle dönüşümü artırır (1).

Demir hücre içinde ve dışında proteinlere bağlı olarak bulunur. Bu proteinlerden birincisi, bir transport proteini olan transferrindir. Transferrin, fizyolojik pH'ta her molü başına iki mol Fe⁺⁺⁺ bağlar. Normal plazmada bağlanacak Fe⁺⁺⁺'ten çok fazla transferrin bulunur ve bu yüzden transferrin saturasyonu % 20-30 arasındadır. Ayrıca, plazmada serbest iyonik demir bulunmaz. Sindirim sisteminden emilen demirin derhal transferrine bağlanması ve plazmada serbest iyonik demir bulunmamasının çok özelleşmiş transport mekanizmaları ile izlenmesi, hücre dışı sıvılarda serbest oksijen radikali oluşumunu engelleyecek birincil sistemdir. Kaçınılmaz olarak hücre içinde bir miktar demir

bulduğundan antioksidan savunma için hücre içi enzim sistemlerinin varlığı önemlidir. Transferrinin demir bağlaması dışında albümin, haptogloblin, hemopeksin, ve laktoferrin de benzer işlev yaparlar, Serüloplazmin' de Fe^{++} i Fe^{+++} e okside ederek hızla transferrine bağlanmasını sağlar. Fizyolojik pH'da transferrine bağlı demirin ne lipid peroksidasyonu ne de OH^- oluşumu yapamadığı gösterilmiştir. Ancak pH'ın 6'nın altına inmesiyle demir transferrinden ayrılır ve bu demirin hücre içinde serbest kalmasının mekanizmasıdır. Haber - Weiss reaksiyonu, metal iyonlarının katalizörlüğü olmadan çok yavaş ilerler. Ancak özellikle demirin bu reaksiyonu hızlandırdığının bulunmasından sonra OH^- radikalinin önemi anlaşılmış ve serbest oksijen radikallerinin akciğer, beyin, kalp, deri flepleri ve karaciğer gibi dokularda yaptıkları hasar belirlenmiştir (3).

Haber - Weiss reaksiyonunu serbest demir iyonunun katalize edebileceği, bağlı demirin böyle bir etkisinin olamayacağı pek çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir. İskemik dokularda demirin transferrinden çözülerek serbest kaldığı ve OH^- radikali oluşturduğu da yine deneysel olarak kanıtlanmıştır.

İskemi sonrası dokularda serbest oksijen radikalleri açısından oluşan olaylar özetler ise ; iskemi sırasında Ca^{++} iyonu tarafından aktive edilen proteaz ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürmekte, iskemi sonucu AMP metabolizması ile oluşan hipoksantin artmakta, düşen pH nedeniyle transferrinden bir miktar demir iyonu ayrılmakta, ksantin oksidazın oluşturduğu O_2 radikali hem direkt hasar yapmakta hem de transferrinden daha fazla demir iyonu ayrılmasını sağlamaktadır. Ortamda bulunan süperoksit radikallerinin bir kısmı süperoksit dismutaz ile giderilmekte, ancak ani ve fazla miktarda oluşan O_2 radikallerinin tümü için süperoksit dismutaz aktivitesi yetersiz kalmakta, sonuçta postiskemik dokuda O_2 demir iyonu ve süperoksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 birarada bulunmaktadır (2).

İnsanda oksijen indirgenmesi ile ilgili reaksiyonların %98'i mitokondrilerde bulunan sitokrom oksidaz enzim sistemi tarafından katalize edilir ve bu 4 elektronlu

indirgenme sonucunda su oluşur.

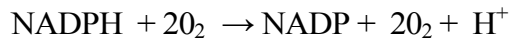


Sitokrom oksidaz karmaşık bir enzimdir, oksijen molekülüne elektronları birer birer ekler ve radikali bağlayarak ortama salınmasını engeller. Ancak oksidatif fosforilasyonda kullanılan oksijen moleküllerinin tümü çok özelleşmiş olan sitokrom oksidaz sisteminden geçerek indirgenmez. Oksijen moleküllerinin %1-2'si daha az özelleşmiş enzim sistemlerinden geçer, bu şekilde univalan indirgenme ve oksijen radikalleri oluşur. Örneğin oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi süperoksit radikalini (O_2^-), iki elektron eklenmesi ise çok reaktif olan hidroksil (OH^-) radikalini ortaya çıkarır. Hidrojen peroksit (H_2O_2) eşsiz elektronu olmadığından radikal sayılmaz ancak OH^- oluşturabildiğinden ve direkt doku hasan yapabileceğinden radikal sayılmaktadır (3).

Sitokrom oksidaz sisteminden sızan % 1-2 oksijen dışında iki enzim sistemi daha in vivo serbest oksijen radikali oluşumunda rol oynar. Bu enzimler;

1- NADPH dehidrogenaz

Nötrofiller ve diğer inflamatuvar hücreler plazmada membrana bağlı NADPH oksidaz sistemini harekete geçirebilirler. Sonuçta NADPH, $NADP^{+}$ ye yükseltgenir ve serbest oksijen radikalleri çıkar;



Bu organizma tarafından istemli olarak serbest oksijen radikali oluşturulan tek durumdur ve oluşan süperoksit radikali, inflamatuvar yanıtta intrasellüler öldürme yeteneğinin bir parçasıdır, fizyolojik pH'arda, oluşan O_2^- radikali H_2O_2 ve O_2^{\cdot} 'e dismute olur. Bu dismutasyon reaksiyonunu organizmada bulunan fizyolojik bir serbest oksijen radikali giderici, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sağlar (2,13).

Dismutasyon ürünü olan H_2O_2 'nin uzaklaştırılması için iki enzim sistemi mevcuttur. Birincisi hücre içinde peroksizomlarda bulunan katalaz, ikinci ve daha önemlisi glutatyon peroksidaz enzimleridir. Bunlardan sonra, savunmanın son basamağında sınırlanmayan antioksidanlar bulunur; hücrenin hidrofilik bölgelerinde askorbik asit, sistein, seruloplazmin ve transferlin ; hidrofobik bölgelerinde ise bir çok yağ asidi ve E vitamini (4,10,14).

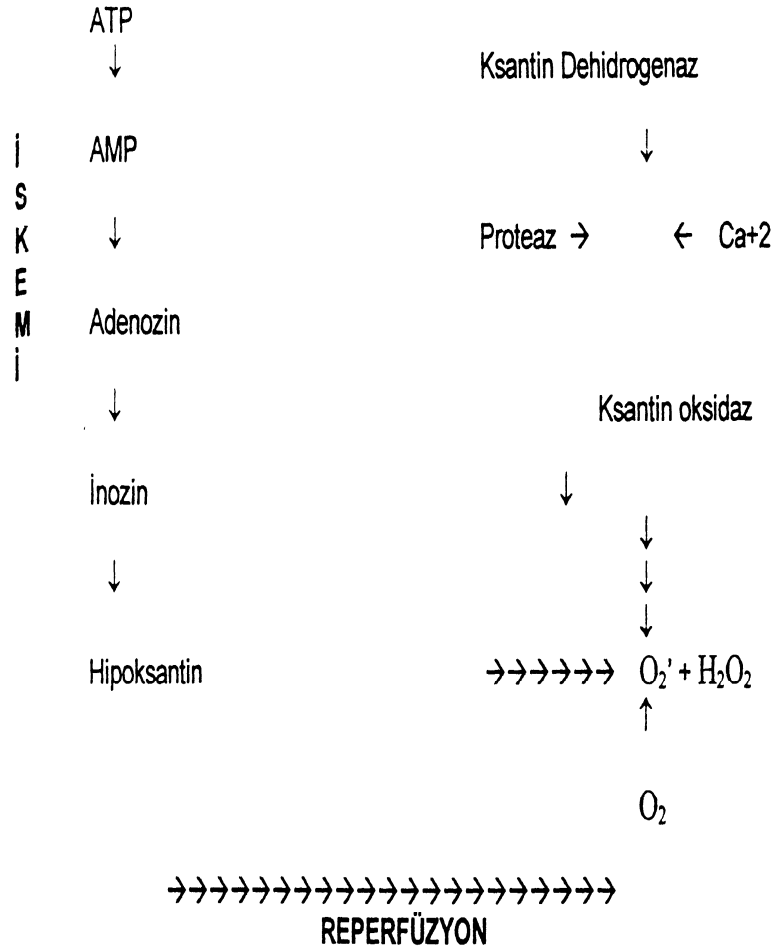
2- Ksantin oksidaz.

İn vivo serbest oksijen radikali oluşturan diğer enzim ise ksantin oksidazdır. Bu enzim, purin metabolizmasının son oksidasyonu olan hipoksantin ksantine oksidasyonunu gerçekleştirir. Ksantin oksidaz O_2 varlığında hipoksantini ksantine, ksantini de ürik aside okside ederek ortama O_2^- ile H_2O_2 salınmasını sağlar. Normal dokularda ksantin oksidaz, ksantin dehidrogenaz olarak bulunur, elektron alıcısı olarak O_2 yerine NAD^+ 'yi kullanır ve bu reaksiyonlar sonucunda hiçbir serbest oksijen radikali oluşmaz (2).

Postiskemik dokuda süperoksit radikalinin büyük kısmının kaynağı ksantin oksidaz sistemidir. Bu enzim ksantin dehidrogenaz olarak sentezlenir ve elektron alıcısı olarak NAD^+ 'yi kullandığından normal dokularda ne O_2^- ne de H_2O_2 oluşmaz. Dokuya kan sağlanması belli bir düzey altına indiğinde ATP üretimi için gerekli O_2 miktarı da düşer. Enerji deposu azaldığında hücre, membranından gerekli iyon transportunu yapamaz hale gelir ve sonuçta hücre sitozolünde kalsiyum iyonu konsantrasyonu oranı artar. Artan Ca^{++} konsantrasyonu da ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürecek proteazları harekete geçirir. Proteaz aktivitesinin Ca^{++} iyonu ile arttığı farklı deney hayvanlarının farklı dokularında gösterilmiştir. Bu da tıpkı serbest oksijen radikallerinin yaptığı hasar gibi türe özgü değildir (2,8).

Hücresinin ATP miktarının azalması ile eş zamanlı olarak AMP miktarı artar, AMP de adenozin, inozin ve hipoksantine metabolize olur, Hipoksantin miktarının

iskemik dokularda arttığı bilinmektedir ve tüm beden hipoksisi ve kısmi iskemisinde de dolaşımında bulunan miktarı artar. Artmış hipoksantin, aktivitesi yükselmiş ksantin dehidrogenaz tarafından metabolize olur ve şekil 1 'de görüldüğü gibi toksik serbest radikaller ortama salınır.



Şekil 1. İskemik dokularda ksantin oksidaz yolu ile serbest oksijen radikali üretimi (5,8).

Özet olarak iskemik dokularda iki önemli değişiklik olur; ksantin oksidaz aktivitesinin artışı bu enzimin iki substratından biri olan hipoksantin oluşumu. Diğer bir substrat olan moleküler oksijenin de reperfüzyonla sağlanmasıyla dokuda ani ve çok miktarda süperoksit radikali ve hidrojen peroksit oluşumudur.

D-SERBEST RADİKALLERİN SINIFLANDIRILMASI:

Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir (Tablo 1). Ancak organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (8).

Tablo 1: Oksijen türevi bileşikler

<u>Radikaller:</u>	<u>Radikal olmayanlar:</u>
Hidroksil	Hidrojen peroksit
Alkoksil	Singlet oksijen
Peroksil	Ozon
Süperoksit	Hipoklorid asit
Nitrik oksit	Lipid hiperoksit
Azot dioksit	Peroksinitrit

Serbest radikaller hücrenin tüm bölümlerinde oluşabilme özelliğindedir. Hücrede zara bağlı veya serbest olarak bulunan değişik enzimlerin etkisi ile serbest radikaller oluşmaktadır. Bu radikal oluşumu hücre tiplerine göre değişiklik göstermesine rağmen, tüm aerobik hücrelerde belirli düzeylerde radikal oluşmaktadır. Bu oluşum mitokondrideki elektron transport zinciri reaksiyonlarını, endoplazmik retikulumdaki karma fonksiyonlu oksidaz sistemini, sitoplazmada ksantin oksidaz, dopamin B-hidroksilaz, D- amino asit oksidaz, urat oksidaz gibi enzimlerin etkinliğini, hücre zarına bağlı NADPH oksidaz, prostaglandin sentetaz ve lipoksijenazların faaliyetini,

peroksizomlarda ve lizozomlardaki metabolik olayları kapsamaktadır (2,6,8,9,11).

Serbest radikaller, hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir (8):

- a- DNA'nın tahrip olması,
- b- Nükleotit yapıli koenzimlerin yıkımı,
- c- Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamında tiol/disülfid oranının değişmesi,
- d- Protein ve lipidlerle kovalan bağlantılar yapması,
- e- Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
- f- Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- g- Proteinlerin tahrip olması ve protein " turnover " 'nin artması,
- h- Hücre ve organellerin zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyonu, hücre zarı yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- i- Hücre zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- j- Steroid ve yağ pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- k- Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması.

Süperoksit radikali moleküler düzeyde hasar yaparak hücre ölümüne neden olur. Ayrıca O_2^- hidroksil radikali gibi daha toksik radikaller oluşturarak indirekt hasara da yol açar. Dokularda karşılaşılan serbest oksijen radikali hasarının büyük kısmını OH^- radikali

oluşturur; bu radikal bütün biyolojik moleküllerle çok çabuk (9 -10 sn.) reaksiyona girerek hasara yol açar (3,12).

E-SERBEST RADİKALLERİN KAYNAKLARI:

Serbest radikaller organizma açısından üretim yerine göre hücre dışı ve hücre içi kaynaklıdır (15).

E.1. Hücre dışı kaynaklar:

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Oksijenin redüksiyonu ve enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksid radikali meydana gelir. Normal metabolizmanın yanı sıra, antineoplastik ajanlar (nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicine, adriamycine ve daunorubicine), kinolon grubu antibiyotikler, radyasyon (x ve gama ışınları), alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucu maddeler), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, sigara dumanı), anestezikler, aromatik hidrokarbonlar ve bazı viral ajanlar da serbest radikallerin açığa çıkmasına neden olurlar (10,15,16).

E.2. Hücre içi kaynaklar:

I-Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre komponentlerinin pek çoğu serbest radikal açığa çıkarırlar. Bunlar arasında tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidroprotienler bulunur ve O_2^- radikallerin meydana gelmesine neden olurlar (17).

II-Enzimler ve proteinler : Katalizlenme siklusları sırasında birçok enzim serbest radikal oluşumunu sağlar. Örneğin ksantin oksidaz, oksijenin H_2O_2 ' ye redüksiyonu sırasında süperoksid radikali oluşur.

III-Mitokondrial elektron transportu: Mitokondri iç membranında lokalize oksidatif fosforilasyonla ATP oluşurken moleküler oksijenin tetraalen redüksiyonu ile su meydana gelir. Oksijenin yaklaşık % 1-5'lik kısmı sitokromla katalizlenen bu yoldan dışarı sızar. Univalan redüksiyona uğrayarak süperoksid radikali, hidrojen ve hidroksil radikali ara ürün olarak salınır (15,16,18).

IV-Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri: Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikaller, rmembrana bağlı sitokromların oksidasyonu sonucu oluşur. Nükleer membrandan açığa çıkmış olan radikallerin varlığında özellikle Deoksiribonükleik asit (DNA) serbest radikal harabiyetine maruz kalabilecektir (19).

V-Peroksizomlar : Peroksizomlar D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-alfa hidroksiasit oksidazdan çok zengin olup, bu enzimlerin tümü H_2O_2 açığa çıkarma yeteneğine sahiptirler.

VI-Plazma membranı : Serbest radikal reaksiyonları için en kritik bölgedir. Membranda bulunan potansiyel oksijen radikal kaynaklarından biri araşidonik asittir. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimlerin substratı olup, ara ürün olarak peroksi bileşikleri ve hidroksi radikalleri açığa çıkar.

Ayrıca nötrofiller, duyarlanmış monositler, eozinofiller ve makrofajlar çeşitli uyarılarla aktif hale gelerek, süperoksid radikali, H_2O_2 ve hidroksil radikali salınımına neden olurlar. Serbest radikallerin hücre ve organellere yakınlığı dikkate alınacak olursa metabolik ürünlerin sitozolik membrana ve hücre dışı komponentleri etkileme şansları dahada önem kazanır. Diffüzyonun derecesi radikalin reaktiflik derecesine bağlıdır. Öncelikle sitozölü etkileyen serbest radikaller özelliklede membran üzerindeki poliansatüre yağ asitleri, DNA, karbonhidratlar ve proteinler serbest radikal saldırısına

daha fazla maruz kalırlar (15).

Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda arttırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler. Bu tip maddeler dört grupta toplanabilirler;

a-Toksinin kendisi bir serbest radikaldir. Kirli havanın koyu rengini veren azot dioksit gazı örnek olarak verilebilir. Bu radikal iyi bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır.

b-Toksin bir serbest radikale metabolize olur. Mesela, toksik bir madde olan karbontetraklorür karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil serbest radikale dönüşür. Bu radikalin oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen peroksil radikali de kuvvetli bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Böylece, reaktif serbest radikal üretimi, karaciğerde antioksidan savunmaları aşar. Bu da hücre membranlarının oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır.

c-Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Bunun tipik bir örneği paraquatdır. Özellikle karaciğerde biriken paraquat, bir serbest radikale indirgendikten sonra tekrar yükseltgenerek rejenere edilirken beraberinde oksijen indirgenir. Böylece bol miktarda O_2^- üretilmiş olur.

d-Toksin antioksidan aktiviteyi düşürür. Mesela parasetamolün karaciğerde sitokrom P-450 tarafından metabolizması, glutatyonla reaksiyona giren ve miktarını azaltan bir ürün meydana getirir (10,20).

F-SERBEST RADİKALLERİN HÜCRE HASARINDAKİ ROLLERİ :

F.1. Hücre İçi Etkileri:

a-Membran Lipidleri: Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Lipid peroksidasyonunda en etkili olan serbest radikal hidroksil radikalidir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlan serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitleri 'nin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri döntüşsüzdür.

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbutirik asitle ölçülebilen malonil dialdehit (MDA) meydana gelir. Bu metot lipit peroksit seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipit peroksidasyonun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt membran yapısına ve indirekt reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir.

Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (10,15,20).

b-Proteinler: Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Glutasyon redüktaz ve gliseraldehid 3-P dehidrogenaz gibi enzimler inhibe edilirler (21).

c-Nükleik Asitler ve DNA: İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon, hücre ölümü ve karsinogenezise yol açabilirler. Normal metabolizma sırasında, hiperoksia ve çevresel faktörler örneğin fotokimyasal hava kirliliği etkisiyle açığa çıkmış olan serbest radikallerin yol açtığı hücre ölümüne ve mutasyonlara DNA'nın katıldığı da ileri sürülmektedir (23).

d-Sitozolik Moleküller: Sitozol proteinleri değişime uğrayabilir. Örneğin bir hemoprotein olan Hemoglobinden süperoksid radikalının etkisiyle methemoglobin meydana gelir.

e-Karbonhidratlar: Glukoz, mannoz ve deoksiriboz şekerler gibi karbonhidratların otooksidasyonu ile H_2O_2 açığa çıkar. Diabet, kanser ve sigara içimi ile birlikte seyreden kronik hastalıkların patogenezinde monosakkaritlerin otooksidasyonu ile oluşan oksalaldehitlerin rol oynadığı düşünülmektedir.

F.2. Hücre Dışı Etkileri:

İnflamatuar hücre kaynaklı serbest radikallerin oluşturduğu hasardan en çok etkilenen ekstraselüler doku komponentlen kollajen ve hyalüronik asittir. Kollajen, O_2^- radikalının jelasyonu engellenmesi sonucu harab olur. Hyalüronik asit ise O_2^- tarafından depolimerize edilerek akışkanlığını ve kayganlığını kaybeder (21).

G- ANTIOKSİDANLAR

G.1. Genel Bilgiler:

Serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşın hücreler doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlamaya yeteneklidirler. Bu hücre koruyucu mekanizmalar oksijen radikallerini gidermek ve detoksifiye etmek üzere düzenlenmiş birkaç enzim sistemini içerirler. Başlıca doğal antioksidan etki çeşitleri şunlardır (8,10,13):

- 1- Reaktif oksijen türlerinin enzim reaksiyonları aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi,
- 2- Reaktif oksijen türlerinin oluşmasının baskılama yoluyla engellenmesi,
- 3- Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
- 4-Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi.

Tablo 2: Doğal savunma mekanizmaları ve işlevleri (8,14,23).

<u>SAVUNMA MEKANİZMASI</u>	<u>İŞLEV:</u>
Sitokrom oksidaz sistemi	Dört değerli O ₂ indirgenmesi
Süperoksit Dismutaz	O ₂ dismutasyonu
Katalaz ve glutatyon peroksidaz	H ₂ O ₂ · yi uzaklaştırır
Transferin, Askorbik asit, Sistein Serüloplazmin	Hidrofilik bölgelerde serbest radikalleri süpürür
Vitamin E ve bir çok yağ asidi	Hidrofobik bölgelerde serbest radikalleri süpürür

Doğadaki antioksidanların topluca listesini tablo 3'de görüyorsunuz.

Tablo 3: Antioksidan sistemin başlıca elemanları:

1.ENZİMLER
Süperoksit dismutaz (SOD)
Katalaz
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
Glutasyon redüktaz (GSH-R)
Glutasyon transferaz (GST)
2.SUDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULARI
Glutasyon
Vitamin C
Ürik asit
Glukoz
Sistein
3.YAĞDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULARI
Vitamin E
B- karoten
Bilirubin
Ubikinol
Flavanooidler
4.METAL İYONLARINI BAĞLAYAN PROTEİNLER
Ferritin
Transferrin
Haptoglobin
Hemopeksin
Seruloplazmin
Albümin
5.DİĞER ANTIOKSİDANLAR

G.2. Diğer Antioksidanlar:

Yukarıda sözü edilen antioksidanların dışında, çok sayıda endojen ve ekzojen molekülün antioksidan etkisi olduğu ileri sürülmüştür (Tablo 4). (1,10).

Tablo 4 : Antioksidan etkili endojen ve ekzojen moleküller

<p>1- Endojen moleküller:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sistein, histidin gibi amino asitler ▪ Safra asitleri ▪ Sitokinler
<p>2- Ekzojen moleküller</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi radikal kaynağı enzimlerin inhbitörleri, ▪ Lokal anestezikler, ▪ Kalsiyum kanal blokerleri: Verapamil, Nifedipin, Nitrendipin, ▪ Steroid yapıda olmayan antiinflamatuvarlar: İbuprofen, ▪ Rekombinant antioksidan enzimler (r-SOD), ▪ GSH_Px aktivitesini arttıran veya benzer etki gösteren moleküller: Asetil, Ebselen. ▪ Serbest radikal toplayıcıları: DMSO, Mannitol. ▪ Demir tutucuları: Deferroksamin, EDTA. ▪ Besinlere eklenen koruyucular: BHA, BHT, Sodyum Benzoat, Propil gallat. ▪ Nötrofil inhibitörleri: Siklosporin A, FK 506, İbuprofen, Steroidler. ▪ Nötrofile karşı monoklonal antikor: RP3 ▪ Endotel reseptörlerine (ICAM-1, ICAM-2) karşı monoklonal antikor.

Doğadaki antioksidanları çeşitli kriterlere göre gruplandırmak olasıdır:

1- Yapılarına göre

a- Enzimler (Sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon transferaz)

b- Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller (askorbik asit, glutatyon, E vitamini, keratonoidler ve retinoidler, ubikinonlar, flavanoidlar, melatonin, ürik asit ve albümin)

2- Kaynaklarına göre

a- Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar: SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz, bilirubin, ürik asit, sistein, histidin, albümin, safra asitleri, sitokinler)

b- Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar: alfa-tokoferol, beta-karoten, askorbik asit, enzim inhibitörleri, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, DMSO, mannitol, deferoksamin, sodyum benzoat, propil galat gibi besin koruyucuları, Siklosporin A ve FK 506 gibi nötrofil inhibitörleri, antinötrofil antikolar, endotel reseptörlerine karşı monoklonal antikolar)

3-Çözünürlüklerine göre

a- Suda çözünenler

b- Lipidlerde çözünenler

4- Yerleşimlerine göre

a- Hücre içinde bulunanlar

b- Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar.

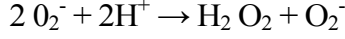
G.3. Doğal Endojen antioksidanlar:

İnsanda da doğal olarak bulunan antioksidanlar vardır. Bunlar,

- 1- Süperoksit dismutaz
- 2- Katalaz
- 3- Glutatyon peroksidaz
- 4- Bilirubin
- 5- Ürik asittir.

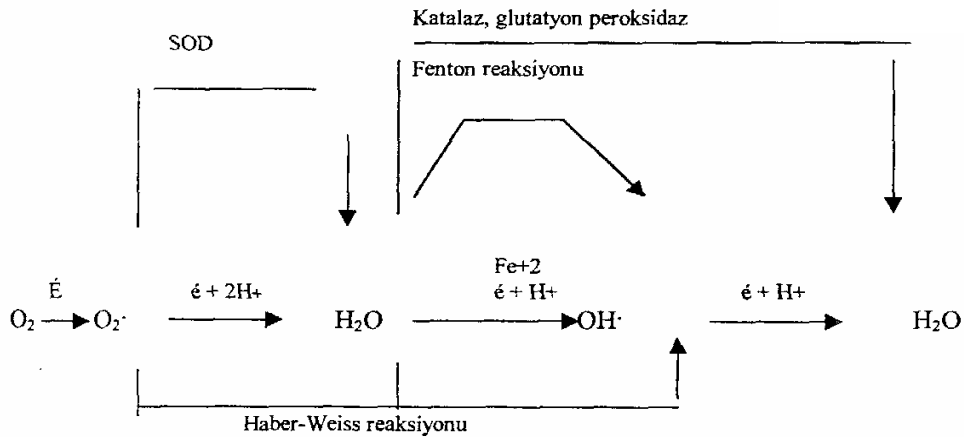
1- Süperoksit dismutaz:

Bir metalloprotein olan süperoksit dismutaz, dismutasyon olarak bilinen reaksiyonu katalize eder;



Hücrelerdeki süperoksit dismutaz miktarı normal koşullarda oluşan O_2^- üretimini karşılayacak kadardır. Yüksek oksijen konsantrasyonlarında süperoksit dismutaz sentezi artmakla birlikte detoksifikasyonda yetersiz kalmakta, ayrıca ekstrasellüler ortamda bu enzim bulunmamaktadır. Dismutasyon ile oluşan H_2O_2 ise katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından O_2 ve H_2O 'ya indirgenmektedir (2,24).

Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir (Şekil 2). SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. SOD enziminin aerobik hücrelerin tümünde bulunup anaerob hücrelerin çoğunda bulunmadığı bilinmektedir. Fridovich ve arkadaşları SOD enziminin aerobik hücrelerin yaşamı için gerekli olduğunu göstermişlerdir (25).



Şekil 2: Antioksidan enzim sistemi (8,25)

Organizmada oksidan stresin arttığı klinik durumlarda SOD enzimi aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini devam ettirir. Özellikle antioksidan etkili diğer enzimlerin aktivitelerinde azalmanın sözkonusu olduğu klinik durumlarda SOD enziminin aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (26).

2- Katalaz

Katalaz, tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan bir hem-enzimdir. %20 oranında sitoplazmada ve %80 oranında peroksizomlarda lokalizedir. H₂O₂ ile reaksiyona girer (26).

3- Glutatyon Peroksidaz

Normal koşullarda hücrede bulunan H₂O₂'in detoksifikasyonundan esas olarak glutatyon peroksidaz sorumludur. GSH- Px lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini önleyici özellikte bir enzimdir (26).

Süperoksit radikalının detoksifikasyonu için enzim sistemleri bulunmasına karşın OH⁻ için benzer sistemler yoktur. Hidroksil radikali düzeyi, ancak H₂O₂ ve O₂⁻ düzeylerinin kontrolü yardımıyla denetlenebilir. Süperoksit dismutaz etkili bir biçimde O₂⁻ detoksifikasyonu yapmasına karşın sonuçta H₂O₂ oluştuğundan serbest radikaller tam olarak giderilmiş sayılmaz. Çünkü O₂⁻ ve H₂O₂ demir katalizörlüğünde reaksiyona girerek OH⁻ oluştururlar ve bu bilinen en toksik serbest oksijen radikalidir. Hidroksil radikali, suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz bırakılmasıya da oluşur ve canlı dokularda iyonizan radyasyonun yaptığı hasarın büyük kısmından sorumludur (2).

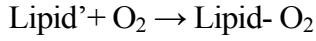
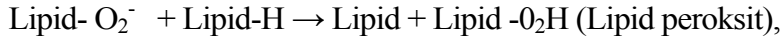
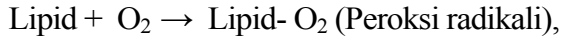
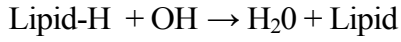
4- Bilirubin

5- Ürik asit

H- LİPİD PEROKSİDASYONU

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (8).

Hidroksil radikali DNA, protein ve karbohidratlar dahil olmak üzere her canlı molekülü ile reaksiyona girerek hasar yapar, membran lipidlerinden H⁺ çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatır;



Hidroksil radikalinin başlattığı peroksidasyon, zincirleme bir reaksiyondur ve lipid zinciri bitene ya da reaksiyon bir antioksidan tarafından durdurulana kadar devam eder (8).

Lipid peroksidasyonu, lipid hiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden sonuncusu olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Lipid hiperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de son yıllarda lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (8).

Klinikte fizyopatogenezinde lipid peroksidasyonunun etkili olduğu durumlar olarak şunları sayabiliriz:

1- Yaşlanma,

- 2- Ateroskleroz,
- 3- Kanser,
- 4- Radyasyon hasarı
- 5- İskemi-reperfüzyon hasarı,
- 6- İnflamasyon (yara iyileşmesi / yaralanma),
- 7- Romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklar,
- 8- Diabetes mellitus,
- 9- Akciğer hastalıkları (sigara, amfizem, oksijen toksisitesi, asbestoz, bronkopulmoner displazi),
- 10- Beyin bozuklukları (hiperbarik oksijen, alüminyum toksisitesi, nörotoksinler, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastağı),
- 11 -Böbrek bozuklukları (otoimmün nefroz, aminoglikozid nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi),
- 12- Kardiak myopati (Keshan hastalığı),
- 13- Kas hastalıkları (kas distrofisi, multipl skleroz, egzersiz),
- 14- Göz bozuklukları (maküler dejenerasyon, katarakt)
- 15- Cilt bozuklukları (solar radyasyon, kontakt dermatit)
- 16- Karaciğer bozuklukları (endotoksin, alkol, halojenli hidrokarbonlar, asetaminofen, demir)
- 17- Kan hastalıkları (fenil hidrazin, primaquin, sülfonamid gibi kimyasal bileşikler, protoporfirin fotooksidasyonu, malarya, orak hücre anemisi, favizm),

18- Gastrointestinal bozukluklar (ülseratif kolit, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlara bağlı hasar),

19- Beslenme yetersizlikleri (Kwashiorkor, vitamin E eksikliği)

20- Yanık (sistemik hasar ve lokal ilerleyici hasar),

21- Şok.

I- İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI'NIN PATOFİZYOLOJİSİ:

Arteriyel oklüzyonu takiben ekstremitenin revaskülarizasyonu ile hastaların çoğunda metabolik bulgularda geçici veya uzamış değişiklikler oluşur (27).Metabolik asidoz her zaman, ancak çeşitli derecelerde görülür ve asit metabolitlerin birikimi ile ilgili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Dokunun hipoksik kalması veya tam bir anoksi, krebs siklusu ile gerçekleştirilen aerobik solunumda belirgin bir azalmaya sebep olacaktır. Krebs siklusunda bu azalma anaerobik solunumu arttıracak böylece devreye Embden-Meyerhoff yolu girecektir. Bu da kanda ve dokuda oldukça yüksek laktik ve pirüvik asitin oluşmasına neden olacaktır. Başlangıçta laktat ve pirüvat değerleri eşit derecede yükselirken bir süre sonra laktat düzeyinde pirüvat düzeyine göre belirgin bir artış görülür bu da laktat/pirüvat oranında artışa sebep olur (28).

Kan pH ve CO₂ düzeyi belirgin bir şekilde düşer. Bikarbonat düzeylerinde düşme gözlenirken katyon ve anyonlarda artış dikkat çeker. İskemik kalan ekstremitenin revaskülarizasyonundan önce ilgili ekstremitenin pH ve venöz dönüşü metabolik asidozun şiddetine göre değişir. Eğer başlangıç pH 7.2'den düşük ise prognoz oldukça kötüdür. Tedavide revaskülarizasyon sonrası hidrojen iyonunun nötralizasyonu için yeterli tampon bileşiklerin verilmesi gerekir (27,29).

İskemik ekstremitedeki venöz pO₂ konsantrasyonu sistemik venöz kandakinden

daha düşük, venöz pCO₂ düzeyi ise sistemik kandakine göre anlamlı olarak daha yüksektir. Arteriyel dolaşımın restorasyonundan sonra venöz pO₂ ve pCO₂ düzeyleri iskeminin şiddetine ve süresine bağımlı olarak çeşitli sürelerde normal düzeylere ulaşır (30).

Olguların çoğunda serum sodyum düzeyleri normal sınırlardadır. Potasyum düzeyi ise başlangıçta iskemik bacadan gelen venöz kanda ve serumda aynı ve normal düzeylerde bulunurken revaskülarizasyon sonrası artış gözlenir. Hafif olgularda, örneğin iskemik süre 6 saatten az olanlarda, potasyum düzeyini normale getirmek kolay iken uzun süreli iskemik kalan olgularda bu hiç de kolay değildir. Şiddetli olgularda potasyum düzeyi kalp kasının kasılmasını etkileyecek kadar şiddetlidir. Uzun süre iskemik kalan dokunun revaskülarizasyonu ile artmış potasyum düzeyi kaslarda sitolize sebep olacak ve ani deklampajla ekstrasellüler ortamda aşırı potasyum artışı sonucu kardiyak arreste yol açabilecektir (31).

Enzimatik Değişiklikler: Serum kreatinin fosfokinaz düzeyi (CPK) revaskülarizasyondan önce sistemik kanda hafifçe artarken iskemik bacadaki venöz kanda oldukça yüksek olduğu gözlenir. Arteriyel klempin kaldırılması ile oluşan revaskülarizasyonla CPK düzeylerinde artış görülür. Bu enzimin artışı çizgili kaslardaki hasarın kesin kanıtıdır (32,33). Bu enzimin yüksek düzeylerde olması kas nekrozunu gösterir. Böyle olgularda cildin korunmuş veya intakt görünüşü altındaki kasın nekroza uğramadığını göstermemektedir ve çoğu zaman yanıltıcıdır. Hafif olgularda serum CPK düzeyleri birkaç saat veya bir iki gün içinde düşer. Deneysel çalışmalarda CPK'nın diğer metabolitlere, örneğin myoglobuline göre daha yavaş yükseldiği gösterilmiştir. Orta derecede şiddetli bir iskemi-reperfüzyon sendromunda CPK düzeyi 1000-2000 Ünite düzeyine ulaşır ve 10-12 gün içerisinde normal düzeyine düşer. Şiddetli ve fatal olgularda CPK progressif olarak yükselir ve 20 000 düzeyine ulaşır (34,35).

Laktat Dehidrogenaz (LDH) ve serum glutamik-oxaloasetik transaminaz (SGOT) düzeylerinin iskemi-reperfüzyon sendromunda oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Serum glutamik-pirüvik transaminaz (SGPT) SGOT kadar yükselmese de

yine de normalin üzerindedir. Her ikisi de iskeminin düzeyine göre artış gösterir. Şiddetli kas yıkımı olan iskemi-reperfüzyon sendromunda transaminazların kalıcı yüksekliği dokularda geri dönüşümsüz değişikliklerin olduğunu gösterir.

Aslında LDH ve CPK'nın yüksekliğini yalnızca iskemi-reperfüzyondan değil myokard infarktüsü gibi daha geniş spektrumda birçok hastalıkta da olabileceği gözönünde bulundurulmalıdır. Myokard infarktüsünde LDH ve CPK yüksekliğinin gösterilmesi iskemi-reperfüzyon sendromunda gösterilmesinden çok daha öncedir. Şiddetli tıkaçıcı arter hastalığı olan hastalarda myokardial hasarın olabileceği de düşünülmeli ve ileri tetkikler yapılmalıdır. Bu nedenle LDH ve CPK'nın alt grupları önem taşır. LDH'nın iki alt grubu LDH1 ve LDH2 myokardial infarktüste artarken, LDH4 ve LDH5 çizgili kas yıkımında arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda CPK'nın da ikinci fraksiyonu veya MB fraksiyonu olarak tanımlanan alt grubu myokard infarktüsünde artarken MM fraksiyonu çizgili kas yıkımında artar. Enzim düzeylerinin kanda azalmasının görülmesi kas yıkımının gerilediğini gösterir. Enzim düzeylerinin düzenli olarak izlenmesi hastalığın seyri hakkında klinisyene fikir verir (36).

İskemi-reperfüzyon hasarında oluşan metabolik bozuklukların temelini, dokuya ulaşan oksijenin azalması ve sonucunda dokuda anaerobik metabolizmanın öne geçmesi oluşturur. Hücredeki ATP deposu olayın başlangıcından itibaren 3 saat içinde tükeneceği ve bunun sonucunda da kreatinin fosfat'ın kreatin ve inorganik fosfata dönüşeceği bildirilmiştir (36). Daha fazla uzamış bir iskemi ile ATP düzeyinde progressif bir düşme, glikojenin laktata metabolize olması ve ATP yıkımının yapımından fazla olması görülecektir.

Mikrovasküler yapılar iskemide oluşan hasarın ilk belirlendiği yerdir. Henüz iskeminin ilk 30 dakikasında membran permeabilitesinde artış ve hücrede progressif ödem gösterilmiştir (37,38). İskelet kasında geri dönüşümsüz hasar 4-6 saat içinde görülür. Akut arteryel tıkanıklık sonrası oluşan hasarlar yalnızca iskemik fazda değil reperfüzyon fazında serbest radikallerle de oluşacaktır (39,40). Serbest radikallerin oluşumu ve etkileri yukarıda

ayrıntılıyla anlatılmıştır.

İskelet kasının iskemi-reperfüzyon hasarının oluşumunun mikrovasküler patofizyolojisi endotel, lökositler ve bunların mikrovasküler düzeyde birbirleriyle ilişkileri ile ilgilidir. Bunların patofizyolojisinin ayınlatılması iskemi-reperfüzyon sendromunun tedavisinde çığır açmıştır (41).

I.1. Endotelin Rolü:

Endotelin vasküler homeostazisin sağlanmasında önemli rolleri vardır. Bunlar;
(41)

- 1- Mikrovasküler permeabilitenin sağlanması,
- 2- Damar kontraktilesi,
- 3- Anjiogenezis,
- 4- Koagülasyon,
- 5- Lökosit trafiği,
- 6- İmmünite.

Bu endotelyal fonksiyonlar eksojen ve endojen bazı faktörler tarafından regüle edilir. Kan akımı regülasyonu büyük oranda intakt bir endotelyal yapının varlığıyla sağlanır. Endotelyal hücrelerin NO ürettiği ve bunun da endotelial-derived relaxing factor (EDRF) ile aynı olduğu gösterilmiştir (42). NO veya EDRF siklik guanilat siklazı stimüle ederek vasküler düz kaslarda relaksasyona, dolayısıyla vazodilatasyona yol açar (43). Endotelyal hücreler endotelin denen güçlü bir vazokonstriktör maddeyi da üretirler. Endotelyal hasar bu vazoaktif maddelerin salınımının azalmasına sebep olacaktır.

Mikrovasküler permeabilite birçok kimyasal mediatorler tarafından kontrol edilir. İskemi-reperfüzyon hasarında bu mediatorler aktive olur. Bu maddelerin başında Platelet Agregating Factor (PAF), bradikinin ve histamin gelir. Bunlar intraselüler kalsiyumun hem hücre içine hem de dışına olmak üzere iki yönlü mobilizasyonuna sebep

olurlar. Endotelial sitozolik kalsiyum miktarında bu anormal artışla NO ve endotelin gibi güçlü vazoaaktif ajanlar salgılanır. Endotelial yüzey normal kan akımının sağlanması için pürüzsüz ve böylece nonkoagülandır. Bu durum antitrombin III'ün oluşumunun katalizasyonu ve yüzeysel trombomodülin'in varlığı ile sağlanır (44,45). Endotelial hücrelerin koagülasyondaki rolü prostasiklinin üretilmesi ile sağlanır, prostasiklin tromboxan A2'nin aktivitesini antagonize ederek trombosit agregasyonunu inhibe eder.

Endotelial hücrelerin immün yanıtındaki rolü yine sitokinleri aracılığı ile oluşur. Interleukin-1(IL-1), tümör nekrozis faktör (TNF) ve interferonlar endotelial hücrelerin yüzeyinde immün yanıtı modüle ederler. Pober ve Cotran, sitokinler ve endotelial hücre biyolojisi arasındaki ilgiyi araştırmışlar ve lökosit bağımlı adezyonla, endotel bağımlı adezyonun immün yanıtta temel rolü olduklarını göstermişlerdir (42). Thrombin, lökotrien B4, lökotrien C4 beş dakika gibi kısa bir sürede endotelial hücrelerin adezivitesini artırır.

I.2. Nötrofillerin Rolü:

İskemi-reperfüzyon sonrası endotel düzeyindeki patolojik değişiklikler membran permeabilitesinde artışa sebep olacak bu da nötrofil infiltrasyonuna yol açacaktır. Nötrofil infiltrasyonu iskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Nötrofiller yapılarında bulunan nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazın aktive olmasıyla NADPH NADP⁺'ye , H⁺'ne ve 2O₂'e dönüşerek süperoksit anyonları üretir.

Rees ve arkadaşları ksantin oksidaz aktivitesindeki hızlı artışın, nötrofil kemotaktik aktivitesini arttıran serbest radikal oluşumunu sağlayabileceğini ve hücre zarı hasarını başlatabileceğini savunmuşlardır (10). Nötrofil post iskemik dokularda serbest oksijen radikali doğuran potansiyel bir kaynaktır (46).

Postiskemik iskelet kası hasarında granülositlerin varlığının kanıtı artmış myeloperoksidaz aktivitesidir. Myeloperoksidaz nötrofiller tarafından üretilen H₂O₂'den

dönüştürülen ve süperoksidden daha toksik olan hipoklorik asiti nötralize eder. Myeloperoksidaz iskemi sırasında orta derecede artarken reperfüzyonun 15-60. dakikalarında anormal bir artış gösterir (47).

İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde lökositlerin rolü yapılan birçok deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Lökosit filtreleri (48), çeşitli hayvan modellerinde farmakolojik ajanlar (49), radyasyon (50) ve monoklonal antikorlar (51,52) bu deneysel çalışmalarda kullanılan yöntemlerin birkaçıdır. Bütün araştırmacılar uyguladıkları modellerde beyaz hücre oranlarında azalmanın iskemi reperfüzyon hasarının azalması ile paralel olduğunu göstermişlerdir. Ancak sebep-sonuç ilişkisi halen araştırılmaktadır. Lökosit miktarında azalmanın lökosit filtreleri gibi yöntemlerle sağlanması sonucu lipid peroksidasyonunda ve kas nekrozunda azalma tesbit edilmiştir (52).

I.3. Endotel hücreleri ve lökositler arasındaki ilişki:

İske-mi-reperfüzyon patofizyolojisinde endotel hücreleri ve lökositler arasındaki ilişki bir dizi olayı içerir (41).

- 1- Parenkîm hücrelerinde enerji depoları boşalır,
- 2- Makrofajlar veya mast hücreleri IL-1 gibi sitokinleri salgılar,
- 3- İskemi sırasında endotelde ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür ve serbest oksijen radikalleri oluşur.
- 4- Endotelden PAF salınımı olur. PAFın stimülasyonu ile CD11/CD18 kompleksinin endotelyal ICAM-1 ile etkileşmesi sonucu da adhezyon oluşur.
- 5- Adhezyon yapan lökositlerde serbest oksijen radikalleri oluşur,
- 6- Lökositlerde myeloperoksidaz aracılığı ile hipoklorik asit oluşur,
- 7- Endotelden salınan P-selektin ve lökositlerden salınan L-selektin'in

birbirleriyle ilişkileri sonucu "Rolling" de denen bir tür adhezyon oluşur.

Hücrel enerji depolarında azalma ve serbest oksijen radikallerinin ortama salınması ile lökositler hasarlı bölgeye doğru göç ederler. Bu da başka kemoatraktan moleküllerin endotelden salınımına neden olur. En belirgin örnekleri PAF ve lokotrien B₄'dür. Serbest oksijen radikalleri endotelial yüzeyde adhesiviteyi değiştirir ve endotelden intersellüler adhezyon molekülleri (ICAM) salgılanır. ICAM'lar endotel yüzeyinde, inflamasyon olan bölgelerde nötrofil adezyonunu sağlar. CD11/CD18 kompleksi, ya da diğer ismi ile "B-2 integrin" lökosit ve endotel arasındaki adhezyonu düzenler.

İskemi-reperfüzyon sendromunda görülen rolling şeklindeki endotel-lökosit adhezyonu intravital mikroskopiyle görülebilir. Bu tür adhezyon göreceli olarak yüksek çevresel basınç oranında oluşan reolojik bir süreçtir. Lökositler venüllerin duvarları boyunca lokal kan akımına göre 100 kat daha yavaş olarak hareket ederler. Rolling mekanizmasında L-selectin'in rolü gösterilmiştir (53).

Endotelde in-vitro çalışmalar P-selectin'in venüler çevresel basıncın değişimiyle rolling mekanizmasını düzenlediğini göstermiştir (45). P-selectin'in endotelial membrana translokasyonu histamin, trombin gibi kimyasal mediatörler aracılığıyla sağlanır. Güçlü adhezyon için integrinler, ICAM-1 ve E-selectin gibi mediatörlerin varlığı gereklidir. E-selectin'in lökosit migrasyonu için gerekli olmadığını gösteren çalışmalar vardır (53,54).

İskemi-reperfüzyon hasarının şiddeti lökosit infiltrasyonunda hücre sayısı ile doğru orantılıdır (55,56). Normalde venül duvarında her 100 mikronm'de yalnızca 2-4 lökosit vardır. İskemi-reperfüzyonda bu oran 100 kat artabilir. Monoklonal antikor 60.3 CD18'deki B-zincirini etkiler ve böylece intestinal mukozada nötrofil yapışmasını ve proteinlerin ekstravazasyonunu önler. Bir başka monoklonal antikor olan IB4, direkt olarak CD11/CD18'i etkileyerek barsak venüler endotelialyumundaki PAF aracılı adhezyonu engeller (57). Köpeklerde yapılan alt ekstremite iskemi-reperfüzyon

modelinde TB4'ün uygulaması ile nötrofil infiltrasyonunun engellendiği gösterilmiştir (58).

PAFın iskemi-reperfüzyondaki rolü son yıllarda aydınlatılmaya çalışılmıştır (51,59). Köpeklerde alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon modelinde reperfüzyon sonrası ilk 5 dakikada PAF konsantrasyonunun dramatik olarak arttığı ve nötrofil infiltrasyonunu arttırarak postiskemik venüllerde adhezyona sebep oldukları görülmüştür (60). PAF reseptör antagonistlerinin lökosit adhezyonunu engellediği gösterilmiştir. Kısa ömürlü bir fosfolipid olan PAF vasokonstriktör etkisiyle mikrovasküler permeabilite artışını önlerken aynı zamanda lökositler için de bir kemoatraktandır.

Phan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada endotelial hücrelerin ksantin oksidazı ürettiği ve aktive nötrofillerle ksantin oksidaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (41).

İ- İSKEMİ MODELLERİ

Total iskemiye dokuların dayanma süreleri araştırılırken fizyopatoloji daha iyi anlaşıldıkça çeşitli hayvan türlerinde klinikte rastlanılan durumlara uygun modeller geliştirilmiştir. İskeminin hangi komponentinin daha çok hasar oluşturduğu üzerine yapılan çalışmalar, venöz çıkıştaki azalmanın daha kısa sürede daha büyük hasar yaptığı ortak sonucunu getirmiştir.

Deneysel modeller içinde sıçan kremaster kasının hazırlanıp mikrodolaşımın mikroskopla doğrudan izlenmesi ve video kaydının yapılması olayın dinamik açıdan izlenmesini olanaklı kılar. Mikrodolaşımdaki dinamik değişimler ve histopatolojisi iskemi süresince arterlerin vazokonstrüksiyonu, endotel ve lökosit şişmesi ve eritrositlerde rulo formasyonunu içerir. İskemi süresi uzarken bu değişimlerin derecesi de artar. Reperfüzyondaki değişimler kan akımı yapısının bozulması, girdap formasyonu, bölgesel staz, lökositlerin adhezyon ve migrasyonu, fokal hemoraji, ödem, vazospazm ve trombosit kümelenmesidir (61).

İskemi modelleri; (61)

1- Total arteryel: Arteryel kan akımının tam olarak durması,

2- Total Venöz: Ven akımının dışarıdan (bası, bükülme, v.s.) veya içeriden (tromboemboli) kaynaklanan bir nedenle kesilmesidir. Arteryel iskemiden daha hızlı hasar oluşturduğu genel kabul görmüştür.

3- Total global; Dokuya gelen kan akımının tam kesilmesini ifade eder.

4- Kısmi arteryel: Arteryel kan akımının azlığı genelde planlama hatası nedeniyle anjiozomun besleyebileceği alanın dışında kalınması ile ilgilidir.

5- Kısmi venöz: Ven duvarının arter duvarına göre son derece ince ve zayıf olması dışarıdan olacak bası ve bükülmelerden daha fazla kolay etkilenme sebebidir.

J- İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI

İskemi ve reperfüzyon kliniklerde sık karşılaşılan bir durumdur. İskemi ile dokularda kan akımının engellenmesiyle hücresel bozukluğa yol açan bir dizi olay baslar. İskemiye farklı dokular değişik sürelerde dayanabilirler (62,63). Hücresel yaşam ve sağlıklı hücre işlevleri, mitokondrilere gerekli substratlar ve oksijen sağlanması ile olmaktadır. Yüksek fosfat bağlarını temin eden aerobik metabolizma, normal hücre fonksiyonu için gereklidir. Oksijen yokluğunda oksidalif fosforilasyon kaybolur, ATP yapımı düşer (64). Anaerobik metabolizma ile laktik asid yapımı artar ve laktik asidoz gelişir. Asidoz normal enzim kinetiğini bozar, daha düşük enerjili bağlar yapılır ve hücre normal hemostazisi korumak için ihtiyacı olan enerjiden kaybeder. İskemik dokulardan reperfüzyon ile toksik metabolitler uzaklaştırılır. Ancak toksik metabolitlerin sistemik dolaşıma geçmesi metabolik asidoz gibi ciddi metabolik bir dizi olaya neden olabilir (64,65).

K- AKUT AKCİĞER HASARI

Travmalardan sonra meydana gelen akut akciğer hasarı hastalarda morbidite ve

mortaliteyi ciddi bir şekilde arttırmaktadır. İskemi-reperfüzyon döngüsü travma hastalarında inflamatuvar uyarıya karşı abartılmış bir cevabın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Aktive olmuş hücrelerin sekestrasyonları değişik organlarda doku hasarına ve organ disfonksiyonuna yol açmaktadır.

Diffüz alveoler hasar, endotel hücrelerinde veya alveoler epitelin herhangi bir şekilde ve orandaki hasarıyla ortaya çıkan non-spesifik patolojik değişimlerle sonuçlanan bir akciğer (AC) hastalığıdır. Diffüz alveoler hasar sonrasında, AC'deki yapılanma rejenerasyon ve destek dokuyla yer değiştirme şeklinde iki aşama içermektedir. En sık görülen rejenerasyon tipi hasar sonrası stabil epitel hücre popülasyonunun çoğalıp, bazal membran ve stromasının sağlam olduğu tiptir. Bu döngüde oluşan hasarda iz kalmaksızın iyileşme beklenebilir (66).

Diffüz alveoler hasarın en ileri formu, Erişkin Sıkıntılı Solunum Sendromu (ARDS) diye bilinen katastrofik olayla sonuçlanan bir durumdur. Gaz değişimde daha ağır bir bozulma vardır. Akut AC hasarı obliteran bronşiolit ve interstisyel pnömoni içerir. Akut interstisyel pnömoni, başlangıçtaki yıkım olayı olmaksızın bir solunum yetmezliğidir. Diffüz alveoler hasarda görülen histolojik proliferatif faz akut interstisyel pnömonide de görülmektedir (66,67).

ARDS' de AC'lerde diffüz alveolar hasara rastlansa da pnömoni oluşturan obliteran bronşiolit bir ARDS komponenti olarak karsımıza çıkabilir.

Akut akciğer hasarı iskemi-reperfüzyon tablosundan başka durumlarda da görülebilmektedir. Bunlar arasında klorin, perkloroetilen ve civa buharı inhalasyonu, paraguayat ve kerosen alımı, yağ embolisi, duman ve yanık hasarı sayılabilir. Diffüz alveoler hasara götüren genel inflamatuvar mekanizmanın komponentleri şöyle sıralanabilir :

1. Sorumlu ajan (endotoksin, aspirasyon)
2. İnflamatuvar döngünün aktivasyonu (sitokin salınımı, koagülasyon, brinolizis)
3. Nötrofil illerin AC'de sekestrasyonu (hücre yüzey adhezyon moleküllerinin upregülasyonu)
4. Nötrofilik sitotoksik ürünlerin salınımı (proteaz, oksijen metabolitleri)
5. Alveoler duvar hasarı (endotelyal ve epitelyal hasar) (68).

Akut akciğer hasarı gelişen hastalarda birbirini takip eden hasar ve onarım üç fazda gelişir;

1. Akut eksüdatif faz
2. Proliferatif faz
3. Kronik fibrotik faz

Gross olarak diffüz alveoler hasarda AC'ler koyu ve ağırdır; havasız AC'ler torasik kaviteyi doldurmuştur. AC'ler genelde 2000 gr veya daha ağır olup, diffüz alveoler hasarın başlangıcında ise açık renkli, yumuşak, kesildiğinde sıvı sızdırmaktadır. Alt loblar üst loblardan daha sık tutulmaktadır. Zamanla AC'ler grileşir, küçük kistik hava boşlukları yanı sıra konsolidasyon gelişir. AC lezyonları çözülmezse kistik alanlar genişler, geniş fibroz bandlar gelişir (69). Bronkopnömoninin superpoze lezyonları, abseler ve hava sızıntısı eklenebilir (70).

Mikroskopik olarak eksüdatif fazda, vasküler konjesyon, interstisyel ve alveolar ödem, epitelyal kayıp, hyalin membran formasyonu ve mikroatelektaziler oluşur.

Eksüdatif fazın erken döneminde dejenerasyon veya nekroz hem alveoler hücrenin çeperinde hem de endotelinde rastlanabilmektedir. Kapillerdeki kırmızı kan hücrelerinin konjesyonu, lökosit ve plateletlerin kapillerdeki birikimi olabilmektedir. Işık mikroskopuyla az miktarda endotelyal hasar normal sayılmakta fakat hasarlı endotel sızıntısı, proteinden zengin eksüdat interstisyel alana geçmektedir (71,72).

Alveolar epitel sıkı bileşkelere sahip olsa da hasar durumunda, proteinden zengin sıvı, inflamatuvar hücreler, ekstrasvaze eritrositler, serum proteinleri, fibrinojen alveoler sahaya dolmaktadır. Proteinden zengin ödem diffüz alveoler hasarda artmış permeabilite defektlerinden kaynaklanmaktadır (73).

Yüksek protein permeabilite hasarı, pulmoner sürfaktan sistemini de etkilemektedir (74,75). Plazma proteinlerinin varlığında alveoler sürfaktan inaktive olmakta, ultrastrüktürel olarak sürfaktan kalıntıları proteinöz materyal olarak saptanabilmektedir. Bu sürfaktan anormalliği veya kaybı alveoler duktus ve respiratuvar bronşiollerde mikroatelektaziyle sonuçlanmaktadır. Işık mikroskopunda ektazik alveoler duktus ve respiratuvar bronşioller hyalin membranlarla sınırlanmış olarak görülür. Alveoler duvarlar çok kalınlaşmış ama sadece atelektazik durumdadır (76).

Proliferatif faz; tip II epitel hücrelerin hiperplazisi, intertisyel mononükleer inflamatuvar infiltrasyon, hyalin membran organizasyonu ve fibroproliferasyon , proteinöz eksüdasyonla karakterdedir. Tip II epitel hücreleri epitelyal rejenerasyondan sorumludur (77,78). Ayrıca interstisyumdaki onarıcı hücreler ve destek doku (fibroproliferasyonu) gelişmektedir. Endotelyal ekstansiyonun endolel sınırındaki sızıntıların onarımı için olduğu düşünülmektedir (79).

Proliferatif fazın majör komponenti tip II hücrelerin hiperplazi ve hipertrofidir (80). Tip II hücreler, tip I hücrelerden daha dayanıklıdır. Tip II hücrelerin proliferasyonu hasarlı alveoler duvarları kaplar, 4-5 haftada yenilenirler. Hasar sonrasında bu oran dramatik olarak artar (81).

Akut AC hasarı sonrasındaki ilk gün içinde nötrofilik lökositler alveoler duvar ve boşluklara göç etmektedir (82). Fibroproliferasyon geniş sahayı tutan mononükleer göçtür. Matür granülasyon doku oluşumunda bu mononükleer lökositlerin ve sitokinlerinin önemli payı vardır. Platelet Büyüme Faktörü (PDGF), Fibroblast Büyüme

Faktörü (FGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGFs) ve interlökinler (IL), Transforme Edici Büyüme Faktörü-p (TGFp) ve Koloni Stimülasyon Faktörü (CSFs) kronik fibrozise giden matriks organizasyonundan sorumludur (83).

Alveoler eksüdatın intramural organizasyonu onarım prosedürünün temel noktasıdır(84). Matriks eksüdasyonu fibrinolyze uğramamakta, fibroblast, myofibroblast ve diğer hücrelerin hasarlı alveoler gaplardan matrikse sızıp proliferasyonu ile kapiller duvardan granülasyon dokusu gelişmektedir (80,85).

Hasarlı alveol duvarında sürfaktan kaybı nedeniyle kollaps ve geçirgenlik artışı gelişmektedir. Konjestif ateletazi küçük mikroateletazi alanlarıyla karakterizedir. Şok sonrasında görülebilen mikroateletazi, diffüz alveoler hasar patolojisinde de remodeling de önemli lezyonlardır; alveollerin fibrozise uğramasıyla distal hava yollarında yapışıklıkla sonuçlanabilmektedirler (80).Fibrotik fazda; onarım fazı geçildiğinde lezyon çözülsün bile onarım fazı devam eder. Geniş fibroz alanlar inflamasyonun devamı nedeniyle karşımıza çıkar.

ARDS de kronik inflamasyon sonucunda nazokomiyal pnömoni, sepsis ve Multipl organ disfonksiyonu'da (MOF) gelişebilmektedir (86). Tüm bu etkenler sonucunda; diffüz alveoler hasarda alveol içi fibroproliferasyon, anjiogenez, ekstrasellüler matrikste depozit gelişimi ve AC'lerde fonksiyon kaybı meydana gelir (87).

ARDS de temel patolojik bulgu AC'lerin fibrozisidir. Yüksek oksijen (O₂) tedavisine ek olarak Pozitif End-Expirator Basınç (PEEP) ve Devamlı Pozitif Havayolu Basıncı (CPAP) uygulanması rağmen yükseltilemeyen O₂ basıncı, yüksek hava yolu direnci, bilinen bir antitedir. ARDS de ölüm, düzeltilemeyen hipoksemiden çok MOF ve enfeksiyona bağlıdır (88). Sepsisin % 36-90 oranında ARDS'den ölüme neden olduğu saptanmıştır, ARDS'nin gelişiminde gram (+) ve gram (-) sepsis inflamasyon kaskadında önemli rol oynar. Bu inflamatuvar gelişimde sellüler immunité aktivasyonu ile sitokinler

aktive etmekte, alveoler sahalar beyaz küre ile dolmaktadır (68).

K.1. Akut Akciğer Hasarının Patofizyolojisi:

ARDS, orta derecede pulmoner fonksiyon bozukluğundan başlayarak progressif olarak ilerleyen ve katstrofik akut solunum yetmezliğiyle kendini gösteren, yüksek mortalitesi olan bir antidedir. Diffüz alveoler hasar, pulmoner mikrovasküler tromboz, inflamatuvar hücre agregasyonu ile giden immünolojik reaksiyonlar topluluğudur. ARDS tek bir hastalık değil, fizyolojik bir sendromdur ve tanısı fizyolojik kriterler üzerine kurulur. Bu gün için tanıda bazı temel komponentler söz konusudur. Bunlar; radyolojik olarak pulmoner ödemin ve bilateral infiltrasyonun saptanması, pulmoner ödemin etyolojisinde kalp yetmezliği kliniğinin olmaması, kabul edilebilir bir PaO₂'nin sürdürülebilmesi için yüksek konsantrasyonda oksijen enspirasyonu ve/veya PEEP gerektiren ciddi hipoksemi (dirençli hipoksemi) ve akciğer kompliansında azalmadır. Bu hastalar klasik pulmoner yetmezlikten hiperkarbikten çok hipokarbik olmaları ile ayrılırlar.

ARDS de en sık neden sepsisdir ve diğer risk faktörlerinden çok daha yüksek mortaliteye sahiptir. Sepsis diğer risk faktörlerine göre en az altı kat daha fazla ARDS' ye zemin hazırlamaktadır (89).

Akut AC hasarının ilk saatlerinde epitelyal bariyer hasara uğrar. Pulmoner endotel ve alveol epitelinin birlikte hasarıyla yüksek protein içerikli sıvıyla pulmoner ödem gelişmektedir. Na - K ATPaz enzimiyle alveol epitel hücrelerinin bazolateral yüzeyinden Na aktif olarak geçmekte, beraberindeki klor ve su ise pasif olarak geçmektedir. Pulmoner ve bronşiol arterlerdeki değişmeler bu mekanizmayı etkilememektedir. Alveol epitel-endotel membranının bariyer hasarına karşı çok daha dirençli olduğu görülmektedir. Ventilator desteği olan hastalarda görülen pulmoner ödem ise ekspirasyon sonu yüksek basınç değişimi ile tidal volüm kollapsına sekonder gelişen

alveoler doku hasarından kaynaklanmaktadır (90).

K.2. Akut Akciğer Hasarının Kliniği:

Akut akciğer hasarında, radyolojik değişiklikler daha erken dönemde gözlenmektedir. Alveolar infiltrasyonlar diffüz olarak görülür. Lezyonlar odak seklinde başlarsa bile genellikle her iki AC'i yaygın olarak kaplamaktadır. Yaygın pulmoner ödem radyolojik olarak görülebilirse de tomografi ile yama tarzındaki infiltrasyonlar gözlenebilir (91).

Sendrom ilerledikçe ve fibrozis diffüzeleştikçe radyolojik olarak nodüler görünüm hakim olur. PEEP AC sıvısını azaltmamakta fakat fonksiyonel rezidüel kapasiteyi arttırmaktadır. Kardiyotorasik oranın normal olması ARDS'yi kardiyojenik pulmoner ödemden ayırt etmeye yardımcı olmaktadır. ARDS'li hastalarda yaşayanların % 80'inde radyolojik olarak düzelleme saptanmaktadır.

ARDS'de ilk üç gün içindeki ölümden hastalık sorumlu tutulmakta daha geç meydana gelen ölümler ise sepsis ve MOF'a bağlanmaktadır, irreversibl solunum yetmezliği % 16 oranında görülmektedir. ARDS'yi atlatan hastaların büyük kısmında bir yıl sonra normale yakın AC fonksiyonu gelişmektedir (92,93).

Alveoler membran geçirgenliğinin artmasıyla sonuçlanan pulmoner ödem ARDS fizyolojisinin temelini oluşturmaktadır. Artmış intravasküler ve ekstrasellüler sıvının protein akımı azalması, pulmoner intertisyel ve alveoler ödem gelişimi hipoksemi ve sonuçta gaz değişiminin bozulmasıyla sonuçlanmaktadır (94,95).

Organ yetmezliği olan hastalarda O₂ yetmezliğinin diğer hastalardan çok daha yüksek oranda olduğu görülmüştür. Bu gelişmelere dayanarak ARDS'nin gelişiminde primer olayın doku hipoksisi olduğu düşünülmektedir.

Hemoraji, travma, cerrahi sonrasında periferik vazokonstriksiyon ve kapiller

kan akımının çok azalması sonucunda, lokal hipoksi ve asidoz gelişir. Bu hipoksik asidotik kapiller yatakların endotel yüzeyindeki T lenfositleri, makrofaj ve diğer kan hücreleri aktive olup, dolaşıma geçer. Bu aktive hücreler TNF, Tromboksan-A2 (TxA2), Prostoglandin (PG), kompleman sistemi, nöroendokrin peptid, adrenal medüller ve kortikosteroid hormonlar, PAF, ADH, renin anjiotensin, endorfin ve opioid gibi değişik immünokimyasal mediatörleri açığa çıkartırlar. Resüsitasyon ile beraber bu maddeler mikrosirkülasyondan venöz sirkülasyona oradan da AC kapillerine geçmekte ve ARDS gelişimindeki rolleri başlamaktadır.

Pulmoner kapillerler ince geçirgen bir membrandan aerobik metabolizmayı sağlamak ve hidrojen iyon konsantrasyon homeostazı idame ettirmek için O₂-CO₂ değişimi yaparlar. Birçok farklı fizyolojik olaya bağlı olduğundan doku oksijenasyonu ve CO₂ eliminasyonu bu sistem bozulduğunda aksar. Bu da karşımıza oksijen yetmezliği veya ventilasyon yetmezliği şeklinde çıkabilir. Doku O₂ transportu sadece AC fonksiyonuna değil, arteryel O₂ basıncına, kardiyak outputa , Hemoglobin (Hb) miktarı ve Hb' nin O₂ taşıma kapasitesine de bağlıdır (96,97,98,99,100).

K.3. Akciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Endotel:

Akciğerlerde belirli bir süre kan akımının azalması veya kesilmesi sonucunda iskemik hasar oluşur. Tüm organların iskemiye olan dayanıklılıkları farklılık gösterir ve yapısal özellikleri de olaya katıldığında sonuç kendisini farklı olarak gösterir. Akciğerlerde 30 dakika gibi kısa bir süre iskemi oluşturulması ve daha sonra reperfüzyonun sağlanması iskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesi için yeterli olmaktadır (62,63,101).

İskemi-reperfüzyon sırasında meydana gelen hasarın derecesini belirleyen en önemli faktör esas olarak hasara uğrayan damar duvarını kaplayan endoteldir. Bununla birlikte akciğer parankimini oluşturan düz kas hücreleri ve pnömositler de iskemiden

etkilenirler. Reperfüzyon sırasında süperoksit radikali (O_2^-) ve diğer oksidatif maddeler hem iskemi hem de reperfüzyon sırasında fazla miktarlarda üretilir ve direkt olarak protein ve lipidlere saldırarak etkilerini gösterirler. Endotelin hasarı sonucu endotel hücrelerini birbirine yapıştıran bağlar hasar görür ve hücreler arasından ekstraselüler bölgeye kaçak olur. Endotelden prostasiklin salınımı bozulur ve reperfüzyon sırasında prostasiklin-tromboksan dengesi bozularak, trombosit agregasyonu artar. Mikrosirkülasyonda trombosit agregasyonları sebebiyle tıkanıklıklar oluşur ve doku içinde etkin kan dolaşımı sağlanamaz. Hasara uğramış endotel kompleman sistemini aktive eder ve nötrofilleri hasar bölgesine çağırır. En önemli hasar ise nötrofillerin gelmesiyle oluşur. Iskemi-reperfüzyon sonrasında gelişen sıkıntılı solunum sendromundan PMNL sorumludur. Diğer yandan, aktive nötrofillerin akciğer, kalp ve barsak dahil birçok organdaki doku hasarı patogenezinde önemli olduklarına ilişkin kanıtlar giderek artmaktadır. Sistemik inflamatuvar yanıtın gelişmesiyle PMNL aktivasyonu, pulmoner mikrosirkülasyonda PMNL sekestrasyonu ve PMNL-endotelial hücre adezyonu söz konusudur. PMNL'lerin endotel hücrelerine adezyonu sonrası açığa çıkan toksik maddeler sonucu endotelial tabakada hasar oluşur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisyel ödem gelişir. Bozulmuş endotelde nötrofilleri kendisine çeken üzerinde yer alan intraselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), p-selektin ve nötrofiller üzerinde yer alan CD11a ve CD18 reseptörleridir. Bu reseptörler nötrofillerin hasar bölgesine gelmelerinden sonra endotele yapışmalarını ve endotel üzerinde kaydıktan sonra açılmış olan hücre aralarında dokuya sızmalarına sebebiyet verirler. Reperfüzyon sırasında endotelden salgılanan Nitrik Oksitinde (NO) büyük önemi vardır. NO nötrofillerin yapışmasını (CD11b ve CD18 üzerinden), birikmesini ve içeriklerini boşaltmalarını inhibe eder. Ayrıca hem trombosit agregasyonunu engeller, hem de vazodilatasyon yaparak vasküler dengenin korunmasını sağlar. Endotel hücreleri, reperfüzyon sırasında NO sentezini sağlayan endotelial nitrik oksit sentetaz (iNOS) enziminin sayısını arttıran genleri aktive ederler ve bu şekilde artmış NO miktarı ile hasarı engellemeye çalışırlar. Fakat bütün bunlara rağmen NO kana karıştığı zaman çok çabuk

bir şekilde hemoglobine bağlanarak inaktive olur. Yine nötrofillerden salgılanan O_2 ve diğer oksidan maddeler hemen NO ile etkileşime girerler ve NO'in etkilerini ortadan kaldırırlar. Hatta fazla miktarlarda NO'in üretildiği durumlarda; O_2^- , NO ile reaksiyona girerek daha zararlı bir madde olan peroksinitrit oluşumuna sebep olurlar ve doku hasarını daha da artırır (65,102,103,104,105).

L- ADEZYON MOLEKÜLLERİ:

Adezyon molekülleri, hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. (13,17,39)

Adezyon molekülleri bugün dört sınıfta incelenmektedirler: integrinler, selektinler, immünglobulin süper-ailesine dahil adezyon molekülleri ve kaderinler. Bir de fonksiyonel olarak adezyon görevi gören ama yukarıdaki gruplar içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri vardır. Bu yazıda bu moleküllerin yapı, fonksiyon ve dağılımlarından bahsedilecektir.

İntegrinler

İntegrinler, heterodimer transmembran proteinlerdir. Aktif ya da inaktif halde bulunabilen integrinlerin, birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlı alfa ve beta alt üniteleri vardır (37). Molekülün fonksiyonel aktivitesi için her iki alt ünite de gereklidir, ancak bağlanma özgülüğünün beta alt ünitesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir(18).İntegrinler, yapılarında buldukları β alt ünitelerine göre $\beta 1, \beta 2, \beta 3$ ve $\beta 7$ integrinler olarak adlandırılırlar. $\beta 1$ yapısında olan integrinlere “Very Late Activation (VLA)” adı verilir. Bu ismi aktive olmuş T-lenfositlerin yüzeyinde 2-4 hafta gibi uzun bir süre sonunda eksprese olmaları nedeniyle alırlar. $\beta 1$ integrinler özellikle lökositlerin endotel hücrelerine ve hücre-dışı matrikse bağlanmasında görev alırlar. $\beta 2$ grubu integrinler üç homolog heterodimerden oluşur; kompleman reseptör tip 3 (CR3;CD11b/18), CR4 (CD11c/18) ve lökosit fonksiyonları ile ilişkili molekül-1 “Leukocyte Function Associated Antigens-1 (LFA-1; CD11a/18)”(33)

İntegrinlerin yapıları ve fonksiyonları;iki-değerli katyonlara bağımlıdır (Ca^{2+} , Mg^{2+}) integrinler arginin-glisin-asparagin (RGD) aminoasit dizilerine sahip

moleküllere bağlanma özelliği gösterir. Bu diziler hüce-dışı matriks glikoproteinlerinde, bazı hücrelerin yüzeyinde ve bazı kompleman proteinlerinde bulunur. Sitoplazmik kısımları ile vinkulin, talin, aktin, -aktinin, tropomiyozin gibi hücre içi iskelet yapıları ile etkileşirler (3). Dolaşımdaki lökositlerin damar endoteline tutunup yapıştıktan sonra, inflamatuvar reaksiyonun bulunduğu alana göç etmelerinde rol alırlar(28). Hücre dışı sinyaller aracılığı ile haberleşmeyi sağlarlar (9). İntegrin adı, bu moleküllerin hücre-dışı matriks ve hücre iskeleti ile ilgili aktivitelere aracılık etmesinden (integre etmesi) kaynaklanır. Embriyolojik gelişim, hemostazis, tromboz, yara iyilemesi, immün ve immün-olmayan savunma mekanizmaları gibi birçok fizyolojik olayda hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuna katılırlar. Kardiyovasküler sistemde hücre-hücre ilişkisi dinamik bir olgudur ve ince ayarlı bir düzenleme gerektirir. Fibrinojen (2 mg/ml) varlığına rağmen trombositler agregre olmaz, kan akımına rağmen lökositler inflamasyon alanına gidebilir. Bütün bu olaylarda integrin grubu hücre yüzey molekülleri rol oynar integrinler, insan vücudunda bulunan hemen tüm hücrelerde eksprese olurlar (27).

Aktif hale geçen bir hücre sitoplazmasından sinyal iletildiinde, integrinlerin hücre-dışında kalan kısmı şekil değişimi göstererek kendi ligandına olan afinitesini artırır. Bu işleme içeriden-dışarı (inside-out) sinyal iletimi denir. Bu işlem adezyon molekülleri arasında bir tek integrinlerde görülür. İntegrinlerin ligandına bağlanması ile bu kez dışardan-içeriye (outside-in) sinyal mekanizması çalışır; bu da hücre içerisinde apoptozisten proliferasyona kadar birçok işlevde etkili olur(13) İntegrinler, liganlarının aktivitesi yönünden düşük ve yüksek afiniteli durumda olabilirler. İntegrinler farklı yollardan aktive edilebilirler. TCR kompleksi veya protein kinazı C (PKC) aktive eden forbol esterler aracılığıyla içeriden dışarıya doğru sinyaliletimi sağlayabilir (24).

CD2, CD44 veya CD43'e karşı monoklonal antikorlar da C11/CD18 aktivasyonuna neden olurlar. Mg^{2+} ve Mn^{2+} ve bazı integrin bağlayan antikorlar da (MEM83, KIM127, KIM18) hücre içi sinyali olmaksızın integrin aktivasyonu yapabilirler(24) İntegrinle ilişkili patolojiler lökositlerin dokulara yönelmesinde adezyon moleküllerinin önemi, insanlarda rastlanan hastalıklarla daha iyi anlaşılabilir. Lökosit adezyon eksikliği tip-1 sendromunda $\beta 2$ integrin eksikliği

veya mutasyonu sonucunda azalan polimorfonükleer ve monosit

ekstravazasyonu söz konusudur. Sıklıkla hayatı tehdit eden tekrarlayan infeksiyonlarla karşımıza çıkar(40). Bu hastaların lökositlerinde adezyon bozulmuş, fagositoz ve kemotaksi anomalileri ortaya çıkmıştır (12).

Glanzmann trombastenisi otozomal resesif geçiş karakteri gösterir. Trombositlerdeki $\beta 3$ -intergrinlerde nokta mutasyonu veya delesyonu vardır. Trombosit fonksiyonlarında bozukluk ve uzamış kanama zamanı ile sonuçlanır(7). Bir başka integrinle ilişkili hastalık epidermolysis bullosadır. Otozomal resesif geçiş gösterir. 6- veya $\beta 4$ integrin alt ünitelerinin fonksiyonel heterodimer olarak ekspresyonundaki hata, bazal membran ile bazal keratinosit katmanı arasındaki mekanik bağlantının bozulmasına ve hastalığın ortaya çıkmasına neden olur (34) Konjenital musküler distrofi kas zayıflığı ile ortaya çıkan otozomal resesif geçiş gösteren ve diğer musküler distrofilerle (Duchenne) ilişkili bir hastalıktır. Kasa özgül 7-integrin alt ünitesinde mutasyon taramalarında bozukluk saptanmıştır(16).İntegrinlerin buradaki özgül rolü tam olarak bilinmemekle beraber ekstrasellüler çevre bağlantılarındaki rolü nedeniyle patolojik önemi olduğu ileri sürülmektedir.Son olarak tümörlerin progresyonunda integrinlerin azalıp çoğalmasının önemi çeşitli raporlarla bildirilmiştir.İntegrin-kanser ilişkisi yakın zamana kadar adezyon ve migrasyonla sınırlıydı ve integrin alt ünitelerinde oluşan genetik bozuklukların kanser ile ilişkisi yakın zamana kadar bilinmiyordu. Kısa süre önce, Evans ve ark.(10) $\beta 1$ -integrin alt ünitesinde ortaya çıkan heterozigot mutasyonların dilin skuamöz hücreli kanserinin oluşmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. Yine, integrinlerin $\beta 1$ altünitesinin, multipl miyelomalarda ortaya çıkan hücre adezyon aracılı ilaç direncinde (CAM-DR) önemli rolü olduğu son birkaç yılın dikkat çeken konuları arasında yer almaktadır(25)

İmmünglobulin süper-ailesi

Omurgalıların bağışıklık sisteminde adezyon, tanıma veya bağlanma fonksiyonlarına aracılık eden birçok çözünebilir molekül ve hücre yüzey molekülü vardır. Bu moleküllerin aminoasit dizilerinin bir kısmı ve üçüncül yapıları immünglobulin hafif ve ağır zincirlerinde saptanan bazı yapılarla homoloji gösterirler.Aynı özellikleri taşıyan ve bağışıklık sistemi dışında bulunan moleküller de vardır ve benzer fonksiyonlara sahiptirler. Bu proteinler immünglobulin süper-ailesinin üyeleridir. Bu ailenin üyeleri büyük olasılıkla ortak bir prekürsör genden çeşitli evrimler

sonucu meydana gelmiştir(1). Bu ailedeki moleküller homofilik ya da heterofilik ilişki kurabilirler. Bu gruptaki intersellüler adezyon molekülleri ICAM-1 ve ICAM-2, CD11/18 integrinlerin karşıt reseptörleridir. ICAM-yapısal olarak endotel hücrelerinde eksprese olur. Tümör nekrotizan faktör (TNF), interlökin-1 beta (IL-1 β) ve lipopolisakkarit (LPS) muamelesini takiben 24 saat içerisinde ekspresyonları artar ve 72 saat yüksek seviyede eksprese olurlar.Son yıllarda yapılan çalışmalar, ICAM-1'in CD8+T hücre cevabını da uyarabileceğini göstermiştir(8). CD8+T hücreleri,ICAM-1 bağımlı kostimulasyona CD4+T hücrelerinden daha çok duyarlıdır. ICAM-1'in, CD8+T hücrelerinden IL-2 üretiminde B7-1 kostimulasyonundan farklı ya da ona tamamlayıcı etkisi vardır. Ancak B7-1 ve ICAM-1'in oluşturduğu kostimulasyonlar arasında kalite farkı olduğu ve ICAM-1'in klonal ekspansyona neden olmadığı belirlenmiştir. ICAM-1 bağımlı B7-bağımsız kostimulasyonun, profesyonel olmayan antijen sunan hücreler tarafından MHC klas I antijeni aracılı sitotoksik T lenfosit cevabının oluşmasında önemli olabilecei düşünülmektedir(8). ICAM-2'nin endotel hücrelerindeki ekspresyonu ICAM-1'e göre daha fazladır ve sitokin ve LPS ile uyarımdan sonra değişmez. ICAM-2'nin inflamasyondaki fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. ICAM-3, ICAM-1 ile % 48 homoloji gösterir. Endotel hücreleri üzerinde bulunmaz.Lökosit infiltrasyonunda görev almaz, yalnız aktif olmayan lökositler üzerinde bulunur(28). ICAM-4 (LW blood group antigen) eritrositlere, ICAM-5 (telencephalin) ise beyine-özgündür(24)

.Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1),lökositlerde bulunan VLA grubu integrinler ile ilişkiye girer.Endotel hücreleri, antijen sunan hücreler, kemik iliği stromal hücreleri, embriyonik doku ve sinoviyal dokuda eksprese olurlar. İnflamasyon alanına lenfosit ve lökosit göçü ile lenfosit aktivasyonu ve kostimülasyonuna katılırlar.Nöral hücre adezyon molekülü (NCAM, CD56), NK hücreleri, nöral hücreler, astrosit ve miyoblastta eksprese olur. Embriyogenezde normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesi sırasında izlenen kontak inhibisyonuna katılırlar.PECAM-1 (CD31), polimorfonükleer hücreler, monosit,

trombosit, nötrofil ve endotel hücresi üzerinde eksprese olur.İnflamasyon, integrin aktivasyonu, hücre-hücre adezyonu,transendotelial nötrofil, monosit, NK hücresi ve T hücre göçüne aracılık ederler.CD2 (LFA-2), T-hücresi ve NK hücresi üzerinde eksprese olurlar. LFA-3'e bağlanarak T-hücrenin hedef hücreye adezyonu, T-

hücre aktivasyonu ve kostimülasyonuna katılırlar.LFA-3 (CD58), lökosit, eritrosit, endotel ve epitelyal hücreler, fibroblast üzerinde eksprese olurlar. CD2'ye bağlanarak, T-hücresinin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, T-hücresinin eritrositler ile adezyonuna (rozet oluşumu) aracılık ederler.Kısa bir süre önce immüoglobülin süper-ailesine yeni bir

üye daha katılmıştır: junctional adhesion molecule (JAM).JAM endotelial hücrelerde, hücreler arası kavşakta yapısal olarak bulunan bir moleküldür. JAM'ın monosit transmigrationında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

İn-vitro, anti-JAM Ab'ların endotelden monosit göçünü engellediği gösterilmiştir. (29,31)

Kaderinler

Kaderinler, moleküler ağırlıkları 120,000-140,000 arasında değişen, yapı ve fonksiyonları açısından Ca^{2+} a bağımlı transmembran proteinlerdir(5). Kaderinler yapısal olarak birbirleri ile benzerlik gösterirler. Birçok tekrarlayan ilmiğin (domain) oluşan ve Ca^{2+} a bağlanmada önem taşıyan geni bir hücre-dışı N-ucu ile, kaderinler arasında çok iyi

korunan sitoplazmik bölümle bağlantılı tek bir transmembran kısımdan oluşur. Sitoplazmik kısım üç sitoplazmik protein ile ilişkilidir; bunlar , beta ve alfa kateindir(23). Kaderinler üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinenbe kaderin grubu vardır(2).

E-kaderinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-kaderinler: Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

V-kaderinler: Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

N-kaderinler: Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-kaderinler: Kalp kasında eksprese olurlar (26).

Desmoglein, desmocollin gibi kaderin ailesi ile daha uzak ilişkili moleküller de vardır(5) Kaderin/katenin haberleşmesinin kaderinlerin adeziv fonksiyonunda önemli olduğu düşünülmektedir.Fibroblastlarda sitoplazmik kısmı bulunmayan E-kaderin

ekspresyonunun fonksiyonel bir hücre-hücre adezyonu sağlayamadı bildirilmiştir. Bunun muhtemel sebebi kateninlerle irtibat kurulamaması olabilir(32) Kaderinler, yan yana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlarlar. Yapışma kavşaklarında fermuara benzer yapılar oluştururlar. Bu grupta bulunan desmosomlar hücre iskeletinin ara flamanları için kutuplaşma noktaları oluştururlar. Kaderinler, birbiri ile genelde homofilik karakterde ilişkiye girerler. Karşılıklı hücrelerde bulunan aynı kaderinler birbirine bağlanarak hücre-hücre adezyonunu sağlarlar. Kaderinlerin bu özelliği yukarıda bahsedilen histogenetik dağılımı sağlar. Kaderinler embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir. Embriyoda özgün adezyon moleküllerinin ekspresyonu hücre göçü ve doku diferansiyasyonu için gereklidir. Kaderinlerin adeziv fonksiyonunu göstermek için normal koşullarda yüzeyinde bu molekülleri taşımayan hücrelere, kaderin cDNA transfeksiyonu yapılmış, bu hücreler kaderin moleküllerini eksprese etmeğe başladıktan sonra adeziv özellik de kazanmıştır (30). Ayrıca, Na⁺-K⁺-ATPase gibi bazı moleküllerin de basolateral kısımda birikmeye başlaması kaderinlerin epitele-benzer bir polarite de sağladığını, sinyal iletiminde de rol alabileceğini göstermiştir. Böylece, iki kaderinin ilişkisi bir dizi biyokimyasal olaya neden olarak doğru pozisyon, tanıma ve hücreler arası haberleşmeyi sağlamaktadır(2). Tümör oluşumunda, kaderinlerin azaldığı belirlenmiştir. Tümör hücrelerinin düzensiz davranışını 1 nedeni ile hücre-hücre ilişkisi tümörlerde bozulmuştur. Kaderinlerin hücre yüzeyinde azalması ile ortaya çıkan azalmı adezyon ve hücre ilişkilerinin neoplastik progresyonla ilişkisi her geçen gün daha da belirgin hale gelmeye başlamıştır(26) İnvaziv karsinoma hücrelerinin başlıca karakteristiği az diferansiyasyon ve hareketliliklerinin artmış olmasıdır. E-kaderin hücrenin hareketlilik özelliğinin yok olmasına neden olur. E-kaderin ekspresyonu azalan epitel hücrelerinde diferansiyasyonunun azaldığı ve göç kabiliyetlerinin arttığı belirlenmiştir(26). Buradan E-kaderinlerin invaziv özellik karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (6).

Ayrıca E-kaderinin birçok az diferansiyasyon insan karsinom hücrelerinde bulunmadığı da tespit edilmiş ve bu hücrelerin invaziv özelliği E-kaderin cDNA transfeksiyonu ile ortadan kaldırılmıştır (14) Aynı şekilde meme kanserli hastalarda H-kaderin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır(26).

Selektinler

Selektinlerin yapılarında hücre-dışı bölümde bulunan bir lektin kısmı, bunun hemen yanında epidermal büyüme faktörüne (EGF) benzer bir bölüm ve bunun yanında da kompleman regülatuar proteinlerinde bulunan 60 aminoasitlik tekrarlayan diziler (short consensus repeats, SCR) vardır. Bunları membranı geçen kısım ve sitoplazmik kısım izler (38).

Lektin kısmı ligand ile bağlanan bölümdür. EGF'e benzer bölümün molekülün genel yapısının sağlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir; bu bölümün çıkartılması selektinlerin adezyon fonksiyonunu ortadan kaldırır(22) Selektinlerin yapısında bulunan kısa ardışık tekrarlayan dizilerin(SCR) tam fonksiyonu bilinmese de, bu bölümün delesyonuf onksiyon kaybına neden olmaktadır. Selektinler lökosit ve endotel hücreleri üzerindeki karbonhidrat ligandlarına ba lanarak lökosit trafiğinin düzenlenmesine katılırlar. Selektinler de kaderinler gibi üzerinde buldukları dokulara göre isim alan üç ana grupta incelenir: *L-selektinler*, hemen tüm nötrofiller ve monositlerde, T ve B lenfositlerin büyük bölümünde ve NK hücrelerinin bir alt grubunda eksprese olurlar. T ve B hücreleri üzerinde eksprese olan L-selektinler tüm nativ hücrelerde bulunurken bazı hafıza hücrelerinde eksprese olmazlar(22) *E-selektinler*, endotel hücresi üzerinde bulunurlar ve ekspresyonları IL-1, TNF- gibi inflamatuvar uyaranlaracevaben artar (21).

P-selektinler, trombositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunurlar. Bu gruptaki selektinler trombin, histamin, protein kinaz C, kompleman fragmanları gibi çeşitli mediatörlerle uyarılabilir. Ancak endotel hücrelerine özgün Weibel-Palade m cisimcikleri ve trombositler de bulunan granüllerde P-selektinler hazır olarak da bulunur(22). Böylece, bu granüllerin membrana füzyonu ile P-selektinler çok hızlı şekilde eksprese olma özelliği gösterirler. Her üç grup selektin, lökositlerin endotele yapışarak yuvarlanmasında (rolling) rol alır. Bu genlerin fonksiyonları "knockout" farede analiz edilerek belirlenmiştir. L-selektin eksikliği oluşturulan farede ortaya çıkan başlıca belirti lenfositlerin lenf nodüllerine yerleşiminin "homing" ortadan kalkmasıdır. P-selektin eksiklii oluşturulan farede lökositler normal kan damarları üzerinde yuvarlanma yeteneğini yitirirken, inflamasyon alanında yuvarlanırlar. E-selektinden yoksun farede ise büyük bir değişim saptanmamasına rağmen, aynı anda E-

ve P-selektin kaybı inflamatuvar alandaki yuvarlanma ile değişimin de kaybolmasına neden olur (12).

Her selektin yuvarlanmaya farklı hız karakterlerinde aracılık eder. L-selektin, akım halindeki hücrelerin yakalanmasında en etkili rol oynarken, E-selektin'in durağan yuvarlanmada etkili olduğu, P-selektinin ise her ikisini de başlatıp yuvarlanmayı devam ettirebildiği gösterilmiştir (21).

Ancak, selektinlerin ve ligandlarının ekspresyon kinetiklerinin farklı olması nedeniyle, farklı selektinler, inflamasyonun farklı zamanlarında rol oynarlar. Ayrıca selektinlerin ve ligandlarının ekspresyon paterni dokuya ve cinse göre de farklılık gösterebilir. Etkili bir immün cevap için temel art T ve B lenfositlerin ikincil lenfoid organlarda sürekli dolaşiyor olmalarıdır. Lenfositlerin dolaşımdan sekonder lenfoid organlara geçişi lenf nodüllerindeki postkapiller damarlarda bulunan özelleşmiş endotel hücrelerinden sağlanır. L-selektinlerin monoklonal antikorlarla bloke edilmesi lenf nodüllerindeki endotel hücrelerine bağlanmayı durdurmuştur. Bu deneyler L-selektinlerin lenf nodüllerine geçişi için tek olmasa da temel molekül olduğunu göstermiştir (22). Bu gereklilik nedeniyle L-selektin T ve B lenfositleri üzerinde daimi olarak eksprese olmaktadır.

Sınıflandırılmayan adezyon molekülleri

Adezyon fonksiyonuna katılan ancak yukarıda bahsedilen dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri *Hermes (CD44)*, Hücre-dışı matriks reseptörü III olarak da bilinir. Membran glikoproteinidir. İnsan dokularında variantzo formları yaygın olarak eksprese olur. T ve B lenfositler, timositler, granülosit, monosit, epitelyal hücreler, fibroblastlar bunlardan bazılarıdır. Hücre-hücre ve hücre, hücre-dışı matriks adezyonundan sorumludur. Endotel hücresi üzerinde lenfositlerin yuvarlanmasına, hücre göçüne ve hematopoetik hücrelerin diferansiyasyonunun uyarılmasına aracılık eder (15) *CD36*, platelet glikoprotein VI ve GP IIIb olarak da bilinir. Apoptozise giden hücrelerin fagositoz kapasitesi ile ilgili rolü olabilir. Monositlerdeki gen düzenlenmesinin adezyonla ilişkili olduğu düşünülmektedir. (35).

Laminin, dokular arasında geni dimerler oluşturur. Bazal membran mimarisi için önem taşır. Embriyogenez, gelişim ve dokuların yeniden şekillenmesi için gereklidir. *Fibronektin*, glikozaminglikana, jelatine, fibrin, heparin ve hücre yüzey

integrinlerine bağlanır. Embriyogenez, anjiogenez, trombozis, hemostaz, inflamasyon ve yara iyilemesi sırasında adeziv ve migratuvar olaylara aracılık eder (11).

OX40, aktif T-hücrelerinin vasküler endotel hücrelerine ligandı olan gp34 aracılığı ile adezyonunda rol alır. T hücre kostimülasyonuna katılır (20).

Adezyon reseptörleri ile sinyal iletimi

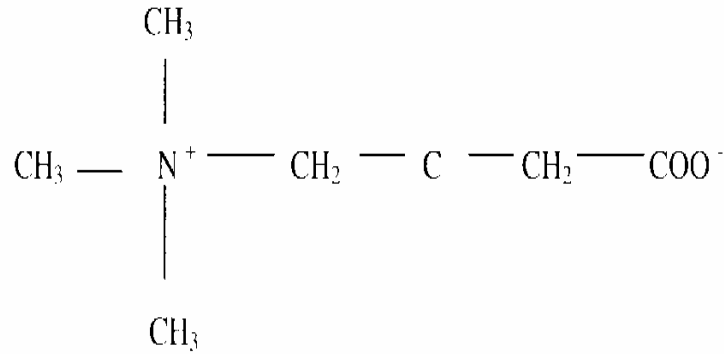
Adezyon moleküllerinin sinyal iletebildiklerinin gösterilmesi son on yılın temel gelişimlerinden biri sayılmaktadır. Sinyal iletimi, en iyi integrinlerde tanımlanmıştır. Integrinler, bir grup farklı sinyal iletim repertuvarına sahiptir(36) Rho-ailesi GTPase'ların aktivasyonuna neden olarak hücre iskeleti organizasyonunda değişimlere neden olurlar. Mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz yolağının ve bir grup protein ve lipid kinazın aktivasyonuna yol açarlar. Bu sinyal yollarının aktivasyonu integrinlerin hücre adezyonu ve morfolojisinin yanı sıra, hücre-siklusunun ilerlemesine, hücrenin yaşamının devamına ve gen ekspresyonunu etkilemesine neden olurlar. Gerçekten de birçok hücre bir substratı yapamadığı takdirde çoğalamaz ve yaşayamaz, buna "anchorage dependence" adı verilir. Büyüme faktörleri ile integrinler arasında önemli oranda karşılıklı konuşma ve yardımlaşma söz konusudur. Büyüme faktörlerinin tek başına bulunması yeterli değildir, integrin sinyalinin varlığına da ihtiyaç vardır. Bu yardımlaşma her seviyede söz konusudur. Membranın proksimalinde farklı tipte reseptörler birbirinin aktivasyonunu etkiler. Bunun yanı sıra, ortak yollarda çoklu uyarılar olabilir. Bu iki reseptör grubu, entegre bir sistemin parçaları olarak düşünülmelidir. Bu kaynaşma kaderin/ β -katenin sisteminde de görülmektedir(4). β -katenin klasik kaderinlerin hücre iskelet bağlayıcısıdır. Aynı zamanda, Wnt sinyaline cevaben miktarı artan transkripsiyonel aktivatörünü göstererek sinyal iletiminde temel rol oynar. Hücre-hücre adezyonu ile Wnt sinyal iletim yolu arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır ve tıpkı integrin ve tirozin kinaz reseptörleri gibi birbirleri üzerinde etkilidirler. Kaderin süper-ailesinin diğer üyeleri de farklı sinyal iletim yollarıyla işlev görebilir(4). Integrinlerin kendi başlarına sinyal iletmeyip, bir takım yardımcı transmembran moleküller ile birleşerek sinyal kapasitelerinin çeşitliliğini arttırdığı da bildirilmeye başlanmıştır. Bu yardımcı sinyal molekülleri arasında tetraspaninler, CD47, kaveolin ve syndekanlar sayılabilir(19) Her ne kadar son onyılda adezyon molekülleri ile ilgili bilgilerimiz arttıysa da bu konuda halen aydınlatılmayı bekleyen bir çok soru vardır. Önümüzdeki yıllarda adezyon moleküllerinin gelişimdeki rolü, ekspresyon paternleri ve fonksiyonları, sinyal iletimindeki rolü ve bunun

diferansiyasyona etkisi transjenik hayvanlarda incelenerek daha iyi olarak belirlenecek, bu şekilde adezyon moleküllerinin ekspresyonunun hastalıklarda ve özellikle kanserdeki prognostik değeri klinik ve temel araştırmalarla saptanarak bu moleküllerin diferansiyasyon ve invazyonu engelleyici özelliklerini arttırıcı ilaçlarla tedavi yolları aranacaktır.

M- L-KARNİTİN:

M.1. Yapı ve Biyosentez

İlk kez 1905 yılında hayvan kaslarından izole edilen karnitinin kimyasal yapısı 1927'de belirlenmiştir. Buna göre karnitin yapı olarak amino asitlere benzeyen, ancak hiçbir proteinin yapısına girmediği için gerçek bir amino asit olarak kabul edilemeyen, kuaterner bir amindir. Açık biyokimyasal formülü 3-hidroksi-4-N-trimetilamino-butirat şeklindedir (şekil 2) (146.147).



Şekil 2: Karnitin molekülünün kimyasal yapısı (68-69).

1955'de karnitinin karaciğerde yağ asitlerinin oksidasyonunu uyardığı ve asetil koenzim A (asetil-CoA) tarafından geri dönüşümlü bir reaksiyonla asetillendiği tespit edilmiştir. Bu doğrultuda yapılan araştırmalar sonucunda ise, 1959 yılında, karnitinin uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunda gerekli bir madde olduğu gösterilmiştir.

Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde karnitinin yapısındaki metil gruplarının metionin amino asitinden geldiği tespit edilmiş ve yapısındaki diğer 4 karbon atomunun lizin tarafından sağlandığı bulunmuştur.

İşlevsel bakımından vitaminlere benzer yönleri bulunan karnitin, diyet ile alınabilmesinin yanısıra, vücutta da sentez edildiğinden, tam anlamıyla bir vitamin olarak kabul edilmemektedir. Latince " et " anlamına gelen carnis sözcüğünden kök alan karnitin, doğada gerçekten de en yüksek oranlarda kırmızı etlerde ve kümes hayvanlarının etlerinde bulunur . Bu şekilde diyetle alınan karnitin, aktif transport ile duodenum ve jejunumdan emilir. Böbreklerde, glomerüler filtrata geçen bölümünün %90'ından fazlası tubuler reabsorbsiyona uğrar. Çok az bir bölümü feçes ile atılır.

Karnitin, vücutta yaygın olarak bulunur. Organizmada karnitinin biyosentezi, memelilerde karaciğer ve beyinde gerçekleşirken, insanda bunlara ilave olarak böbreklerde de sentezi yapılabilmektedir. Karnitin sentezi yapmayan organlar, ihtiyaçlarını kana verilen karnitinden karşılarlar . Sonuçta 70 kg'lık yetişkin bir insandaki toplam karnitin deposu 100 mmol kadar olup, bunun yaklaşık %98'i kaslarda, geri kalan bölümü ise karaciğer ve böbreklerde bulunur.

Yukarıda da söz edildiği gibi, karnitinin karaciğer ve böbrekteki sentezi için başlıca lizin ve metionin, kofaktör olarak da askorbik asit (vitamin C), nikotinic asit, piridoksal fosfat (vitamin B6) ve Fe^{++} gerekmektedir. Sentez için öncelikle bir transferaz reaksiyonu ile lizine, metioninden metil grupları transfer edilerek 6-N-trimetil lizin'e dönüştürülür. Daha sonra bu molekül üzerinde hidrosilaz, dehidrojenaz ve aldolaz enzimleri etki göstererek sonuçta karnitin oluşturulur. Sentez, hücrenin hem mitokondriyal, hem de sitozolik fraksiyonunda yürütülmektedir (147).

M.2. Fizyolojik Etkileri:

Karnitinin organizmadaki metabolik işlevler üzerinde oldukça geniş etkileri vardır. Başlıca etkilerini sıralayacak olursak:

1. L-karnitin, memeli dokularında uzun zincirli yağ asitlerini sitoplazmadan oksidasyona uğradıkları yer olan mitokondrilere taşınmasında rol oynayan biyolojik bir

maddedir (148). Besinler, ATP'ye dönmek üzere mitokondri içine taşınırlar. Mitokondri, besin maddelerini alıp içinde bulunan enzimler yardımı ile onları metabolize ederek enerji oluşturur (147). İskemik koşullarda mitokondriyal enerji üretimi yavaşlamakla birlikte, ATP üretimi için temel kaynak olarak kalmaktadır (149). Kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonları karnitinden bağımsız olarak da oluşabildiği halde, uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu ancak karnitin varlığında gerçekleşebilmektedir. Çünkü mitokondrinin iç membranı uzun zincirli yağ asitlerine karşı geçirgen olmayan bir bariyerdir, bu bariyeri ancak karnitinle birleşerek geçebilirler. Karnitin bu işlevi yerine getirmesinde en az onun kadar önemli bir diğer faktör de karnitin açıl transferazdır. Mitokondri iç membranının dış yüzeyinde bulunan bu enzimler, yağ asidinin CoA ile esterleşmesi yoluyla oluşan açıl CoA'da ki açıl grubunun karnitine aktarılmasını sağlar ve açıl karnitin oluşur. Oluşan açıl karnitin, mitokondri iç membranının dış yüzeyinde bulunan karnitin açıl karnitin translokaz enzimi ile mitokondri iç membranından matrikse iletilir. Bu sırada karnitin yeniden mitokondri dışına taşınır.

2.Karnitin, benzer şekilde, peroksizomal yağ oksidasyonunda da rol oynamaktadır.

3.Normal şartlarda mitokondri içerisindeki total CoA miktarı sabit kalmalıdır. Serbest CoA, bir çok enzimatik reaksiyonda gerekli bir maddedir. Karnitin, CoA-karnitin açıl transferaz enziminin etkisiyle mitokondriyal açıl-CoA miktarını azaltarak serbest CoA miktarını artmasına neden olur (açıl-CoA + karnitin → açıl-karnitin + CoA). Serbest CoA miktarının artması, a-ketoglutarat dehidrogenaz aktivitesini artırarak Krebs siklüsünü hızlandırır. Bu şekilde, mitokondrideki CoA/asetil-CoA oranının korunması sağlanır.

4. Karnitin, açıl gruplarını temizleme sistemi olarak da görev yapmaktadır; bu

yönüyle detoksifiye edici bir ajandır. Mitokondride biriktikleri takdirde bir çok enzimi inhibe eden ve yıkıcı etkileri bulunan açıl gruplarının mitokondri dışına taşınmalarını sağlar. Uzun zincirli açiller düşük konsantrasyonlarda adenilat translokaz enzimini inhibe ederler; bu enzimin inhibisyonu durumunda ise ATP'nin mitokondri dışına taşınması durur. Daha yüksek miktarlarda ise deterjan etkilerinden dolayı intrasellüler membranlarda geri dönüşümsüz hasar oluştururlar. Karnitin, uzun zincirli açıl CoA miktarını azaltarak bu istenmeyen etkilerini engeller .

5. Karnitin, organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen veya eksojen organik asitlerin konjugasyonunda da görev yapmaktadır. Örneğin, artan glutamin ve amonyağın beyindeki düzeylerini azaltarak amonyak toksisitesinden beyni koruma görevi de üstlenir .

6-Yağ asitleri dışında, dallı zincirli aminoasitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında da karnitinin yardımcı rolü vardır. Bunların da oksidasyonu karnitin ile olur (147).

7-İskemik dokularda karnitin rezervi hızla tükenir ve uzun zincirli yağ asitleri okside edilemez, trigliserid sentezi artar, bunun sonucunda da uzun zincirli açıl-CoA ve uzun zincirli açıl karnitin esterleri birikir. Çeşitli deneysel iskemi modellerinde, karnitin ile mitokondrilerin metabolik hızı arttırılarak oksijen kullanımının arttığı gösterilmiştir. Doku karnitin seviyesinin normale yükseltilmesiyle uzun zincirli açıl-CoA'dan acil grupları ayrılarak intramitokondriyal açıl-CoA miktarı normale düşürülür ve yüksek açıl-CoA seviyelerinin getirdiği olumsuz etkiler geri çevrilir. Ayrıca aerobik piruvat metabolizması uyarılarak piruvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır; bu şekilde hücre içi laktik asit birikimi de önlenir. Bunlara ek olarak karnitin serbest radikal üretimini durdurur ve sonuçta hücrel hasar azaltılmış olur (147,149,150).

M.3. Karnitin Yetersizliği

L.3.1.- Primer Karnitin Eksikliği: Genetik olarak geçiş gösteren bir hastalıktır

A. Primer Myopatik Karnitin Yetersizliği: Genellikle ocukluk çağında başlayan, proksimal kaslarda (kol ve bacakların st kısmı, kalça ve omuz), gittikçe ilerleyen atrofi, hipotoni, güçsüzlük ve çabuk yorulmayla karakterli yaygın kas zayıflığı mevcuttur. Ciddi kardiomyopati, yüksek serum kreatin kinaz seviyeleri vardır. Kas karnitin düzeyleri düşük olmakla birlikte, serum karnitin düzeyleri normaldir. Kas biyopsilerinde yağ depolanması mevcuttur. Erken dönemlerde başlayan karnitin tedavisi ile hastalarda iyileşme grlmektedir.

B. Primer Sistemik Karnitin Yetmezliği: Bebeklik ve erken çocukluk dönemlerinde ; ilerleyici güçsüzlük, bulantı, kusma, konfüzyon, koma ve hepatik ensefalopati ataklarıyla karakterizedir. Kas, karaciğer, beyin ve böbrek karnitin düzeyleri azalmıştır. Düşük serum karnitin düzeyleri ile myopatik karnitin yetersizliğinden ayırdedilebilir. Kas biyopsisinde yağ depolanması görülür. Dışardan verilen karnitin tedavisi ile vakaların çoğunda iyileşme sağlanmaktadır.

L.3.2.- Sekonder Karnitin Eksikliği: Genetik ve sonradan kazanılmış formları vardır. Sekonder karnitin yetersizliğinde dokulardaki karnitin depoları azalmıştır. Genetik geçişli karnitin eksikliğinin başlıca 3 alt grubu vardır. Bunlar;

a-Organik kaynaklı asidemiler,

b-Beta-oksidasyon mekanizmasında bozukluk ve

c-Mitokondriyal solunum zinciri defekti seklinde karşımıza çıkmaktadır.

Sonradan kazanılmış karnitin eksikliğinin sebepleri için ise Reye sendromu, Fanconi sendromu, hemodializ, yetersiz alım (total parenteral beslenme), valproate kullanımı, bazı antibiyotikler (pivampisilin. pivmesilinam vb), soya ağırlıklı beslenme,

siroz ve kaşeksi, kwashiorkor, kistik fibrozis, kısa barsak sendromu nedeniyle yetersiz emilim, aşırı egzersiz ile prematürelilik gibi durumlar sayılabilir.

Genel olarak ortaya çıkışı tekrarlayan akut ensefalopati, kusma, şuur bulanıklığı, kardiomyopati, hepatomegali veya Reye sendromuna benzer bir klinik tablo ile olabilmektedir. Olası bir şüphede yapılan tetkiklerde nonketotik hipoglisemi, metabolik asidoz, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, kan amonyak seviyesinde artış ve dikarboksilik asidüri ile karşılaşılabilir. Ayrıca patolojik incelemede, kas dokusunda aşırı yağlanma görmek mümkündür.

Tedavisinde öncelikle diyetdeki yağ oranının azaltılması ve karbonhidrat oranının yükseltilmesi yoluna gidilmelidir; uzun zincirli yağ asitleri yerine orta zincirli yağ asitleri içeren bir beslenme önerilir. Sekonder karnitin yetersizliğinde altta yatan hastalığın tedavisi ve dışardan karnitin verilmesi ile iyileşme görülmektedir (147,151).

M.4. Karnitin Eksikliği ile Ortaya Çıkan Metabolik Bozukluklar:

- a- Yağ asitleri enerji üretiminde kullanılamaz, sonuçla, özellikle kalp ve iskelet kaslarında enerji ihtiyacı açığa çıkar.
- b- Serbest yağ asitleri ve trigliseridlerde artma gözlenir.
- c- Yağ asitleri sitoplazmada birikir.
- d- Kaslarda yağlanma meydana gelir.
- e- Toksik etkiye bağlı metabolik bozukluklar oluşabilir.
- f- Karbonhidratların aşırı kullanılmasına bağlı hipoglisemi oluşur.
- g- Karbonhidrat metabolizmasının bozulması sonucu laktik asit birikmesi gözlenir.
- h- Çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği ve tekrarlayan enfeksiyonlar gözlenir.
- ı- Beta-oksidasyon için gerekli olan serbest CO-A eksikliği oluşur (146,151).

AMAÇ

Klinikte iskelet kasının geçici iskemiyeye maruz kaldığı birçok durumlar vardır. Bunlara örnek olarak arteriyel tromboz, vasküler travma, serbest doku transferi ve ekstremite cerrahisinde geçici pnömatik turnike uygulanması verilebilir. Bu durumlarda doku hasarını minimale indirmek önemlidir. Kan akımının azalması doku hasarına ve çok geçmeden iskemik alanın nekrozuna sebep olur. Kan akımının yeniden sağlanması ise iskelem-reperfüzyon hasarı dediğimiz hücre membran yıkımı ve sıvı ekstrasvazyonu ile ilgili lokal doku kayıplarına ve böbrek, akciğer gibi uzak organların hasarına sebep olacaktır. Bu sistemik etkiler reperfüzyon sırasında üretilen toksik serbest oksijen radikallerine bağlanmaktadır. Serbest oksijen radikalleri organizma tarafından bazı temizleyici sistemlerle yok edilmeye çalışılır.

Deneysel olarak serbest oksijen radikallerinin iskelem-reperfüzyon hasarındaki etkisini önlemede ksantin oksidaz inhibitörleri ve birçok serbest oksijen radikali temizleyicilerinin etkinliği gösterilmiştir. L-karnitin'in antioksidan etkisi çok eskiden beri bilinmektedir. Ancak iskelem-reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyonunun önlenmesinde L-Karnitin uygulanımı ile ilgili çalışmalar son derece azdır.

Bu çalışmanın amaçları, L-Karnitin'in, aortik iskelem-reperfüzyona bağlı oluşan Ac hasarı ve endotel hasarına etkilerini araştırmaktır. Bunun için, rat infrarenal abdominal aorta oklüzyon-reperfüzyon modelinde L-Karnitin uygulandı ve 1) endotel hasarını belirlemek için plazma I-CAM , V-CAM, P-Selektin düzeyleri 2) Ac hasarını belirlemek için plazma MDA düzeyleri ve akciğer dokusunun patolojik incelemesi yapıldı.

Abdominal aort cerrahisinde, aortik kros klemp uygulanması ile alt ekstremiteelerde iskelem oluşur. Aortik kros klempin kaldırılarak alt ekstremiteelerde dolaşımın aniden ve yeniden sağlanması ile de reperfüzyon süreci ve hasarı oluşur. Aortik iskelem-reperfüzyon, uzak organlara (kalp, akciğer ve böbrek) hasar veren bir süreçtir (152). Bu sistemik etkiler reperfüzyon sırasında üretilen toksik serbest oksijen radikallerine bağlıdır (153,154). Serbest oksijen radikallerinin oluşumunun önlenmesi

ile iskemi-reperfüzyon hasarının azaltıldığını gösteren deneysel çalışmalar vardır (154,155,156).

L-karnitin, ilk kez 1905 yılında hayvan kaslarından izole edilmiş ve kimyasal yapısı 1927'de belirlenmiştir (157). Karnitin yapı olarak amino asitlere benzeyen ancak hiçbir proteinin yapısına girmediği için gerçek bir amino asit kabul edilmeyen, kuaterner bir amindir (157). Onal A ve ark.'nın, L-karnitin, renal iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu etkisini gösteren bir çalışmaları vardır (158). L-karnitin, karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında ve myokardial iskemi-reperfüzyon hasarında da koruyucu etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (159,160). Ayrıca, L-karnitin, spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında nöroprotektif etkisi de vardır (161).

Ancak, L-karnitin, aortik iskemi-reperfüzyon modelinde, uzak organ hasarı ve damar endotelinde oluşan değişikliklere olan etkisi henüz araştırılmamıştır. L-karnitin, bu modelde iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi ortaya konabilirse, infrarenal aortaya kros klemp uygulanan abdominal aort anevrizması operasyonlarında, reperfüzyonun akciğer hasarı ve alt ekstremitede endotel hasarının önlenmesine katkıda bulunulabilir.

L-karnitin'in, memeli dokularında uzun zincirli yağ asitlerinin sitoplazmadan oksidasyona uğradıkları yer olan mitokondrilere taşınmasında rol oynayan biyolojik bir maddedir (162). Besinler ATP'ye dönmek üzere mitokondri içine taşınırlar. Mitokondri besin maddelerini alıp içinde bulunan enzimler yardımı ile onları metabolize ederek enerji oluşturur (163). İskemik koşullarda mitokondriyal enerji üretimi yavaşlamakla birlikte, ATP üretimi için temel kaynak olarak kalmaktadır (164). Kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonları karnitinden bağımsız olarak oluşabildiği halde, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonu ancak karnitin varlığında gerçekleşebilmektedir. Çünkü mitokondrinin iç membranı uzun zincirli yağ asitlerine karşı geçirgen olmayan bir bariyerdir, bu bariyeri ancak karnitinle birleşerek geçebilir. Yağ asitlerinin dışında, dallı zincirli aminoasitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında da karnitin yardımcı rolü vardır.(163)

İskemik dokularda karnitin rezervi hızla tükenir ve uzun zincirli yağ asitleri okside edilemez, trigliserid sentezi artar, bunun sonucunda da uzun zincirli açıl-CoA ve uzun zincirli açıl karnitin esterleri birikir. Çeşitli deneysel iskemi modellerinde, karnitin ile mitokondrilerin metabolik hızı arttırılarak oksijen kullanımının arttığı gösterilmiştir. Doku karnitin seviyesinin normale yükseltilmesiyle uzun zincirli açıl-CoA'dan açıl grupları ayrılarak intramitokondriyal açıl-CoA miktarı normale düşürülür ve yüksek açıl-CoA seviyelerinin getirdiği olumsuz etkiler geri çevrilir. Ayrıca aerobik pirüvat metabolizması uyarılar pirüvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır; bu şekilde hücre içi laktik asid birikime de önlenir. Bunlara ek olarak karnitin serbest radikal üretimini durdurur ve sonuçta hücrel hasar azaltılmış olur(163-164-165)

YÖNTEM VE GEREÇLER

Etik kurul: 12.05.2005 tarihli 09 Toplantı Sayılı Etik Kurul Onayı Alınmıştır.

Toplam 40 adet, Winstar-Albino cinsi rat, eşit sayıda (n = 8) ve rast gele olarak dört deney grubundan birine dahil edildi.

Grup 1: sham laparotomi (kontrol) grubu

Grup 2: sham laparotomi + L-karnitin

Grup 3: aortik iskemi-reperfüzyon

Grup 4: aortik iskemi-reperfüzyon + L-karnitin

Tüm ratlara, uygun asepsi ve anestezi sonrası, Göbek üstü ve altı median insizyonla laparotomi yapıldı barsaklar eksplore edilecek iliak arterin tersi yönünde devie edilerek batın içinde kalacak şekilde ekarte edildi. Barsaklar kurumaması için zaman zaman serum fizyolojik ile ıslatıldı. Abdominal aorta disseke edilerek serbestleştirdi ve 2/0 polyglactin 910 ile dönülerek kontrol altına alındı. İnfrarenal abdominal aortalarına uygulanan klemp ile 120 dakikalık oklüzyon periyodu yaratıldı. Ardından klemp açılarak 120 dakikalık reperfüzyon periyodu yaratıldı. İskemi-reperfüzyon periyodları sonrası, tüm ratlar sakrifiye edildi, akciğerleri, parafine yatırılarak 5µ'luk kesitler yapılarak Hematoksilen Eosin boyasıyla boyandı ve ışık mikroskobu ile incelendi.İskemi reperfüzyon hasarı göstergeleri için kan alındı.

Bu araştırmada ilaçsız dönem deney'in başlangıcı olarak kabul edildi.Tüm deney hayvanlarına intravenöz yolla ketamin hidroklorid (Ketalar 50/mg flakon, Parke-Davis, USA) 50 mg/kg verilerek uyutuldu.Ardından deney protokolüne göre ilaç uygulandı ve deney gerçekleştirildi. Deney'in gerçekleştirilmesinin ardından tüm ratlar sakrifiye edildi ve deney tamamlandı.

Rat'tan alınan kanlar oda sıcaklığında yarım saat bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika çevrilerek eritrositlerden ayrılan plazma -70 derecede saklandı.

DENEY HAYVANLARI

Ağırlıkları 300-400 gram arasında değişen erkek toplam 32 adet Winstar-Albino cinsi rat kullanıldı. Ameliyattan önce intra müküler yolla ketamin hidroklorid (Ketalar 50 mg/ml flakan, Parke-Davis, USA) 5mg/kg verilerek uyutuldu.

DENEY PROTOKOLÜ

Ameliyattan önce eşit sayıda (n=8) ve rastgele dört deney grubundan birine dahil edildi:

Grup 1: sham laparotomi (kontrol) grubu

Grup 2: sham laparotomi + Lkarnitin

Grup 3: aortik iskemi-reperfüzyon

Grup 4: aortik iskemi-reperfüzyon + L-karnitin

Tüm ratlara, uygun asepsi ve anestezi sonrası, laparotomi yapıldı. İşlem boyunca ratlar solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uyutuldu. Anestezi sonrası batın yaklaşık dört cm'lik orta hat insizyonla ksifoidin hemen altından pubis'in yarım cm üzerine kadar açıldı. Sadece 1. Gruptaki (SHAM Laparotomi-Kontrol Grubu) ratlar'da batın açılıp abdominal aorta eksplore edildikten sonra hiçbir girişim yapılmadan tekrar 4/0 atravmatik sütür ile kapatıldı (n=8) İnfrarenal abdominal aortalarına uygulanan klemp ile 120 dakikalık oklüzyon periyodu oluşturuldu. Ardından klemp açılarak 120 dakikalık reperfüzyon periyodu oluşturuldu. İskemi-reperfüzyon periyodları sonrası, tüm ratlar sakrifiye edildi, akciğerleri, çıkartıldı. Grup 2 ise aynı işlem uygulandı ve beraberinde kuyruk veninden 200 mg/kg L-Karnitin perfüze edildi.(n=8) Grup 3 te ise uygun protokolün ardından abdominal aorta 120 dakikalık iskemi periyodunun ardından 120 dakikalık reperfüzyon periyoduna tabii tutuldu.(n=8) Grup 4 ise iskemi reperfüzyon dönemlerine tabi tutuldular ve iskemi periyodunda 200 mg/kg L-karnitin kuyruk veninden enfüze edildi.(n=8)

BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

İskemi-reperfüzyon hasarı göstergesi olarak; malondialdehyde (MDA), düzeyleri ve. endotelde iskemi-reperfüzyon hasarı göstergesi olarak, adhezyon

molekülleri (VCAM, ICAM ve P-selektin) değerleri biyokimya bölümü tarafından ölçüldü.

MDA: Analiz için thermo Finnigan HLPC cihazı kullanıldı. Çalışma metodu olarak MDA HLPC metodu (Immundiagnostik Serum/ Plazma MDA kiti)'na uyarak çalışılmıştır.

Tablo 5: Kan MDA düzeyleri.(mikromol/L)

Fare	KONTROL	AIR	KARNİTİN+KONTROL	KARNİTİN+AIR
1	0,680	0,884	0,680	0,714
2	0664	0,952	0,850	0,272
3	0,510	1,088	0,340	0,650
4	1,02	-	0,918	0,204
5	1,02	0,748	0,884	0,544
6	-	-	0,340	0,680
7	-	0,918	0,544	0,782
8	0,918	0,884	0,612	0,306

ICAM(INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE1):

Eliza yöntemi ile rat spesifik R&D Systems Quantikine ® kiti kullanılarak 450 nanom dalgo boyu kullanılarak plazmada çalışılmıştır. Katalog no:RIC100

Tablo 6: Kan ICAM düzeyleri.(pikog/ml)

fare	KONTROL	AIR	KARNİTİN+KONTROL	KARNİTİN+AIR
1	23200	31415	24575	19098
2	28693	23567	17448	20442
3	18071	21031	21777	23335
4	15555	24013	25463	19844
5	19438	30671	33913	-
6	23078	24402	27030	21272
7	18182	24629	19180	19371
8	18991	36343	22652	20591

VCAM(VASCULAR CELL ADHESION MOLECULE-1):

Eliza yöntemi ile rat spesifik R&D Systems Quantikine ® kiti kullanılarak 450 nanom dalgo boyu kullanılarak plazmada çalışılmıştır. Katalog no.MVC00

Tablo 7: Kan VCAM düzeyleri.(nanog/ml)

Fare	KONTROL	AIR	KARNİTİN+KONTROL	KARNİTİN+AIR
1	8,25	14,35	7,7	3,95
2	5,5	-	3	4,3
3	5,95	19,9	2,45	4,36
4	2,75	38,15	2,75	5,3
5	7,85	20,05	2,95	4,85
6	4,45	62,85	4,35	5,25
7	2,35	72,45	3,95	-
8	3,1	22,75	5,05	6,7

P-SELECTİN: Lökosit adhezyon molekülleri ailesinden olan CD62P veya GMP-140 olarak bilinen bir adhezyon molekülüdür. Eliza yöntemi ile rat spesifik R&D Systems Quantikine ® kiti kullanılarak 450 nanom dalga boyu kullanılarak plazmada çalışılmıştır. Katalog no:MPS00

Tablo 8: Kan P-SELECTİN düzeyleri.(nanog/ml)

Fare	KONTROL	AIR	KARNİTİN+KONTROL	KARNİTİN+AIR
1	2,25	1,20	12,85	20,8
2	2,75	15,20	10,9	3,5
3	11,85	5,45	-	2,35
4	2,35	4,70	7,80	2,75
5	2,35	14	14	3,9
6	1,55	2	0,85	2,35
7	12,45	24,95	10,9	3,5
8	-	4,30	4,25	4,7

PATOLOJİK ANALİZLER

DOKU İNCELEMELERİ

Rat'ların AC biyosileri ayrı ayrı Formalin solüsyonunda fiske(tesbit) edilip parafine yatırıldı 5mikrometrelik'luk kesitler yapılarak Hematoksilen Eosin boyasıyla boyandı ve ışık mikroskobu ile incelendi.Tüm örnekler deney gruplarından habersiz aynı patolog tarafından değerlendirildi. Her örnekte en az iki farklı kesit incelendi. AC hasarı kesitlerde saptanan konjesyon, inflamatuvar infiltrasyon, hemoraji ve intraalveolar makrofaj'a göre aşağıdaki skalaya uygun olarak semikantitatif olarak skorlandı. (15, 126, 127)

Skorlama sistemi:

0: Değişiklik yok

1: Fokal , hafif değişiklikler

2: Multifokal belirgin değişiklikler

3: Yaygın belirgin değişiklikler

Grup 1: Kontrol

Grup 2. AIR

Grup 3: karnitin + kontrol

Grup 4: karnitin + AIR

Tablo 9: Ac patolojik parametreleri

grup	konjesyon	İnflamatuvar infiltrasyon	hemoraji	İntraalveolar makrofaj	AC hasar skoru
G1.1	1	1	1	0	3
G1.2	1	2	1	0	4
G1.3	2	1	1	1	5
G1.4	1	1	2	0	4
G1.5	1	2	2	0	5
G1.6	2	2	2	1	7
G1.7	1	2	1	0	4
G1.8	1	1	1	0	3
G2.1	2	2	2	1	7
G2.2	2	2	3	1	8
G2.3	2	2	1	1	6
G2.4	2	2	3	1	8
G2.5	2	2	2	1	7
G2.6	2	2	2	1	7
G2.7	2	2	2	0	6
G2.8	2	2	3	1	8
G3.1	1	1	1	0	3
G3.2	2	1	1	0	4
G3.3	1	1	0	0	2
G3.4	1	1	1	1	4
G3.5	1	1	1	0	3
G3.6	1	1	1	1	4
G3.7	1	1	1	0	3
G3.8	1	1	1	0	3
G4.1	2	2	1	0	5
G4.2	1	2	1	0	4
G4.3	2	2	2	0	6
G4.4	1	1	1	0	3
G4.5	2	2	1	0	5
G4.6	2	2	1	0	5
G4.7	2	1	0	0	3
G4.8	1	1	2	1	5

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistik analiz, SPSS 13.0 (SPPS Inc., California, IL, USA) bilgisayar programı ile yapıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde belirtildi. Tüm gruplar arasındaki farkların belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi, iki grubun arasındaki farkın belirlenmesinde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değerinin 0.05'e eşit ya da küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BİYOKİMYA

KRUSKAL-WALLİS TESTİ

DEĞERLER

Tablo 11:VCAM değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	13,31
2	7	27,00
3	8	9,00
4	7	13,93
TOPLAM	30	

Tablo 12:P-SELECTİN değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	7	10,64
2	7	19,14
3	7	17,79
4	8	12,15
TOPLAM	29	

Tablo 13:MDA değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEğER
1	6	17,67
2	6	22,00
3	8	12,31
4	8	8,69
TOPLAM	28	

Tablo 14:ICAM değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEğER
1	8	11,50
2	8	24,50
3	8	19,00
4	8	11,00
TOPLAM	32	

Tablo 15: tüm gruplara ait adhezyon moleköl düzeyleri

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4
VCAM	^a 5,02±2,26	^{a,b,c} 35,78±23,13	^c 4,02±1,73	^c 4,95±0,91
P-SELECTİN	5,09±4,83	10,08±8,28	8,79±4,78	5,48±6,24
MDA	0,79±0,21	^{d,e} 0,90±0,11	^d 0,64±0,22	^e 0,51±0,22
ICAM	^f 20651,31±4140,47	^{f,g} 27009,21±5195,73	24005,20±5110,83	^g 17998,02±7380,59

- a: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- b: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- c: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- d: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- e: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- f: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- g: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$

VCAM;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) grup 1' deki değerler grup 2' deki değerlerden anlamlı olarak ($p < 0,05$) düşük bulundu.(a)

Grup 1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) grup 1' deki değerler grup 3' deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:13.31 , G4:13.93)

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) grup 2' deki değerler grup 3' deki değerlerden anlamlı olarak ($p < 0,05$) yüksek bulundu.(b)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) grup 2' deki değerler grup 4' deki değerlerden anlamlı olarak ($p < 0,05$) yüksek bulundu.(c)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) grup 3' deki değerler grup 4' deki değerlerden düşük bulundu.

P-SELECTİN;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) grup 1' deki değerler grup 2' deki değerlerden düşük bulundu.

Grup 1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) grup 1' deki değerler grup 3' deki değerlerden düşük bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:10.64 , G4:12.75)

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) değerler birbirine

yakındı. (G2:19.14 , G3:17.79)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

MDA;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden düşük bulundu.

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(d)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(e)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

ICAM;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak düşük bulundu.(f)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden düşük bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:11.50 , G4:11.00)

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(g)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 3'deki

değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

PATOLOJİ

KRUSKAL-WALLİS TESTİ

DEĞERLER

Tablo 16: KONJESYON değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	11,00
2	8	25,00
3	7	11,29
4	9	17,89
TOPLAM	30	

Tablo 17: İNFLAMATUAR İNFİLTRASYON değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	16,00
2	8	24,00
3	7	8,00
4	9	16,89
TOPLAM	30	

Tablo 18: HEMORAJİ değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	16,56
2	8	25,56
3	7	10,07
4	9	13,39
TOPLAM	30	

Tablo 19:İNTRA ALVEOLAR MAKROFAJ değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	16,00
2	8	24,00
3	7	14,57
4	9	11,78
TOPLAM	30	

Tablo 20:AC HASAR SKORU değerleri

GRUP	N	ORTALAMA DEĞER
1	8	14,56
2	8	27,94
3	7	8,07
4	9	14,61
TOPLAM	30	

Tablo 21: Patrolojik verilerin istatistiksel verileri

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4
KONJESYON	^a 1,12±0,35	^{a,b,c} 2,00±0,00	^{b,d} 1,14±0,37	^{c,d} 1,55±0,52
İNFLAMATUAR İNFİLTRASYON	^{e,f} 1,5±0,53	^{e,g,h} 2,00±0,00	^{f,g,i} 1,00±0,00	^{h,j} 1,55±0,52
HEMORAJİ	^j 1,37±0,51	^{j,k,l} 2,25±0,70	^k 0,85±0,37	^l 1,11±0,60
İNTRA ALVEOLAR MAKROFAJ	^m 0,37±0,51	^{m,n,o} 0,87±0,35	ⁿ 0,28±0,48	^o 0,11±0,33
AC HASAR SKORU	^p 4,37±1,30	^{p,r,s} 7,12±0,83	^r 3,28±0,75	^s 4,33±1,11

- a: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- b: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- c: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- d: grup 3 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- e: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- f: grup 1 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- g: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- h: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- i: grup 3 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- j: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- k: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- l: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- m: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- n: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- o: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- p: grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- r: grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında $p < 0,05$
- s: grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında $p < 0,05$

KONJESYON;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak ($p < 0,05$) düşük bulundu.(a)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:11.00 , G4:11.29)

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) grup 1'deki değerler grup 4'deki değerlerden düşük bulundu.

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(b)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(c)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(d)

İNFLAMATUAR İNFİLTRASYON;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(e)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(f)

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:16.00 , G4:16.89)

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(g)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(h)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(ı)

HEMORAJİ;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(j)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(k)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(l)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 3'deki

değerler grup 4'deki değerlerden düşük bulundu.

İNTRA ALVEOLAR MAKROFAJ;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(m)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(n)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(o)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p<0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden yüksek bulundu.

AC HASAR SKORU;

Grup 1 ile grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 1'deki değerler grup 2'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) düşük bulundu.(p)

Grup1 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) grup 1'deki değerler grup 3'deki değerlerden yüksek bulundu.

Grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) değerler birbirine yakındı. (G1:14.56 , G4:14.61)

Grup 2 ile grup 3 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 3'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(r)

Grup 2 ile grup 4 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) grup 2'deki değerler grup 4'deki değerlerden anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksek bulundu.(s)

Grup 3 ile Grup 4 arasında anlamlı fark saptanmadı ($p<0,05$) grup 3'deki değerler grup 4'deki değerlerden düşük bulundu.

TARTIŞMA

Bu çalışma göstermiştir ki, L-karnitin, aortik iskemi-reperfüzyona bağlı oluşan Ac ve endotel hasarını azaltır. Bu düşüncüyü destekleyen ana bulgular; 1) grup 4'e ait plazma I-CAM ve V-CAM düzeyleri, grup 2'ye ait düzeylere göre anlamlı derecede daha düşük bulundu 2) grup 4'e ait plazma MDA düzeyleri, grup 2'ye ait düzeylere göre anlamlı derecede daha düşük bulundu ve histopatolojik incelemede grup 4'e ait Ac hasar skoru grup 2'ye ait skordan anlamlı derecede daha düşük bulundu.

Akut ekstremitte iskemisini takiben, ekstremitenin yeniden kanlandırılması ve normal dolaşımın sağlanması doku hasarı ve sistemik komplikasyonları birlikte getirir. Kaynaklara göre ölüm oranı %15-52, amputasyon oranı ise %12-22 olarak belirtilmiştir. Cerrahi girişim sonrasında ancak %60-70 olguda tam düzelme sağlanabilmektedir (99). Bu yüksek mortalite ve morbiditenin sebebi, reperfüzyon hasarının etkisiyle ortaya çıkan myonefropatik-metabolik sendromdur. Uzun süre iskemik kalmış ekstremitenin tekrar kanlandırılmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin endotel ve nötrofillerle etkileşerek lipid peroksidasyonunu arttırması, lokal ve sistemik birçok etkinin ortaya çıkmasına neden olur. Hücre şişmesi, ödem, toksin ve myoglobulin salınımı ile beraber serbest oksijen radikallerinin etkisi ile, akut böbrek yetersizliği, akciğer ödemi, erişkin solunum yetersizliği, şok karaciğeri, endotel hasarı gibi sistemik hasarlar gelişebilir (140).

Reperfüzyon hasarı dokunun yeniden oksijen ile karşılaşma sürecinde üretilen toksik serbest oksijen radikallerine bağlı gelişmektedir (141,142). Serbest oksijen radikalleri organizma tarafından bazı temizleyici sistemlerle yok edilmeye çalışılır. Serbest oksijen radikallerinin etkisini önlemede mannitol, allopürinol, askorbik asit, süperoksit dismutaz, pentoksifilin, alfa tokoferol gibi bazı maddeler denenmiştir ve deneysel olarak İR hasarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir (143, 144, 145, 146).

Bu çalışmada antioksidan özelliği bilinen L-Karnitin kullanıldı. L-Karnitin, iskemi başladıktan hemen sonra enfüzyon tarzında deney hayvanlarına uygulanmış, kan ve doku örnekleri alınarak biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Kontrol grubunda ise serum izotonik uygulanmıştır.

Sistemik biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde;1) VCAM, kontrol grubu ile AIR grubunda ; air grubu ile kontrol+L-karnitin grubunda ve AIR grubu ile

AIR+L-karnitin grubu ortalama değerlerinde anlamlı farklılıklar görölmektedir. Bu üç parametre içinden özellikle AIR grubu ile AIR+L-karnitin grupları arasındaki anlamlı fark olması L-karnitin'in endotel hasarı göstergesi olan VCAM'in AIR grubuna göre AIR+L-karnitin grubunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. 2) P-selectin için istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen Kontrol grubundaki değerler AIR grubuna göre düşük ayrıca AIR grubundaki değerler AIR+L_karnitin grubundaki değerlerden daha yüksek çıkmıştır. 3) MDA, serbest oksijen radikallerinin gösterilebilmeleri yaşam sürelerinin çok kısa olmasından dolayı son derece zordur. Özellikle biyolojik serbest oksijen radikallerinin toksik reaksiyonları lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehidin (MDA) gösterilmesine dayanır (168). Rabl ve ark 'nın bir çalışmasında, böbrek transplantasyonu veya ekstremite kurtarma amacıyla revaskülarizasyon uygulanan hastaların plazma MDA düzeyleri, transplantasyon uygulanan hastalarda ortalama %10, revaskülarizasyon uygulanan hastalarda ise ortalama %50 arttığını göstermişlerdir (169). Feng ve ark., tavşanlarda oluşturdukları bir iskemi-reperfüzyon modelinde MDA artışını serbest radikal oluşumuna bağlamışlardır (170). Bu yüzden bu çalışmada reperfüzyon hasarının ortaya konabilmesi için MDA ölçümü yapılmıştır. aralarında istatistiksel olarak anlamlı olmasada kontrol grubu MDA değerleri AIR grubuna göre düşük saptanmıştır. AIR grubu ile kontrol+L-karnitin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış MDA düzeyi AIR grubunda kontrol+L-karnitin grubuna göre yüksek saptanmıştır. MDA düzeyinde L-karnitin'in etkinliği istatistiksel olarak AIR grubu ile AIR+L-karnitin grubunda saptanmıştır. MDA düzeyi istatistiksel olarak AIR grubuna göre AIR+L-karnitin grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu bulgular eşliğinde L-karnitin iskemi-reperfüzyon hasarını azaltır. 4) ICAM kontrol grubu ile AIR grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede AIR grubunda yüksek saptandı ayrıca AIR grubu ile AIR+L-karnitin grubu arasında anlamlı fark saptanmış ICAM AIR+L-karnitin grubunda anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır. L-karnitin'in lipid peroksidasyonunu önlemede etkili olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca p-selectin'de istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmesede diğer adhezyon molekülleri olan ICAM ve VCAM'de özellikle AIR grupları ile AIR+L-karnitin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiş L-karnitin uygulanması iskemi-reperfüzyon hasarında endotel'e yapışan bu iki adhezyon molekülünü istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır.

AC histopatolojik parametreleri değerlendirildiğinde; ekstremitte iskemisini takiben yapılan reperfüzyon sonrasında görülen akciğer hasarı da lipid peroksidasyonu sonrası gelişen toksik maddelerin akciğere olan etkileri sonucudur. Reperfüzyon süresindeki hasarın büyük bölümü, polimorfonükleer lökositlerin inflamatuvar aktivitesiyle açıklanabilir. Akciğerdeki hasarlanma reperfüzyonun 30-45. dakikalarında başlar. Bu erken etkilerin nötrofil aktivasyonu sonucu olduğunu bildiren çalışmalar vardır (171). Akciğer hasarlanmasının esas nedeni nötrofillerle endotelin etkileşmesi sonucu gelişen daha önce açıkladığımız olaylar zinciridir. Bulgulanımız, Faust (172) Feller (173) ve VVeiss (174),'ın bulgularıyla uyumludur. Parametreler ayrı ayrı değerlendirildiğinde .Konjesyon; kontrol grubuna göre AIR grubunda anlamlı düzeyde yüksek ayrıca AIR grubuna göre AIR+L-karnitin grubunda konjesyon anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır.İnflamatuvar infiltrasyon kontrol grubuna göre AIR grubunda anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ayrıca AIR grubuna göre AIR+L-karnitin grubunda inflamatur infiltrasyon anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır.Hemoraji kontrol grubuna göre AIR grubunda hemoraji anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ayrıca AIR grubunda AIR+L-karnitin grubuna göre hemoraji anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.İntra alveolar makrofaj kontrol grubuna göre AIR grubunda anlamlı düzeyde yüksek saptanmış ayrıca AIR grubunda hemoraji AIR+L-karnitin grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Bütün bu parametrelerin ışığında hazırlanan semikantitatif AC hasar skoru'na göre kontrol grubuna göre AC hasar skoru AIR grubunda anlamlı düzeyde yüksek ve kullanmış olduğumuz L-karnitin'in etkinliği'nin göstergesi olan AIR grubu ile AIR+L-Karnitin grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. AC hasar skoru AIR grubuna göre AIR+L-karnitin grubunda istatiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu sonuçlara göre L-karnitin iskemi-reperfüzyon sonrası oluşan AC hasarını engellemede etkinliği gösterilmiştir.

Bilindiği gibi serbest oksijen radikalleri meydana geldikten sonra mikrosaniyeler içinde yok olmaktadır. Ancak bir serbest oksijen radikali, bir atom veya molekül ile karşılaştığında zincirleme çekirdeksel reaksiyonlara benzer etkilerle yeni serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir. Böylece oluştuğu yerde etkili mesafesi son derece kısa olan serbest oksijen radikali, bu zincirleme reaksiyonlarla daha uzakta ve sistemik etkiler de oluşturabilmektedir.

Serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşı hücreler doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlamaya yeteneklidirler. Bu hücre koruyucu mekanizmalar oksijen radikallerini gidermek ve detoksifiye etmek üzere düzenlenmiş birkaç enzim sistemini içerirler. Ancak bu savunma sistemleri yetersiz kalınca, serbest oksijen radikalleri zararlı etkiler yapabilirler.

Serbest oksijen radikali temizleyicilerinin deneysel ve klinik kullanımının etkinliğini gösteren çalışmalardan özellikle anlaşılan, antioksidanların reperfüzyon başlamadan önce uygulanmasıdır (175, 176, 177).

SONUÇ

İskemi reperfuzyon (İR) hasarının mekanizmasının tam olarak anlaşılması hasarın çabuk ve en uygun bir şekilde önlenmesini sağlayacaktır. Klinikte uygulanabilecek stratejilerin geliştirilmesi için klinik olarak uygulanan tedavinin etkinliğinin doğru bir şekilde ölçülmesi gerekmektedir. Hayvan laboratuvarında intakt ekstremitelerde mikrovasküler hasarın ve doku hasarının morfolojik, biyokimyasal olarak ortaya konabilmesi halen sorun yaratmaktadır. Reperfuzyon hasarını önleyebilecek yöntemlerin geliştirilmesi öncelikle hasarın yoğunluğunun ekstremitelerde tedavi etkinliğinin gösterilmesi ile mümkün olacaktır. Doğal olarak özellikle alt ekstremitelerde İR hasarının oluşumunun azalması için önemli olan erken tanı ve mümkün olduğunca erken revaskülarizasyonun sağlanmasıdır.

L-Karnitin'in deneysel modelimizde iskemi-reperfuzyon hasarının sistemik-lokal etkilerini engellemede etkili olduğu görülmüştür.

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, akut arter tıkanıklığına yönelik akımın tekrar oluşturulması sonrası oluşabilecek lokal ve sistemik etkilerin azaltılmasında L-Karnitin'in profilaktik olarak kullanımının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Fizyopatolojik olarak reperfüzyondan sonra serbest oksijen radikallerinin hücre membranında yaptığı lipoperoksidasyon sonucu oluşan doku hasarı, rekonstrüktif vasküler cerrahide önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Farmakoterapötik olarak antioksidan veya vazodilatatör ajanlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda reperfüzyon hasarını önlemede L-Karnitin'in etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma için 4 grupta (n=8) toplam 32 sıçan (300-400 gr.) kullanıldı. Ketamin anestezisi ile sıçanlar uyutulduktan sonra anestezi idamesi subcutan ketamine ile sağlandı. Laprotominin ardından sıçanlar'ın abdominal aortaları disseke edildi. Kontrol grubuna (grup 1) klemp konmadı ve kuyruk veninden 0,1-0,2 cc serum fizyolojik uygulandı. AIR grubunda (grup 2) mikrovasküler klemp ile 2 saatlik iskemi periyodunu takiben 2 satlik reperfüzyon periyodu uygulandı. Kontrol+L-karnitin grubuna (grup 3) klemp konmadan L-karnitin uygulandı (200mg/kg). AIR+L-karnitin grubuna (grup 4) mikrovasküler klemp ile 2 saatlik iskemi periyodunu takiben 2 satlik reperfüzyon periyodu uygulandı iskemi başlangıcından ve reperfüzyon sonuna kadar 4 saat boyunca L-karnitin uygulandı. Alınan kan örneğinden MDA(malondialdehid), ICAM, VCAM ve P-selectin bakıldı ayrıca Akciğerleri histopatolojik olarak ışık mikroskop'u ile değerlendirildi. MDA düzeyi AIR grubunda AIR+L-karnitin grubuna gere anlamlı yüksek bulundu. VCAM düzeyi AIR grubunda AIR+L-karnitin grubuna gere anlamlı yüksek bulundu. ICAM düzeyi AIR grubunda AIR+L-karnitin grubuna gere anlamlı yüksek bulundu Reperfüzyonda L-karnitin tedavisi ile MDA, VCAM ve ICAM düzeylerinin düştüğü ve histopatolojik incelemede L-karnitin tedavisi ile AC hasarı nın azaldığı görüldü. Sonuç olarak L-Karnitin iskemi repürfüzyon'a bağlı Ac ve endotel hasarını azaltır.

Anahtar Kelimeler: İskemi-reperfüzyon hasarı, L-Karnitin

SUMMARY

Physiopathologically tissue damage as a consequence of ischemia- reperfusion insult, cell wall lipid peroxidation caused by free oxygen radicals continues to be a formidable challenge for the vascular surgeons. Antioxidants and vasodilator agents are used as pharmacotherapy. In this study L-carnitine was used as an antioxidant that has a direct effect on radicals. At the four groups (n=8) total 32 rats (300-400gm) were used. Rats were anaesthetized with intramuscular ketamine and anesthesia was continued with subcutan ketamine injections. After laparotomy rat's abdominal aorta were dissected. In control group (group 1) no clamping was applied and 0,2 cc serum physiologic were infused through tail vein. In AIR group (group 2) 2 hours ischemia with microvascular clamp and 2 hours reperfusion were applied. In control+L-carnitine group (group3) L-carnitine was infused (200mg/kg) for four hours. In AIR+L-carnitine group (group 4) L-carnitine was infused (200mg/kg) for four hours from beginning the ischemia period applied with microvascular clamp to end of the reperfusion period. Rats were sacrificed. Blood samples were taken for MDA, ICAM, VCAM and P-selectin measurements and lung tissues were taken for pathologic investigation with light microscopy. Blood MDA levels in the AIR group were significantly higher than those in the AIR+L-carnitine group. Blood VCAM levels in the AIR group were significantly higher than those in the AIR+L-carnitine group. Blood ICAM levels in the AIR group were significantly higher than those in the AIR+L-carnitine group. After L-carnitine therapy blood MDA, VCAM and ICAM levels were decreased in reperfusion. And in histopathologic investigation after L-carnitine therapy lung tissue damage were decreased in reperfusion. In conclusion L-carnitine decreases lung and endothelium damage due to aortic ischemia-reperfusion.

Keywords: ischemia-reperfusion injury, L-carnitine.

KAYNAKLAR

- 1- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Cellular injury and cellular death. In: Schoen FJ, ed. Pathologic basis of disease, 5 th ed. London ; WB Saunders, p. 1-34, 1994.
- 2- Kehrer JP, Smith CV: Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In: FREI B.Editor. Natural antioxidants in human health and disease. San Diego: Academic Press 1994; 25-62.
- 3- Halliwell B: Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidants intake in humans. Free Rad. Res 1996, 25: 57-74.
- 4- Nakazawa H, Genka C, Fujishima M: Pathological aspects of active oxygens/free radicals. Japan J Physiol 1996; 46:15-32.
- 5- Ufuk E: Deferoksaminin iskemik deri fleplerinde serbest oksijen radikali hasarını önleyici etkisi, vazodilatasyonun rolü. Uzmanlık tezi, İstanbul, 1992
- 6- Freeman BA, Crapo JD: Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47:412-26.
- 7- Sen CK. Oxidants and Antioxidants in Exercise. *American Ohysiological Society* 675- 686,1995.
- 8- Uysal M: Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim 1998; 11:336-41.
- 9- Champee P, Harvey RA. Biochemistry From Lippincott's Illustrated reviews 1997.
- 10- Akkus İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. I.Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
- 11- Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE and Putreli JE: Free radicals: Basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 990-7.
- 12*10- White, MJ and Heckler, FR: Oxygen free radicals and wound healing. *Clin Plast Surg* 1990; 17:473-84.
- 13-Yalçın AS: Antioksidanlar. *Klin Geliş.* 1998; 11: 342-6.
- 14- Andersson CM, Hallberg A, Högberg T: Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv Drug Res* 1996; 28:65-180.

- 15- Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Klin Nu.tr* 53(4): 1 061 -1063, 1991.
- 16- Sinclair AJ, Barnett AH, Eunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp M* 43(5):334-44,1990.
- 17- Bulkly GB. The Role Of Oxygen Free Radicals in Human Disease Processes. *Surgery* 94:407,1983.
- 18- Hallivvell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol* 186:1-85,1990.
- 19- Erden M, Yüce K, Kiper H, Çolak Ö, Alatas Ö. Böbrek transplantasyonunda lipid peroksit redükte glutasyon ve glutasyon enzim, aktivitelerinin araştırılması. *T J Med. Sci* 15:1-7,1991.
- 20- Akyol Ö, İşçi N, Temel İ, et al. The relationship between plasma and erythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 68:31 1-7,2001.
- 21- Erden M. Serbest radikaller . *T Klin Tıp Bilimleri* 12:201-206,1992.
- 22- Mason RP, et al. Free radical reaction with DNA and İts nucleotides. *Basic Life Sci* 121:338-43,1990.
- 23- Biekalski HK, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey F, Hundsdörfer G, Kasper H: Consensus statement: Antioxidant vitamins in prevention. *Clin Nutr* 1997; 16:151-5.
- 24- Yu BP: Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74:139-62
- 25- Fridovich I: Superojdde dismutases. *Adv Enzymol* 1986; 58: 61-64.
- 26- Seven A, Candan G: Antioxidant defense systems. *Cerrahpaşa J Med* 1996; 27: 41-50.
- 27- Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JV: *Vascular Surgery*. Fourth EditionS514, 1996.
- 28- Benichoux R: Metabolic acidosis following regional circulatory arrest: treatment by THAM, hyperventilation and hyperbaric oxygen. *J Cardiovasc Surg* 1973; 15:573.

- 29- Blesdell GS, Steele M, Ailen RE: Management of of acute lower extremity arterial ischemia due to embolism and thrombosis. *Surgery* 1990; 95:822.
- 30- Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JV: *Vascular Surgery*. Fourth Edition S516, 1996.
- 31- Rutherford RB: Acute limb ischemia: clinical assessment and standarts for reporting. *Semin Vasc Surg* 1992; 5:4-10.
- 32- Harris K, Walker PM: Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986;250:213.
- 33- Haimovici H: Muscular, renal and metabolic compliacations of acute arterial occlusions: myelonephroathic-metabolic syndrome. *Surgery* 1979; 85:451.
- 34- Haimovici H: Myonephroathic-metabolic syndrome. Key adress to the XVII. japanese Cardiovascular Surgery Congress, Tokyo, 1987.
- 35- Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JV: *Vascular Surgery* Fourth Edition S517, 1996.
- 36- Harris K, Walker P et al: Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986;250(19):213-20.
- 37-Suwal WD, Hobson RW et al: Assesment of ischemia reperfusion injury in skeletal muscle by macromolecular clearance. *J Surg Res* 1987; 42: 550-9.
- 38- Suwal WD, Duran WN et al: Microvascular transport and endothelial cell alterations precede skeletal muscle damage in ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 1987; 154:211-8.
- 39- McCord, JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312:159.
- 40- Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255: 1269.
- 41-Haiomvici H: *Skeletal Muscle ischemia-reperfusion injury* .Fourth Edition 1996; S519.
- 42*34- Furchgott RF, Vanhoutte PM: Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB j* 1989; 3:2007-18.

- 43- Ignarro LJ, Bryns RE, Wood KS: Endothelium-dependent modulation of cyclic GMP levels and intrinsic smooth muscle tone in isolated bovine intrapulmonary artery and vein. *Circ Res* 1987; 60:82-92.
- 44- Rosenberg RD, Rosenberg JS: Natural anticoagulant mechanisms. *J Clin Invest* 1984; 74:1-5.
- 45- Esmon CT, Owen WG: Identification of an endothelial cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein. *Proc Soc Natl Acad Sci* 1981; 78: 2249-52.
- 46- Rees R, Smith D, Ly TD, Cashmer B, Gamer W, Punch J, Smith DJ: The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. *J Surg Res* 56 1994, 162-167..
- 47- Smith JK, Grisham GB et al: Free radical defense mechanisms and neutrophil infiltration in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1989; 256:789-793.
- 48- Korthius RJ, Grisham MB, Granger DN: Leucocyte depletion attenuates vascular injury in post-ischemic skeletal muscle, *Am J Physiol* 1989; 254:283-7.
- 49- Breitbard GB, Dillon PK et al: Leukopenia reduces microvascular clearance of macromolecules in ischemia-reperfusion injury. *Curr Surg* 1990; 47:8-12.
- 50- Belkin M, LaMorte WL et al: The role of leucocytes in the pathophysiology of skeletal muscle ischemic injury. *J Vasc Surg* 1989; 10:14-9.
- 51- Kubes P, Kvietys PR, Granger DN: Ischemia-reperfusion injury In: Mortillaro NA, Taylor AE, eds *The pathophysiology of the microcirculation* Boca Raton, Fla: CRC press, 1994
- 52- Ferrante RJ, Silva MB et al: Inhibition of leucocyte adhesion at reperfusion decreases tissue damage in postischemic skeletal muscle. *Surg Forum* 1993; 44: 367-9.
- 53- Ley K, Gaehtgens P: Lectin-like cell adhesion molecule 1 mediates leucocyte rolling in mesenteric venules in vivo. *Blood* 1991; 77:2553.
- 54- Lawrence MB, Springer TA: Leucocytes roll on a selection at physiologic flow rates distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell* 1991; 65:859.
- 55- Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Modulation of PAF-induced leukocyte adherence and increased microvascular permeability. *Am J Physiol* 1990; 259:859.

- 56- Yasuhara H, Hobson RW II et al: A new model for studying ischemia-reperfusion injury in the hamster cheek pouch. *Am J Physiol* 1991; 261:1626-9.
- 57- Hernandez LA, Grisham MB ve ark: Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987 253:699.
- 58- Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Platelet-activating factor-induced microvascular dysfunction: the role of adherent leukocytes. *Am J Physiol* 1990; 258:158.
- 59- Duran WN, Suval WD ve ark: Microcirculatory dysfunction in the pathophysiology of skeletal muscle ischemia in: Veith FJ, Hobson RW *Vascular Surgery: principles and practice* New York:McGraw-Hill, 1993
- 60- Filep J, Herman F et al: Increased levels of platelet activating factor in blood following intestinal ischemia in the dog. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 158:353.
- 61- Urbaniak JR, Seaber AV, Chen LE: Assessment of ischemia and reperfusion injury. *Clin Ortho relat Res* 1997;334: 30-36.
- 62- Fink MP. Shock, İn: Rippe JM, İrwin RS, Alpert JS, Fink MP (eds). *İntensive Care Medicine*. Little, Braun And Company, Boston, 1417-1434, 1991.
- 63- Shires III GT, Shires GT, Carrico CJ. Shock, in: Schvvartz SI, Shires Gt, Spencer FC (eds). *Principles of Surgery*. 6thed. New York , McGraw-Hill, 119-144, 1994.
- 64- Çakmakçı M, Sayek İ. Sok. Sayek İ (ed). *Temel Cerrahi, II.Baskı*. Ankara: Güneş Kitabevi 118-140,1996.
- 65- Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 81:637-647,1994.
- 66- Katzenstein AA, Askin FB. Diffuse alveolar damage, in: Bennington JL (ed). *Surgical Pathology of Non-neoplastic Lung Disease*. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 9-42, 1982.
- 67- Katzenstein AL, Myers JL, Mazur MT. Acute interstitial pneumonia. A clinicopathologic, ultrastructural and cell kinetic study. *Am J Surg Pathol* 10(4):256-257,1986.
- 68- Simon R, Ward P. Acute respiratory distress syndrome, in: Gallin JI, Goldstein İM, Synderman R (eds). *İnflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. 2nd ed. New York, Raven Press, 999-1016, 1992.

- 69- Churg A, Golden J, Fligiel S, et al. Bronchopulmonary dysplasia in the adult. *Am Rev Respir Dis* 127:117-120,1983.
- 70- Yazdy A, Tomaszefski J, Yağan R, et al. Regional alveolar damage (RAD): A localized counterpart of diffuse alveolar damage. *Am J Clin Pathol* 92:10-14,1989.
- 71- Pietra G, Ruttner J, Wust W, et al. The lung after trauma and shock: Fine structure of the alveolar capillary barrier in 23 autopsies. *J Trauma* 21:454-462,1981.
- 72- Schnells G, Voight W, Riedl H, et al. Electron microscopic investigation of lung biopsies in patients with post-traumatic respiratory insufficiency. *Acta Chir Scand Suppl* 499:9-20,1980.
- 73- Holter J, Weiland J, Pacht E, et al. Protein permeability in the adult respiratory distress syndrome: Loss of size selectivity of the alveolar epithelium. *J Clin Invest* 78:1513-1522.
- 74- Petty TL, Reis OK, Paul GW, et al. Characteristics of pulmonary surfactant in adult respiratory distress syndrome associated with trauma and shock. *Am Rev Respir Dis* 115:531-536,1977.
- 75- Aronsen EL, Shannon JM. Epithelial injury and repair, in: Ewans T W, Haslett C (eds). ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome in Adults. London, Chapman & Hall, 197-312, 1996.
- 76- Holm B, Enhorning G, Notter R. A biophysical mechanism by which plasma proteins inhibit lung surfactant activity. *Chem Phys Lipids* 49:49-55,1998.
- 77- Evans M, Cabral L, Stephens R, et al. Renewal of alveolar epithelium in the rat following exposure to NO₂. *Am J Pathol* 70:175-198,1973.
- 78- Adamson T, Bowden D. The type 2 cell as progenitor of alveolar epithelial regeneration. *Lab Invest* 30:35-42,1974.
- 79- Bachofen M, Wiebel E. Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 3:35-56,1982.
- 80- Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y, et al. The role of intra-alveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodelling in patients with diffuse alveolar damage. *Am J Pathol* 126:171-182,1987.

- 81- Smith L, Brody J. Influence of methylprednisolone on mouse alveolar type 2 cell response to acute lung injury. *Am Rev Respir Dis* 123:459-464,1981.
- 82- Clark L. The commonality of cutaneous wound repair and lung injury. *Chest* 99:57-60,1991.
- 83- Snyder L, Hertz M, Harmon K, et al. Failure of lung repair following acute lung injury: Regulation of the fibroproliferative response (part 2) *Chest* 98:989-993,1990.
- 84- Spencer H. Chronic interstitial pneumonia, in: Liebow AA, Smith DE (eds). *The lung*. Baltimore: Williams & Wilkins, 134-150, 1968.
- 85- Kobashi Y, Manabe T. The fibrosing process in so-called organised diffuse alveolar damage. *Virchows Archiv (A)* 422:47-52,1993.
- 86- Hasleton P. Adult respiratory distress syndrome, in: *Spencer's Pathology of the Lung*. 5* ed. New York, McGraw-Hill, 375-399, 1996.
- 87- Meduri G. Late adult respiratory distress syndrome. *New Horiz* 1:563-577,1993.
- 88- Burkhardt A. Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 140:513-524,1989.
- 89- Montgomery AB, Stager MA, Carrico C J, et al. Causes of mortality in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 132:485,1985.
- 90- Sakuma T, Pittet JF, Jayr C, et al. Alveolar liquid and protein clearance in the absence of blood flow or ventilation in sheep. *J Appl Physiol* 74:176,1993.
- 91- Malazgirt Z. Şok. Özkan K, Özen N, Malazgirt Z (eds). *Asistan ve Uzmanlar için yeni görüş ve ek bilgilerle Genel Cerrahi Ders Kitabı*, 1. Baskı. Ankara: Feryal matbaası, 35-55, 1996.
- 92- Peruzzi W, Garner W, Bools J, et al. Portable chest roentgenography and computed tomography in critically ill patients. *Chest* 93:727,1988.
- 93- Maunder BJ, Shuman WP, McHugh JW, et al. Preservation of normal lung regions in the adult respiratory distress syndrome: Analysis by computed tomography. *JAMA* 255:2463,1986.

- 94- Katzenstein ALA, Askin FB. Acute lung injury patterns, in: Bennington JL(ed).Surgical Pathology of Non-neoplastic lung disease. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders, 9-57, 1990.
- 95-.Hogg JC, Katzentein ALA. Pulmonary edema and diffuse alveolar injury, in:Turlbeck WM (ed). Pathology of the lung. New York, Thieme, 1990.
- 96- Arden WA, Yacko MA, Jay M, et al. Scintigraphic evaluation of bacterial translocation during hemorrhagic shock. *J Surg Res* 54:102-106,1993.
- 97- LaRocco MT, Rodriguez LF, Chen C Y, et al. Reevaluation of the linkage between acute hemorrhagic shock and bacterial translocation in the rat. *Circ Shock* 40(3):212-20,1993.
- 98- Abraham E. Physiologic stress and cellular ischemia. *Crit Care Med* 19:613-618J 991.
- 99- Pontoppidan H, Geffin B, Lowenstein E. Acute respiratory failure in the adult. *N Engl J Med* 287:690-806,1972.
- 100- Dantzker DR, Scharf SM. Cardiopulmonary Critical Care. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 41-42, 1998.
- 101- Mentzer SJ, Reilly JJ, DeCamp M, Sugarbaker DJ, Faller DV. Potential mechanism of vasomotor dysregulation after lung transplantation for primary pulmonary hypertension. *J Heart Lung transplant* 14:387-93,1995.
- 102- Deitch EA, Bridges W, Berg R, Specian RD, Granger DN. Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation: the role of neutrophils and hydroxyl radicals. *J Trauma* 30(8):942-51,1990.
- 103- Mueller HW, Nollert MU, Eskin SG. Synthesis of structural analog of platelet activating factor, by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Common* 176: 1557-64,1991 .
- 104-.Köksoy C, Kuzu MA, Ergün H, Gürhan I. Role of tumor necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischemia-reperfusion. *Br J Surg* 88:464-468,2001.
- 105- Halliwell B. Superoxide, iron, vascular endothelium and injury. *Free Radic Res Common* 5:315-18,1989.

- 106- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: Molecular basis of T-cell antigen recognition and activation, "Cellular and Molecular Immunology, 2nd ed." kitabında s.136-64, WB Saunders Company, London (1994).
- 107-. Alattia JR, Tong KI, Takeichi M, Ikura M: Cadherins, *Methods Mol Biol* 2002;172:199-210.
- 108-.Aydıntu AO: Hücre adezyon molekülleri ve immün sistem, *MN Klinik Bilimler* 1995;1:16-21.
- 109-.BarthAI, Nathke IS, Nelson WJ: Cadherins, catenins and APC protein: interplay between cytoskeletal complexes in signalling pathways, *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:683-90.
- 110-.Behrens J: Cadherins as determinantsof tissue morphology and supressorsof invasion, *Acta Anat (Basel)* 1994;149:165-9.
- 111-.Behrens J, Mareel MM, Van Roy F, Brichmeir W: Dissecting tumor cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin mediated cell-cell adhesion, *J Cell Biol* 1998;108:2435-47.
- 112-.D'Andrea G, ColazzioD, Vecchione G et al: Glanzmann's trombasthenia:identification of 19 new mutation in 30 patients, *Thromb Haemost*2002;87:1042-3.
- 113-.Deeths M J, Mescher M F: ICAM-1 and B7-1 provide similar but distinct costimulation forCD8+Tcells, while CD4+ Tcellsare poorly costimulated by ICAM-1, *Eur J Immunol* 1999;29:45-53.
- 114-.Etzioni A: Adhesion molecules-Their role in health and disease, *Ped Res* 1996;39:191-8.
- 115-.Evans RD, Perkins VC, Henry A, Stephens PE, Robinson MK, Watt FM: A tumor associated β 1 integrin mutation that abrogates epithelial differentiation control, *J Cell Biol* 2003;169:589-96.
- 116-.French-Constant J: Alternative splicing of fibronectin, many different proteins but few different functions, *Exp Cell Res* 1995; 2221:261-71.

- 117-.Frenette PS, Denisa D, Wagner DD: Adhesion molecules-Part II, *N Engl J Med* 1996;335:43-5.
- 118-.Frenette PS, Denisa D, Wagner DD: Adhesion molecules-Part I, *N Engl J Med* 1996;334:1527-9.
- 119-.Frixen U, Behrens J, Sachs M et al: E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cell lines, *J Cell Biol* 1991;111:173-85.
- 120-.Galluzzo E, Albi N, Fiorucci S: Involvement of CD44 variant isoform in hyaluronate adhesion by human activated T cells, *Eur J Immunol* 1995;20:2932-9.
- 121-.Hayashi YK, Chou FL, Engvall E et al: Mutation in the integrin alpha-7 gene causes congenital myopathy, *Nature Genet* 1998;19(1):947.
- 122-.Holtfreter J: Significance of the cell membrane in embryonic processes, *Ann NY Acad Sci* 1948;49:709-60.
- 123-.Hynes RO: Integrins, versatility, modulation and signalling in cell adhesion, *Cell* 1992;69:11-25.
- 124-.Hynes RO: Cell adhesion old and new questions, *Trends Cell Biol* 1999;9(12):M33-7.
- 125-.Imura A, Hori T, Imada K: The human OX40/gp34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells, *J Exp Med* 1996;183(5):2185-95.
- 126-.Jung U, Ley K: Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin, *J Immunol* 1999; 162:6755-62.
- 127-.KansasGS: Selectins and their ligands: Current concepts and controversies, *Blood* 1996;88:3259-87.
- 128-.Kemler R: Classical cadherins, *Stem Cell Biol* 1992;3:149-55.
- 129-.Kotovori A, Pessa-Morikawa T, Kotovori P, Nortamo P, Gahmber CG: ICAM-2 and a peptide from its binding domain are efficient activators of leukocyte adhesion and integrin affinity, *J Immunol* 1999;162:6613-20.

- 130-.Landowski TS, Olashaw NE, Agrawal D, Dalton WS: Cell adhesion- mediated drug resistance (CAM-DR) is associated with activation of NF-kappa B (RelB/p50) in myeloma cells, *Oncogene* 2003;22(16):2417-21.
- 131-.Lee SW: H-cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human breast cancer, *Nature Med* 1996;2:776-82.
- 132-.Luscinskas FW, Lawler J: Integrins as dynamic regulators of vascular function, *FASEB J* 1994;8:929-38.
- 133-.MalikAB, Lo SK: Vascular endothelial adhesion molecules and tissueinflammation, *Pharmacol Rev* 1996;48:213-29.
- 134-.Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneeman M,Williams M et al: Junctionaladhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin super family that distributes a tinter cellular junction and modulates monocytemigratin, *J Cell Biol* 1998;142:117-23.
- 135-.NagafuchiA, ShirayoshiY, OkazakiK, YasudaK,TakeichiK: Transformation of cell adhesion properties by exogeneously introduced E-cadherin cDNA, *Nature* 1987;329:341-3.
- 136-1.Ozaki H, Ishii K, Horivchi H, Arai H et al: Combined treatment of TNF and IFN-g causes redistribution of junctional adhesion molecule in human endothelial cells, *J Immunol* 1999;163:553-7.
- 137.OzawaM, Ringwald M, KemlerR.:Uvomorilin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule, *Proc Natl Acad Sci, USA* 1990;87:4246-50.
- 136-.Petty HR, Todd III RF: Integrins as promiscuous signal transduction devices, *Immunol Today* 1996;17:209-11.
- 139-.Pulkkinen L, Uitto J: Mutation analysis and molecular genetics of epidermolysis bullosa, *Matrix Biol* 1999;18(1):29-42.
- 140-.Ren Y, Silverstein RL, Allen T, Savill J: CD36 gene transfer confers capacity for phagocytosis of cells undergoing apoptosis, *J Exp Med* 1995;181:1857-62.

- 141-.Schwartz MA et al: Integrins: emerging paradigms of signal transduction, *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995;11:549-99.
- 142-.Shimizu Y, Rose DM, Ginsber MH: Integrins in the immune system, *Advanc Immunol* 1999;72:325-81.
- 143-Springer TA: Adhesion receptors of the immune system, *Nature* 1990;346:425-34.
- 144-.Steinberg MS: Does differential adhesion govern self-assembly processin histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of ahierarchy among populations of embrionic cells, *J Exp Zool* 1970;173:395-434.
- 145-.Werle-Haller B, Imhof BA: Integrin-dependent pathologies, *J Pathol* 2003;200:481-7.
- 146- Pepine CJ. The Therapeutic Potential of Carnitine in Cardiovascular Disorders. *Clin Ther* 13(1):2-21,1991.
- 147- Coşkun Ö, Öter S. Karnitin (L-Carnitine): Genel Bilgiler ve Egzersiz ile İlişkisi; Fizyolojik ve Morfolojik etkileri. *Eğitimde-Bilimde-Haberde Sağlık* 3(1); 11-22,2001.
- 148- Karayaylalı İ, Güvenç B, Tamer L, ve ark. Kronik hemodializ hastalarında L-Karnitin ilavesinin lipid profili, $Ca^{+2}Mg^{+2}ATPaz$, $Na^{+}K^{+}ATPaz$ ve intrasellüler Ca^{+2} üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 22(3): 152-157, 1997.
- 149- Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Derg* 10(3): 160-167,2004.
- 150- Lango R, Smolenski RT, Narkievicz M, Suchorzewska J, Lysiak-Szydłowska W. Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res* 51(1):21-9,2001.
- 151- Goa KL, Brogden RN. L-Carnitine. *Drugs* 34:1-24,1987.
- 152- Ferrari R, Ceconi C, Curelo S, et al: Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr* 1991;53:215-22

- 153- Shah DM, Bock DE, Darling RC et al: Beneficial effects of hypertonic mannitol in acute ischemia-reperfusion injuries in humans . *Cardiovasc Surg* 1996;4:97-100
- 154- Smeets HJ, Camps J, Van Milligen de Wit AW, et al: Influence of low dose allopurinol on ischemia-reperfusion injury during abdominal aortic surg. *Eur J VascEndovasc Surg* 1995;9:162-9
- 155- Pepine CJ . The therapeutic potential of carnitine in cardiovascular disorders. *Clin Ther* 13(1):2-21, 1991
- 156- Önal A, Astarcioglu H, Örmen M, Atilla K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travama Derg* 10(3):160-167, 2004
- 157- Atila K, Coker A, Sagol O, Coker I, Topalak O, Astarcioglu H, Karademir S, Astarcioglu I. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clin Nutr.* 2002 Aug;21(4):309-13.
- 158- Baetz D, Bernard M, Pinet C, Tamareille S, Chattou S, El Banani H, CoulombeA, FeuvrayD. Different pathways for sodium entry in cardiac cells during ischemia and early reperfusion. *Mol Cell Biochem.*2003Jan;242(1-2):115-20.
- 159- Atila K, Coker A, Sagol O, Coker I, Topalak O, Astarcioglu H, Karademir S, Astarcioglu I. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clin Nutr.* 2002 Aug;21(4):309-13.
- 160- Baetz D, Bernard M, Pinet C, Tamareille S, Chattou S, El Banani H, Coulombe A, Feuvray D. Different pathways for sodium entry in cardiac cells during ischemia and early reperfusion. *Mol Cell Biochem.*2003Jan;242(1-2):115-20.
- 161- Darcin OT, Baktiroglu L, Ozkul Y, Ozardali I, Andac MH. Prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion of adenosine and L-carnitine dissolved in normothermic saline. *Ann Vasc Surg.* 2004 May;18(3):343-8
- 162- Karayaylalı İ, Güvenç B, Tamer L, ve ark. Kronik hemodializ hastalarında L-Karnitin ilavesinin lipid profili, Ca⁺² Mg⁺² ATPaz ve intraselüler Ca⁺² üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi dergisi.* 22(3):152-157, 1997.

- 163- Çoşkun Ö, Öter Ş. Karnitin(L-Carnitine): Genel bilgiler ve Egzersiz ile ilişkisi; Fizyolojik ve Morfolojik etkileri. Eğitimde-Bilimde –Haberde Sağlık 3(1);11-22, 2001.
- 164- Önal A, Astarçioğlu H, Örmən M, Atilla K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. Ulus Travama Derg 10(3):160-167, 2004
- 165- Lango R, Smolenski RT, Narkiewicz M, Suchorzewska J, Lysiak Szydłowska W. Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary by-pass. Cardiovasc Res 51(1):21-9, 2001
- 166- Tassiopoulos AK, Carlin RE, Pedoto A, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. J Vasc Surg 1997;26:647-56
- 167- Conor J. Shields, Desmond C. Winter, Brian J. Manning, et al. Hypertonic Saline Infusion for Pulmonary Injury Due to Ischemia – Reperfusion. Arch. Surg. 2003;138:9-14
- 168- Sonthosu P A, Powis G: Free radicals in medicine chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc 1988; 63:381-9.
- 169- Rabl H, Khoschsorur G, Colombo T, Tatzber F, Esterbauer H: Plasma lipid peroxide levels show a strong transient increase after successful revascularization operations. Free Rad Biol Med 1992; 13:281-8.
- 170- Feng F: Biochemical metabolism and oxygen free radical changes following ischemic and reperfused injured limbs. Chung Hua Waikotsa Chih 1990; 28:693-6.
- 171- Tassiopoulos AK, Hakim TS, Finck CA, et al: Neutrophil sequestration in the lung following acute aortic occlusion starts during ischemia and can be attenuated by tumor necrosis factor and nitric oxide blockade. Eur J Vasc Endovasc Surg 1998, 16: 36-42.
- 172- Faust KB, Chiontella V: Oxygen derived free radical scavengers and skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. The Am Surg 1988; 54:709-18.

- 173- Feller MA, Roth C A: Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury to skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 1989; 22:321-331.
- 174- Weiss AP, Carey LA ve ark: Oxygen radical scavengers improve vascular patency and bone muscle cell survival in an ischemic extremity replant model. *Plast and Reconstr Surg* 1982; 84:117-23.
- 175- Goa KL, Brogden RN. L-Carnitine. *Drugs* 34:1-24,1987.
- 176- Feller MA, Roth C A: Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury to skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 1989; 22:321-331.
- 177- Seekamp A, Mulligan MS, Till GO, Smith CW, Myasaka M, Tamatom T: Role of beta 2 integrins and ICAM-1 in lung injury following ischemia reperfusion of rat hind limbs. *Am J Pathol* 1993; 14:464-72.