

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL RÜPTÜRE ABDOMİNAL AORT ANEVİZMASI MODELİNDE
AKCİĞER HASARINI ÖNLEMEDE KLOTRİMAZOLÜN ROLÜ

ROLE OF CLOTRIMAZOLE IN LUNG INJURY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF
RUPTURED ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM

UZMANLIK TEZİ
Dr. Şaban Murat ERGENE

Trabzon-2011

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL RÜPTÜRE ABDOMİNAL AORT ANEVİZMASI MODELİNDE
AKCİĞER HASARINI ÖNLEMEDE KLOTRİMAZOLÜN ROLÜ

ROLE OF CLOTRIMAZOLE IN LUNG INJURY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF
RUPTURED ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM

UZMANLIK TEZİ

Dr. Şaban Murat ERGENE

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Zerrin PULATHAN

Trabzon-2011

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	I
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. ANEVİRİZMALAR	4
2.2. ABDOMİNAL AORT ANEVİRİZMALARI.....	4
2.3. RÜPTÜRE ABDOMİNAL AORT ANEVİRİZMALARI (RAAA).....	5
2.3.1. Ruptür etiolojisi.....	6
2.3.2. RAAA tanısı.....	7
2.3.3. Ruptürde resüsitasyon ve cerrahiye hazırlık.....	8
2.3.4. RAAA tedavisinden sonra mortaliteye etki eden faktörler.....	9
2.4. ŞOK.....	10
2.4.1. Hipovolemik şok ve sonuçları.....	10
2.4.2. Hipovolemik şok tedavisi.....	12
2.5. İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARI.....	14
2.5.1. İskemik ve hipoksik hasar.....	14
2.5.1.1. Reversible iskemik hasar.....	15
2.5.1.2. İrreversible iskemik hasar.....	16
2.5.2. Reperfüzyon hasarı.....	18
2.5.2.1. Serbest oksijen radikalleri.....	19
2.5.2.2. Kompleman sistemi.....	23
2.5.2.3. Endotel aktivasyonu.....	24
2.5.2.4. Lökositler.....	25
2.6. İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARININ KLİNİK SONUÇLARI.....	26
2.6.1. Lokal organ hasarı bulguları.....	26
2.6.2. Uzak organ hasarı bulguları.....	27
2.6.2.1. Akciğer hasarı.....	27
2.6.2.1.1. Adult Respiratuar Distres Sendromu (ARDS).....	28
2.7. KLOTRİMAZOL.....	30

3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	32
3.1. DENEYSEL SÜREÇ.....	32
3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	38
3.2.1. Serum ve plazma analizleri.....	38
3.2.1.1. Plazma Malondialdehit ölçümü.....	38
3.2.1.2. Plazma Miyeloperoksidaz ölçümü.....	38
3.2.1.3. Plazma TNF α ölçümü.....	39
3.2.1.4. Plazma IL6 ölçümü.....	39
3.2.1.5. Plazma İskemi Modifiye Albümin ölçümü.....	40
3.2.1.6. Kan Gazı ölçümleri.....	41
3.2.2. Akciğer dokusunda biyokimyasal analizler.....	42
3.2.2.1 Akciğerde Malondialdehit ölçümleri.....	42
3.2.2.2. Akciğerde Miyeloperoksidaz ölçümleri.....	42
3.2.3. Doku örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesi.....	42
3.2.3.1. Akciğer dokusunun histopatolojik olarak incelenmesi.....	42
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	44
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	53
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
7. ÖZET.....	71
8. SUMMARY.....	73
9. KAYNAKLAR.....	75

LOO.....	Lipid peroksil radikali
MAP.....	Ortalama Arter Basıncı
MDA.....	Malondialdehit
Mg.....	Magnezyum
MI.....	Miyokard enfarktüsü
MODS.....	Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu
MPO.....	Miyeloperoksidaz
Na ⁺	Sodyum
Na ⁺ -K ⁺ ATPaz.....	Sodyum potasyum ATPaz
NAD.....	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO.....	Nitrik oksit
OH ⁻	Hidroksil radikali
O ₂	Oksijen molekülü
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
⁻ O ₂	Singlet Oksijen
ONOO.....	Peroksinitrit
PAF.....	Platelet Aktive edici Faktör
PCO ₂	Parsiyel karbon dioksit basıncı
PCWP.....	Pulmoner Kapiller Wedge Basıncı
PEEP.....	Pozitif Ekspiryum Sonu Basıncı
PMNL.....	Polimorf nükleer lökosit
RAAA.....	Rüptüre Abdominal Aort Anevrizması
ROS.....	Serbest oksijen Radikalleri
SaO ₂	Oksijen saturasyonu
SIR.....	Şok + İskemi-Reperfüzyon
SIRS.....	Sistemik Enflamatuar Yanıt Sendromu
SOD.....	Superoksit dismutaz
TBARS.....	Tiobarbitürik asit
TF.....	Doku Faktörü
TNFα.....	Tümör Nekrotizan Faktör α

KISALTMALAR

AAA.....	Abdominal Aort Anevrizması
ACB.....	Albumin Kobalt Bağlama Testi
ADP.....	Adenozin Difosfat
AKM.....	Anestezi + Kateterizasyon + Monitorizasyon
ALI.....	Akut Akciğer Hasarı
ALT.....	Alanin Transaminaz
AMP.....	Adenozin Monofosfat
ARDS.....	Akut Respiratuar Distres Sendromu
ATP.....	Adenozin Trifosfat
AT III.....	Antirombin III
C (1-).	Kompleman(1-9)
CVP.....	Santral Venöz Basınç
DNA.....	Deoksiribonükleik asit
ECMO.....	Eksrakorporeal dolaşım
ER.....	Endoplazmik retikulum
FiO ₂	Ortamdaki oksijen yüzdesi
FXa	Faktör Xa
GSH.....	Glutasyon
H ⁺	Hidrojen iyonu
HAES.....	Hidroksietilamilaz
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat iyonu
HOCl.....	Hipokloröz asit
H ₂ O.....	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ICAM-1.....	İntersellüler Adezyon Molekülü-1
Ig.....	İmmunglobulin
IL-1, IL-2, IL-6, IL-9.....	İnterlökin-1,2,6,9
İMA.....	İskemi Modifiye Albümin
K ⁺	Potasyum iyonu
IR.....	İskemi- Reperfüzyon hasarı
LDH.....	Laktat Dehidrogenaz

1. GİRİŞ

Rüptüre abdominal aort anevrizması (RAAA), yüksek mortalite ve morbidite oranları ile günümüzde de kalp damar cerrahisinin en önemli acillerinden biridir. İntakt anevrizmalarda elektif cerrahi mortalite ortalama % 4 oranında verilirken rüptüre anevrizmalarda % 40-75; ortalama % 50 olarak bildirilmektedir (1,2).

Cerrahi tedavi yapılmayan olguların hepsi 24-48 saat içinde hemorajik şok nedeniyle kaybedilirler. Gerek cerrahi tekniğin ilerlemesi gerekse perioperatif bakım olanaklarının artmasına rağmen cerrahi mortalite ne yazık ki daha alt seviyelere indirilememiştir. Rüptüre anevrizmalarda cerrahi tedavi sonrası ölüm sebepleri en sık; miyokard enfarktüsü, solunum yetmezliği, böbrek yetmezliği ve çoklu organ yetmezliğidir (3,4,5).

Bunun mekanizması öncelikle batına veya retroperitona olan kanama nedeniyle gelişen hemorajik şok ve bir çeşit total beden iskemisi olarak adlandırılabilir bütün dokularda perfüzyon bozukluğu, ardından cerrahi sırasında uygulanan aort klempine bağlı alt beden iskemisi, son olarak da klemp açıldığında gelişen reperfüzyon hasarıdır (6,7).

Elektif anevrizma ameliyatlarında da alt bedende iskemi ve reperfüzyon oluşmakta ancak hemorajik şok olmadığı için mortalite düşük kalmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalar hemorajik şokla birlikte alt beden iskemisi ve reperfüzyonunun sinerjistik etki göstererek organizmada sistemik enflamatuar yanıtı artırdığını göstermektedir (8).

Sistemik enflamatuar yanıtı sebep olan birçok mediatör vardır. Komplemanlar, sitokinler, bunlardan bazılarıdır. Bu mediatörler mikrovasküler permeabilite artışına ve nötrofil aktivasyonuna yol açarak organ yetmezliğine ve mortaliteye sebep olmaktadır. Tumor nekrotizan faktör (TNF- α) ve interlökinler bu proinflamatuar sitokinlerden bazılarıdır (9).

Ayrıca rüptüre anevrizmalarda hastanın hastaneye ulaştığı sıradaki hemodinamik durumu da perioperatif mortalitenin belirleyicilerindedir. Bu nedenle hemorajik şoka bağlı gelişen total beden iskemisi ile de mücadele edilmelidir. Cerrahi tedavinin birinci aşamasında bir an önce kros klemp koyularak kanamanın durdurulması hedeflenir. İkinci

aşamada ise cerrahi düzeltme yapılırken şokla mücadele edilerek hemodinaminin en hızlı şekilde düzeltilmesi gereklidir. Bazı olgularda abdominal bölgeden klemp koyulamamakta, torakal bölgeye çıkılması gerekmektedir. Bu da medulla spinalis iskemisi ve buna bağlı postop dönemde parapleji yaratabilmektedir (%4). İkinci aşamanın en önemli kısmı; kan, kolloid ve/veya kristaloidlerle damar yatağının doldurulması, yeterli hemodinamik parametrelerin sağlanması ve böylece şokun oluşturduğu total beden iskemisinin giderilmesidir. Cerrahinin üçüncü aşamasında rekonstrüksiyon bitirilip aortik klemler açılır, alt beden yeniden kanlandırılır. Bu aşamada; alt beden kanlandırılmasına bağlı olarak deklem şoku yaşanabilmektedir. Ayrıca reperfüzyon hasarı başlamakta, oluşan serbest oksijen radikalleri sistemik enflamatuvar yanıtı daha da ağırlaştırmaktadır (10).

Rüptüre abdominal aort anevrizmalarında mortalite, cerrahinin her üç aşamasından da etkilenmektedir. Hemorajinin durdurulamaması yani kros klempin koyulamaması durumunda hasta kurtarılamamakta, klemple birlikte sıvı resüstasyonunun etkin bir şekilde yapılarak hemodinaminin hızla düzeltilemediği durumlarda ve reperfüzyon hasarının ağır olduğu durumlarda oluşan uzak organ hasarı perioperatif mortalite ve morbiditeyi artırmaktadır. Hemorajik şokla mücadele edilirken yapılan kan transfüzyonları da beraberinde transfüzyon komplikasyonlarını getirmektedir.

Klotrimazol; kimyasal olarak 1-2 klorofenil-difenilmetil-1H-imidazol olarak tanımlanmış fenol türevi bir bileşiktir. İnsanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Klotrimazolün ayrıca orak hücreli anemi, romatoid artrit, malarya ve tüberküloz tedavisinde, klotrimazol derivelerinin de immunsupresan olarak kullanımıyla ilgili çeşitli klinik ve deneysel çalışmaları içeren yayınlar vardır (12).

Klotrimazolün hem sitokrom P-450'yi hem de Ca^{++} bağlı K^{+} kanallarını inhine ederek etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu sayede organizmada çeşitli sebeplerle orataya çıkan serbest oksijen radikali oluşumunu engelleyerek medulla spinalis dokusunda normotermik iskemi-reperfüzyon hasarını, karaciğer dokusunda hücre apoptozisini önlediği gösterilmiştir. Ayrıca antienflamatuvar ve antioksidan etkinliği de en fazla sinir dokusunda gösterilmiş, nöroprotektif özelliği çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Klotrimazolün iskemi ve reperfüzyonun doğrudan veya uzak organ olarak etkilediği akciğer, böbrek, kalp kası, iskelet kası gibi dokulardaki etkinliği ise bilinmemektedir. Biz burada şok, iskemi ve

reperfüzyonun bir arada olduğu rüptüre abdominal aort anevrizması modelinde klotrimazolün etkin olup olmadığını incelemeyi planladık (13, 14).

RAAA da cerrahi mortaliteyi düşürmeyi hedefleyen klinik ve deneysel çalışmalar şokla mücadele ve iskemi-reperfüzyon (IR) hasarını önlemeye yöneliktir. Birçok deneysel çalışmada şok ve IR modelleri ayrı ayrı çalışılmıştır. Biz bu çalışmada Thomas F. Lindsay tarafından ilk kez 1995 yılında geliştirilen ratlarda rüptüre abdominal aort anevrizması modelini kullandık (15).

Bu modelde RAAA nın bütün aşamaları gerçekleştirilmektedir. Yani aynı model üzerinde hem şok hem de iskemi ve reperfüzyon yapılmaktadır. Bu üç durum Şok+İskemi-Reperfüzyon (SIR) olarak adlandırılmıştır. Bu model kullanılarak çeşitli ilaçların ve kimyasal moleküllerin RAAA cerrahi tedavisi sonrasında ortaya çıkan çoklu organ hasarı üzerine olan etkinlikleri incelenmiştir (16,17,18,19).

Bu çalışmanın amacı; deneysel rüptüre abdominal aort anevrizması modeli oluşturarak antioksidan ve antienflamatuar özelliği olduğu ifade edilen klotrimazolün akciğer hasarını önleyici etkisini araştırmaktır.

Literatürde klotrimazolün deneysel rüptüre anevrizma modelinde kullanımı ve akciğer hasarına olan etkisiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANEVİRİZMALAR

Anevrizmanın ilk tanımı Yunan'lı bilim adamı Galen tarafından milattan önce 130'lu yıllarda yapılmış ve bu patoloji "arterlerde genişleme" olarak tanımlanmıştır. Günümüzde de bir damarın çapının 1.5 katından fazla olan lokalize genişlemelere "anevrizma" denilmektedir. Tarih boyunca bu hastalığın tanı ve tedavisiyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Anevrizmanın ilk cerrahi tedavisi ise milattan önce anevrizmatik damarın proksimal ve distalinin bağlandığı "ligasyon" ameliyatı olarak yapılmış, takip eden dönemlerde "obliteratif endoanevrizmorafi" gibi yöntemler kullanılmıştır. Günümüzün modern tedavi seçenekleri ise açık cerrahi yaklaşımla rezeksiyon ve greft interpozisyonu veya kapalı yöntemle endogreft implantasyonu uygulamalarıdır (20).

2.2. ABDOMİNAL AORT ANEVİRİZMALARI

Abdominal aort anevrizması; aortik patolojiler arasında en sık olarak görülen lezyondur. Sıklığı bir toplumdaki yaşlı populasyon artımı ile artmaktadır. Abdominal aort anevrizmasının erken tanısı ve tedavisi hasta prognozu açısından çok önemlidir. Ülkemizde aort anevrizmalarının önemli bir bölümü hastaneye ancak rüptür oluştuktan sonra gelmektedir. Bu yüzden abdominal aort anevrizmalarının erken tanısı ve tedavisi hasta prognozu açısından büyük önem taşımaktadır (21, 22, 23).

Ortalama olarak erişkinlerde infrarenal abdominal aortanın eksternal çapı; erkeklerde 2.3cm, kadınlarda ise 1.9cm dir. Anevrizma tanımı olarak aortun herhangi bir segmentinde aort çapının o bölge için olması gereken çapın iki kat ve daha fazla genişlemesidir. Klinik olarak; renal arterlerin çıkışının altındaki abdominal aort segmentini tutan anevrizmalara abdominal aort anevrizmaları denir. Abdominal aorta anevrizması en sık görülen anevrizmadır. Vücutta gözlenen anevrizmaların %55'i abdominal aort anevrizmasıdır. Aortanın tüm segmentleri içerisindeki anevrizmaların ise %80'i abdominal aort anevrizmasıdır. De Bakey serisinde abdominal aort anevrizması %55, torasik aort anevrizması %4, femoral %3, popliteal %2'dir. Crawford serisinde aort anevrizmalarının

%80'i AAA, %12 inen aort anevrizması, %5.5 çıkan aort, %2.5 torakoabdominal anevrizmalardır. Kadın/erkek oranı: ¼ dür (2,3). Genel popülasyonda görülme sıklığı 100.000 de 4 kişidir. 60 yaş üzerindeki kişilerde sıklık; %3 iken, 60 yaş üzerindeki hipertansif erkeklerde ise sıklığı %12 ye kadar çıkar(4)Periferik damar hastalığı olan 60 yaş üzerindeki hastalarda ise sıklığı %15 dir. ABD de; her yıl 15.000 kişi rüptürle ölmektedir. Yine ABD de en sık görülen onüçüncü ölüm nedenidir (24, 25).

2.3. RÜPTÜRE ABDOMİNAL AORT ANEVİRİZMALARI (RAAA)

Rüptüre olgular ile elektif olgular arasında mortalite ve morbidite açısından önemli farklılıklar vardır. Rüptüre abdominal aort anevrizmalarında mortaliteyi düşürmenin en etkin yolu semptomatik anevrizmaları erken tanı koyarak rüptüre olmadan elektif şartlarda opere etmektir. Elektif şartlarda yapılan abdominal aort anevrizması ameliyatlarında mortalite % 1-4 düzeyinde bildirilmektedir (26).

Bununla birlikte anevrizma rüptüre olduğunda hastaların çoğu hastaneye canlı ulaşamamaktadır. Ulaşanların da yaklaşık yarısı kaybedilmektedir. Günümüzdeki serilerin çoğunda rüptüre abdominal aort anevrizmalarında mortalite yaklaşık olarak % 40-50 düzeyindedir (27).

Scobie ve Masters 354 anevrizmalı olgu içeren serilerinde 1961 ile 1980 yılları arasındaki dönemde elektif anevrizmalarda mortalitenin önce % 12'den % 4,1'e ve sonrada % 1,8'e indiğini bildirmişlerdir. Rüptüre anevrizmalar dikkate alındığında ise 1961-1969 yılları arasındaki dönemde mortalite % 71 iken,1970-1975 yılları arasında % 45'e düşmüştür. Fakat 1975 den sonraki dönemde mortalite genelde % 52 düzeyinde kalmış ve daha aşağı çekmek mümkün olmamıştır (28).

ABD Cleveland Klinik'te rüptür tehdidi olan abdominal aort anevrizmalarındaki mortalite oranı % 8,2 olarak bildirilmektedir (29).

Çünkü sınırlı bir hematoma bulunduğu mortalite düşmekte ve serilerde % 17 olarak bildirilmekte, fakat hematoma yaygın olduğunda bu oran % 43'lere yükselmektedir. Rüptüre abdominal aort anevrizması nedeni ile opere edilen değişik hasta serilerindeki mortalite oranlarının farklılıklarının en önemli nedeni ise hastaların sağlık kuruluşlarına geldiklerindeki hemodinamik durumlarıdır. Hastaneye geliş sırasında hipotansif olmayan,

küçük, sınırlı periaortik hematomu olan olgularda mortalite düşüktür. Bununla birlikte hipotansiyon ve kardiyopulmoner kollaps ile başvuran hastalarda ölüm oranları yüksektir (30).

Günümüzde ABD’de anevrizma nedeni ile opere edilen her 5-6 hastadan birinde operasyon acil şartlarda yapılmaktadır (31).

Abdominal anevrizmalarda cerrahinin başarısını arttırmak için rüptüre anevrizmalar daha daha erken tanınmalı, hastalar agresif olarak resusite edilmeli ve çok hızlı olarak hiç vakit geçirmeden operasyona alınmalıdırlar (32).

2.3.1. Rüptür etyolojisi

Anevrizmalarda rüptürü belirleyen en önemli faktörlerden biri anevrizmanın çapıdır. Laplace kanununa göre anevrizma duvarına uygulanan basınç anevrizma çapı ile doğru orantılıdır. Çapın 5cm den fazla olması halinde rüptür olasılığı kuvvetlenmektedir ve anevrizmanın çapının bunun üzerinde artması rüptür riskini paralel olarak arttırmaktadır. Crawford ve arkadaşları rüptüre anevrizmaların %88’inde çapın 10cm nin altında %23’ünde ise çapın 6cm nin altında olduğunu tespit etmişlerdir (33, 34).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığının varlığı anevrizma rüptüründe diğer önemli belirleyicidir. Aort anevrizması olanların büyük bir bölümünde ciddi sigara içiciliği söz konusudur. Sigara içme hikayesi de rüptürü belirleyen önemli bir faktördür (35).

Ayrıca yaşlanmaya bağlı olarak anevrizma rüptürü sıklığı da dramatik olarak artmaktadır. Aynı şekilde kadınlarda da yaş ilerledikçe anevrizma sıklığı artmakta yaşlanmaya paralel olarak kadın erkek arasındaki fark giderek azalmaktadır. Rüptür riskinin bir diğer göstergesi de ağrının varlığıdır. Ağrının varlığında cerrahi düşünülmelidir. Anevrizmalı hastaların büyük bir kısmının anamnezinde hipertansiyon mevcuttur. Özellikle diyastolik hipertansiyon anevrizma gelişmesi ile çok sıkı bir bağlantı içindedir. Ayrıca anevrizmalarda renal yetmezliğin varlığı rüptür için bir risk faktörüdür. Rüptür konusunda anevrizma etiyolojisinin bir faktör olup olmadığı tartışmalıdır, bununla birlikte bağ dokusu hastalığı özellikle Marfan Sendromlu hastalarda rüptür daha sık olarak karşımıza çıkmaktadır.

Rüptürü belirleyen faktörler içinde en önemlileri hastanın yaşı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ağrı ve anevrizmanın çapıdır (36).

Kronik akciğer hastalığının torakoabdominal aort anevrizma cerrahisi sonrasında erken dönem sonuçlarını olumsuz olarak etkilediği bildirilmiştir.

Elektif ameliyatlarda preoperatif dönemde solunum fonksiyon testlerinin ve arterial kan gazı analizinin rutin olarak yapılması, bunun sonucunda gerekli ise tedavinin planlanması uygunken rüptüre olgularda böyle bir hazırlık şansı bulunmamaktadır.

Cerrahi girişim kronik distal diseksiyonlarda dejeneratif anevrizmalara göre daha erken uygulanmalıdır. Çünkü kronik distal diseksiyonlarda rüptür şansı diğer etyolojilere göre her zaman daha fazladır.

2.3.2. RAAA tanısı

Rüptüre abdominal aort anevrizmalarında en sık görülen semptomlar; karın ağrısı, bel ağrısı, bulantı ve kusmadır. Muayene bulguları ise; batında pulsatil kitle, hassasiyet, hipotansiyon (Sistolik basınç < 80 mmHg), hematokrit azalması (Htc < % 38), lökositoz (lökosit > 10.000), USG ve/ veya BT incelemesinde anevrizmanın tesbitidir.

Tanının hızlı ve doğru olarak konulması rüptüre abdominal aort anevrizmalarında prognozu belirleyen en önemli faktörlerden biridir. İlk fizik muayene sırasında şüphelenilerek rüptüre abdominal aort tanısı konan hastalarda mortalite % 35 iken rüptürün atlandığı ve kardiyopulmoner arrest gelişenlerde mortalite % 75'lere çıkmaktadır. Başarılı tedavideki ilk adım tanıyı hızlı ve doğru bir şekilde koymaktır.

Orta yaş grubunda karın ve sırt ağrısı ile birlikte hipotansiyon ile kliniğe başvuran tüm hastalarda rüptüre anevrizma düşünülmelidir. Çeşitli klinik çalışmalara göre rüptüre anevrizmaların % 94'ü ani başlayan karın ağrısından yakınmıştır ve % 50'nin üzerindeki hastalarda bel ağrısı vardır (37).

Aterosklerozun diğer bulguları ile risk faktörlerinin bulunması tanıyı desteklemektedir. Kardiyovasküler kollapstaki olgularda elektrokardiyografinin normal bulunması miyokard infarktüsü ya da pulmoner embolizm gibi olasılıkları ekarte etmektedir. Bununla birlikte aterosklerotik anevrizmanın rüptüre olduğu hastalarda hemorajik şokun var olan miyokard

iskemisini arttırarak EKG’de iskemik değişiklikler oluşturabileceği akılda tutulmalıdır. Bu hastaların önemli bir kısmında koroner ateroskleroz olduğu için EKG’de koroner iskemi ya da geçirilmiş eski miyokard infarktüsüne ait bulgular vardır. Santral basınç ölçümü ve pulmoner arter kateteri ile kalbin dolma basınçlarının değerlendirilmesi, kardiyojenik şok ile hipovoleminin ayırıcı tanısını sağlar. Hemodinamisi stabil ancak rüptüre hastalarda genellikle orta hattın solunda ya da umblikusun üstünde pulsatil kitle hissedilir. Bunun yanında hipotansif bir hastada karında distansiyon olması rüptüre anevrizma açısından hekimi şüphelendirmelidir. Anevrizmalar özellikle mezenter kökünün sol tarafından retroperitoneal bölgeye sızdığı için bu bölgede bir hematoma oluşur ve sol alt kadranda bir hassasiyet ve kitle oluşumuna neden olabilir (38,39).

Tanıdan kesin olarak emin olunamayan hastalarda genellikle acil serviste yapılan batın ultrasonografisi oldukça yararlıdır. Bunun yanında bilgisayarlı tomografi değerli bir tanısal araçtır. Fakat hemodinamik olarak stabil hastalara uygulanmalıdır. Aortografi ise rüptüre hastalarda gereksiz bir yöntem olup tanıya yeri yoktur.

2.3.3. RAAA da resüsitasyon ve cerrahiye hazırlık

Acil serviste ya da yoğun bakımda hastanın stabilizasyonu için zaman kaybetmek rüptüre abdominal aort anevrizmalarında yapılmaması gereken bir hatadır. Hastanın tansiyonu ne kadar düşük ve yapılan volüm replasmanına cevabı ne kadar az ise hasta o kadar hızlı bir şekilde ameliyathaneye alınmalıdır. Anestezi indüksiyonu için minimum da olsa bir zamana ihtiyaç vardır. Hasta bir an önce ameliyat masasına alınmalıdır. Santral ven kateterizasyonu veya pulmoner arter kateterizasyonu yapılmalıdır.

Crawford; cerrahiye hazırlanan RAAA hastalarında aort klemplemesinin en önemli strateji olduğunu, klemp koyulana kadar sistolik kan basıncının 50-70 mmHg da tutacak kadar volüm replasmanının yeterli olduğunu belirtmiştir. Aort klemp ile birlikte kan ve taze plazma replasmanının hem kan basıncının hem de koagülasyon sisteminin yeterli şekilde devam ettirilmesini sağladığını, kristaloidlerin ve özellikle serum fizyolojinin aşırı hemodilüsyon ve koagülopatiye yol açtığını bildirmiştir (30).

Preoperatif dönemde yapılması gereken sıvı resüstasyonunun miktarını belirleyecek prospektif randomize çalışmalar yoktur ancak, birçok cerrah hızlı transport ve acil

ameliyatla birlikte sistolik kan basıncını 90 mmHg üzerinde tutacak kadar orta derecede sıvı replasmanının yeterli ve etkin olduğu kanısındadır (32, 40, 41).

Preoperatif dönemdeki hipotansiyon ve şok süresinin uzunluğuyla multisistem organ yetmezliğinin doğrudan ilişkisi vardır. Preoperatif şoka bağlı organ hipoperfüzyonu sonucu böbrek yetmezliği, iskemik kolit, respiratuar distres sendromu gelişmekte ve genellikle ölümcül olmaktadır (42).

Operasyon sırasında oluşan hipotermi koagulopatiye zemin hazırladığı için kan ve sıvıların verilmesi sırasında mümkünse ısıtıcı cihazlar kullanılmalıdır. Hipotermi koagulopati yanında kardiyovasküler sistemde depresyona neden olmakta ve hastanın metabolizmasında önemli değişikliklere yol açmaktadır. Quiroga'nın yaptığı çalışmalar hipotermi yaygın damar içi pıhtılaşması gelişiminde önemli bir etken olduğunu göstermiştir (43).

Hipotermiye bağlı doku hasarlanması özellikle damar endotelinde meydana gelen hasarlanma büyük miktarda trombusların açığa çıkmasına ve sonuçta koagulasyon faktörlerinin tükenmesi ile yaygın damar içi pıhtılaşmasına neden olur. Hipotermi, rüptüre anevrizmalı hastalarda erken tanınmalı ve düzeltilmelidir (44).

2.3.4. RAAA tedavisinden sonra mortaliteye etki eden faktörler

Rüptüre abdominal aort anevrizması tedavisinde birçok serilerde mortaliteyi etkileyen sebepler değişken olmakla birlikte en yaygın kabul görenleri; geliş hemoglobin değerinin 10 mg/dl nin altında olması, bilinç kaybı geçirmiş olması ve kreatinin değerinin 1.5mg/dl üzerinde olmasıdır. Bu hastalarda mortaliteyi belirlemek için Hardman ve Glasgow anevrizma Skorları kullanılmıştır. Bu skorlamalarda; yaş, şok belirtilerinin varlığı, eski veya yeni miyokard iskemisi, eski veya yeni serebrovasküler olay, renal yetmezlik gibi kriterler kullanılmış olup halen bu skorlamalar hastane mortalitesinin belirlenmesinde kullanılmamaktadır (45-52).

Günümüzde mortaliteyi etkileyen en önemli iki faktör; hemoglobin düşüklüğü ve hastaneye geldikten sonra oluşan bilinç kaybıdır.

2.4. ŞOK

Şokun tanımı: Vücut dokularında hipoksiye ve metabolizmanın bozulmasına neden olan kan dolaşımı ve doku perfüzyonu azalmasıdır.

Şoktaki bir organizma homeostazisi sağlamak için birtakım nöroendokrin, metabolik ve immünolojik yanıtlar verir. Bu nedenle şok; doku perfüzyonu azalmasından öte kompleks bir klinik durumdur.

Şokun tipleri:

- 1- Hipovolemik şok
- 2- Kardiyojenik şok
- 3- Periferik dolaşım regülasyonunun bozulması
 - a-Septik şok
 - b-Anafilaktik şok
 - c-Nörojenik şok
 - d-Endokrinolojik şok

Rüptüre anevrizmada kan damar dışına çıkmakta, sıklıkla retroperitoneal alanda nadiren da batın boşluğunda birirmektedir. Kanamanın miktarına bağlı olarak hastalarda hemorajik (hipovolemik) şok gelişmektedir (53).

2.4.1. Hipovolemik şok ve sonuçları

Hemorajik şokta patofizyolojik değişiklikler:

Hemorajik şok; dolaşan ya da gerçekte etkili olan damar içi volumün azalmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle hemorajik şokun belirtilerinin çoğu periferdeki azalmış doku perfüzyonu ve artmış adrenerjik aktiviteye bağlıdır (54,55).

Şok kliniğini yaratan başlangıçtaki kompensatuar mekanizmalar, öncelikli olarak beyin ve kalp olmak üzere, vital organların perfüzyonunu sağlamaya çalışan kompleks nöroendokrin ve immünolojik yanıtlar yumağıdır.

Bunları kısaca şöyle sıralayabiliriz.

1. Vasküler tonus artar, .kanın vücut içinde dağılımı değişir; beyin ve kalp korunmaya çalışılırken splannik, kütanöz ve renal akımlar azalır
2. Sempatik aktivite artar kardiyak output artar, taşikardi oluşur
3. Kapiller hidrostatik basınç azalır. Sıvı interstisyel alandan intravasküler alana geçer, dolaşımdaki sıvı hacmi artar. Kanın viskozitesi azalır, dilüe olur.
4. Kanın oksijen taşıma kapasitesi ve dokuların oksijenlenmesi arttırılmaya çalışılır. Hücresel asidoz ve eritrositteki 2,3-DPG artışına ikincil olarak hemoglobinin oksijene afinitesi azalır ve doku oksijen salınımı artar.
5. Böbrekte dolaşan volümün azalması ve arteriyoller vazokonstrüksiyon sonucu renal kan akımı düşer, idrar çıkışı azalır; üre ve asit klerensi azalarak asit - baz dengesi bozulur. Katekolamin deşarjı ile taşikardi, kardiyak output artışı, glikojenolizis, lipolizis, insülin direnci ile periferik organlarda glikoliz kullanımının engellenmesi, nefron proksimal tübülünde su ve sodyum tutulumu meydana gelir.
6. Ardenokortikotropik hormon (ACTH) salınımı sonucu kortizol, epinefrin ve glukagonun etkileri artar. İnsülin direnci ile iskelet kaslarından daha çok aminoasit açığa çıkar ve böbreklerde su ve sodyum tutulur.
7. İnsülin salınımı azalır.
8. Antidiüretik hormon (ADH) salınımı artar; distal tübülün suya geçirgenliğini ve pasif Na^+ transportunu arttırır. Güçlü bir splannik vazokonstrüksiyon oluşur. Renin-anjiyotensin sistemi aktive olur. Aldosteron sekresyonu artar.

Hipovolemik şokun 4 klinik evresi vardır:

Evre I hemoraji: Total kan volumünün %15' inden azının kaybı

- Kan kaybı 750 cc den azdır
- Genellikle kan basıncı, solunum sayısı ve nabız dolgunluğu değişmez

Evre II hemoraji: Total kan volumünün % 15- 30'unun kaybı

- Kan kaybı 750- 1500 cc arasındadır
- Taşikardi, takipne, nabız dolgunluğunda azalma, soğuk ve nemli deri ve hafif anksiyete vardır.
- Nabız basıncı azalır, katekolamin cevabı sonucu periferik vasküler direnç ve diastolik kan basıncı artar

Evre III hemoraj: Total kan volumünün % 30- 40'ının kaybı

- Kan kaybı 1500- 2000 cc dir
- Sistolik kan basıncında azalmaya yol açabilecek minimum kan kaybı %30- 40'dır.
- Hasta takipneik ve taşikardiktir.
- İdrar çıkışı 5- 15 cc/saat
- Santral sinir sistemi semptomları konfüzyon ve ajitasyondur

Evre IV hemoraji: Total kan volumünün % 40'ından fazlasının kaybı

- Kan kaybı 2000 cc üzerindedir
- Belirgin taşikardi, sistolik kan basıncının düşmesi, periferik nabızların alınamaması diastolik kan basıncının ölçülememesi
- İdrar çıkışında belirgin azalma veya anüri
- Santral sinir sisteminde bilinç kaybı, letarji mevcuttur

2.4.2. Hipovolemik Şok Tedavisi

1- Sıvı Tedavisi: Kardiyojenik şok dışında bütün şok tiplerinde sıvı tedavisi endikasyonu vardır. Hipovolemik şokta sıvı tedavisi hayat kurtarıcıdır. Hipovolemik şoklarda vasokonstriktif ajanların kontrendike olduğu unutulmamalıdır. Sıvı tedavisi yapılırken hem CVP (14 cm suyu aşmadan) takibi, hemde venöz dolgunluk takibi (dil kökü venleri, jugular venler) yapılmalıdır (56).

a) Ringer laktat solusyonu

En fazla bulunan ve şok sırasında en sık kullanılan dengeli tuz çözeltisidir (kristaloid). Kan kaybı ile birlikte olan ekstrasellüler sıvı açığını düzeltir. Ringer çözeltisinin laktat içeriğinin hemorajik şokla birlikte olan laktik asidozu artırma endişesi geçerli değildir. Hayvan modelleri ve insanlardaki çalışmalar göstermiştir ki kan replasmanı ile birlikte laktatlı ringer solusyonu kullanılması, tek başına kan kullanılması ile kıyaslandığında daha hızlı bir şekilde serum laktat ve kan pH sını normal seviyelere getirmiştir. Laktat hızlı bir şekilde karaciğerde bikarbonata dönüştürülmektedir.

b) Kolloid solüsyonlar

Resustasyon için dengeli tuz çözeltileri yerine intravasküler alanda kalmaya meyilli olan kolloid maddelerin kullanımı, bazıları tarafından savunulmaktadır. Kolloidal maddeler taşıyan sıvıların örneğin albümin kullanımı, intravasküler koloidal basıncı yükseltir bu da interstisyel sıvının intravasküler alana kaçmasına sebep olur. Bu sıvılar intravasküler alanda daha kısa süre kaldıklarından hemodinamik stabiliteyi sağlamak için kristaloid solüsyonlara oranla daha az resüstasyon sıvısı kullanılması gereklidir. Bu resüstasyon sonrası fazla sıvı yüklenmesini engeller. Etki süreleri ve güçleri konsantrasyonlarına ve moleküler özelliklerine bağlıdır (57).

Bunlar arasında Dextran 40kd ve 70kd aynı zamanda iyi bir anti agregan ve antitrombotik ajan özelliğini de taşır. Bu özellik kanamalı hastalar için önemli olabilir. Bu preparatların başlıca yan etkileri anafilaksi ve immün reaksiyonlara (IgG ve IgM oluşumuna bağlı) neden olabilmeleridir.

% 3.5'lük Jelatin ise aslında bir plazma genişletici değildir. Nadiren anafilaktik tipte reaksiyonlara neden olabilir. Kalsiyum içerdiği için digitalize hastalarda dikkatli olunmalıdır. Hidroksietilamilaz (HAES)'ın etki mekanizması Dextran gibidir. Böbrek yetmezliğinde kontendikedir. Kaşıntı ve cilt döküntülerine neden olabilir (58,59).

2- Kan veya Eritrosit süspansiyonu replasmanı: 2000 ml sıvı kristalloid verildiği halde vital bulgular stabilizeşmiyorsa ve yeterli doku perfüzyonu sağlanamıyorsa kan transfüzyonu yapılması gerekir. Büyük kan kayıplarında eritrosit kaybı ve bunun yol açtığı doku hipoksisi hastada semptom ve bulgulara yol açıyorsa kristalloid + eritrosit süspansiyonuyla tedaviye başlanması, masif kan kayıpları dışında taze kan kullanılmasından kaçınılması tavsiye edilmektedir.

Her eritrosit süspansiyonu için 3 katı kadar hacimde kristalloid sıvı replasmanının yapılması önerilmektedir. Hastaya 4 ünite eritrosit süspansiyonu verilmesine rağmen şok tablosu düzelmüyor ise tam kan transfüzyonuna geçilmelidir. Kullanılacak kanın taze olması tercih edilir.

Masif kanamalarda doğrudan ve mümkünse taze tam kan verilmelidir. Kaybı fazla olan hastalarda kanama sürüyorsa veya 10 ünite ve yukarıdaki miktarlarda kan verilmişse,

pıhtılaşma fonksiyonları ve trombosit sayısı kontrol edilmelidir. Trombosit sayısı 50.000/mm³ altındaysa trombosit suspansiyonu verilmelidir. Protrombin zamanı 16 saniyenin üzerinde ve parsiyel tromboplastin zamanı 60 saniyenin üzerinde olanlara ise plazma ve hatta kriyopresipitat verilebilir. Kriyopresipitat genellikle kan fibrinojen düzeyi 100mg/dl altına düşenlere önerilir. Bu nedenlerle, genel olarak transfüze edilen her 10 ünite kan için 2 ünite taze donmuş plazma transfüzyonu yapılması önerilmektedir (60).

2.5. İSKEMİ VE REPERFÜZYON HASARI

Klinikte özellikle abdominal aortanın ve alt ekstremitte arterlerinin cerrahi girişimler sırasında vasküler klemplerle klemplenmesi daha distalde iskemiye neden olmakta, cerrahi işlemin devamında klempin açılarak distale kan akımının tekrar sağlanması lokal ve uzak organlarda reperfüzyon hasarıyla sonuçlanmaktadır (61,62,63).

Ayrıca periferik arteriyel revaskülarizasyon işlemleri, serobrovasküler olaylar, myokard enfarktüsü, mezenter ve periferik arter embolilerinde uygulanan trombolitik tedaviler, organ transplantasyonu, sepsis, şok, yanık, pankreatit gibi cerrahi ve travmatik durumlarda oraya çıkan iskemi ve hipovoleminin düzeltilmesi ile ortopedik cerrahi girişimlerde kullanılan turnikeler diğer reperfüzyon hasarı sebepleridir

Reperfüzyon hasarı iskemi sonrası kanlanmanın tekrar sağlanmasıyla başlamakta klinik uygulamalarda iskemi süresine bağlı olarak hedef ve uzak organlarda aseptomatik subklinik hasardan hedef dokuda ödem, çap artışı, nekroz, uzak organlarda fonksiyon bozukluğu, multiorgan yetmezliği ve sonrasında mortaliteye kadar ilerleyen semptomların olduğu geniş bir yelpazede karşımıza çıkmaktadır. Semptomlardaki bu genişlik iskemiye maruz kalan alanın büyüklüğü, iskemiye duyarlılığı ve iskeminin süresine bağlı olarak reperfüzyon süresince hedef ve uzak organlarda gelişen hücre nekrozuna bağlıdır (64,65,66).

2.5.1 İskemik ve hipoksik hasar

İskemik hasar hücre hasarının en sık görülen klinik tipidir. İskemi vücudun bir bölgesine gelen kan miktarının azalması ya da kesilmesi, hipoksi ise dokulara giden oksijen miktarının azalması olarak tanımlanır. İskemide yeni ATP üretimi için glikoz

sağlanamadığından hücrenin hayati fonksiyonları için gerekli olan enerji bağımlı sistemler bozulur.

İskemi ve hipokside aerobik metabolizma devam edemediğinden dokuda varolan adenozin trifosfatlar (ATP) tüketilirken adenozin difosfat (ADP) artar. Artan ADP önce adenozin monofosfata (AMP) daha sonra adenozin, inozin ve hipoksantine dönüşür. Hipoksantin reperfüzyonla sağlanan oksijen ve ksantin oksidaz enziminin etkisi ile ksantine dönüşür. Ksantin de ortamdaki oksijenle reaksiyona girerek ürik asite parçalanır. Tüm bu dönüşüm işlemleri sonucunda hasardan sorumlu olan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar.

Hipoksinin ilerleyerek devamı durumunda ortamda oksijen olmadığından ksantin nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) ve hidrojen ile reaksiyona girerek ürik asit, NADH ve H oluşturur. Reperfüzyon fazında ise ksantin ortamdaki oksijenle reaksiyona girerek ürik asit, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit (O_2^-) oluşturur (67).

İskemi anaerobik solunum olan glikoliz için gerekli maddelerin ve oluşan metabolitlerin taşınamamasına ve glikolizin de inhibe olmasına sebep olur. Anaerobik enerji üretimi de durur. Hipokside ise glikolitik enerji üretimi devam edebilmektedir. Bu nedenle iskemi hipoksiden daha hızlı olarak dokulara hasar verir.

Belli bir noktaya kadar hasar tamir edilebilir ve oksijenin ortama girmesi ile hücre iyileşebilir. Bu durum geri dönüşümlü hasar olarak adlandırılır. İskemi süresinin daha da uzaması sonucu hücre yapısı bozulmaya devam eder. Zamanla hücrenin enerji mekanizması tamir edilemez şekilde bozulur. Hücrede ATP tüketilir. Bu durumda geri dönüşümsüz hücre hasarı gelişir ve reperfüzyon ile hasarlı hücre kurtulamaz. Sonuçta genomdaki ve membranlardaki hasar hücre ölümüne neden olur (68).

2.5.1.1. Reversibl iskemik hasar

İskemi nedeniyle perfüzyonu bozulan dokuda ilk olarak hipoksi gelişir. Hipoksi hücrenin mitokondrial aerobik solunumunu bozar. Bu bozulma hücrenin yaşamsal fonksiyonları için gerekli ATP üretimini azaltır. ATP azalması hücre içi organel sistemlerini ve hücre membranında bulunan ATP'ye bağımlı Na^+-K^+ ATPaz pompasını etkiler. Bu etkilenme normal fonksiyonu hücre içine giren Na^+ iyonlarını hücre dışına, hücre dışına

çıkan K^+ iyonlarını hücre içine geri döndürmek olan pompanın çalışamaz duruma gelmesine neden olur. İntrasellüler ortamda Na^+ ve Ca^{++} birikirken K^+ azalır. Bu durum hücreyi dış zararlara ve hücre içerisine giren Na^+ 'un beraberinde ozmozla suyu getirerek ödem yapıcı etkisine karşı hassaslaştırır. Hücre ve edoplazmik retikulum (ER) su alarak şişer. ER'daki ribozomlar ayrılır ve protein sentezi azalır. Hücrede anaerobik solunum olan glikoliz devreye girerek pH düşer. Bu durum nükleer kromatinde kümeleşmeye, lizozomların salıverilmesine ve membran hasarına neden olur.

Hücrede yaşanan bu biyokimyasal ve patolojik bozukluklar kan akımı tekrar sağlanırsa geriye dönebilir. İskemi ilerlerse morfolojik değişiklikler irreversibl hal alır.

Anaerobik Glikoliz sonucunda laktik asit ve inorganik fosfat birikimiyle pH düşer.

2.5.1.2. İrreversibl iskemik hasar

Hücre membranında hasar oluşması geri dönüşü olmayan iskemik hasarın en önemli morfolojik göstergesi olarak kabul edilir. Morfolojik olarak irreversibl zedelenmeye mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz, Ca^{+2} , dan zengin yoğunlukların birikimi eşlik eder. Birçok biyokimyasal mekanizma membran hasarına katkıda bulunur. Bunlar;

a) Mitokondrial fonksiyon bozukluğu: Mitokondrial permeabilite değişimi oluşur.

b) Membran fosfolipitlerinin kaybı: Hücre membranı doymamış yağ asitlerinin en zengin kaynağıdır. Bu yağ asitleri membran fosfolipitlerinde yapısal eleman olarak yer alırlar. Fosfolipitler de membran bütünlüğü ve fonksiyonlarında elzemdirler. İskemi fazında membran fosfolipitlerinin sentezi azalır. Ayrıca bu fazda hücre içinde artan iyonik kalsiyum etkisiyle aktifleşen fosfolipaz enzimi membrandaki fosfolipitlerin yıkımına neden olur.

Fosfolipitler iskemi sonrası reperfüzyon fazında oluşan serbest radikallerin primer hedefidir. Fosfolipitler serbest radikal etkisiyle paçalanır. Parçalanma lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipit peroksidasyonu direkt membran hasarı oluşturabileceği gibi peroksidasyon sonucu oluşan reaktif aldehitlere bağlı olarak indirekt hasar da oluşabilir. Tüm bu faktörlerin kümülatif etkisi ile membran akışkanlığı kaybolur. Trans membran iyonik gradiyent ve membranın salgılama fonksiyonları bozulur.

c) Hücre iskeletinde anomaliler: Hücre iskeleti filamanları plazma membranını hücre içine bağlayan bağlar olarak görev yapar. Sitozolik kalsiyumun artışı ile proteazların aktivasyonu hücre iskeletinin elemanlarında hasara neden olabilir (69,70).

Sitoplazmik serbest kalsiyum normalde ATP bağımlı kalsiyum taşıyıcıları ile oldukça düşük yoğunluklarda tutularak hipoksiye bağlı olarak hücre dışından hücre içine kalsiyum geçişi artar. Aynı zamanda hücre içi organellerden de sitoplazmaya kalsiyum serbestleştirilir. Bunların sonucunda hücre içi serbest kalsiyum artar. Artan kalsiyum hücre içi proteaz, fosfolipaz, nükleaz ve ATPaz gibi enzimleri aktifler. Bunun sonucunda ATP daha da azalır, nükleus hasar görür, hücre membranındaki protein ve fosolipidlerin yıkılmasına bağlı olarak membran parçalanır.

d) Reaktif oksijen ürünleri: Oksijen serbest radikalleri hücrede zedelenmeye neden olan aşırı toksik moleküllerdir.

e) Lipit yıkım ürünleri: Membranlarda permeabilitede değişiklikler veya elektrofizyolojik değişikliklere neden olurlar.

f) Hücre içi aminoasitlerin kaybı: Hipoksidede irreverzibl hasardan koruyan bazı aminoasitlerin (glisin) kaybı görülür, membran hasarına predispozisyon oluşturur.

İskemi sonucunda hücre yıkımına bağlı olarak hücre sitoplazmasından Alanin Aminotransferaz (ALT) açığa çıkar. ALT'nin yarılanma ömrü yaklaşık 48 saattir. En çok karaciğer ve böbrek hücresinde bulunur. Kalp ve iskelet kasında daaha az miktarda bulunur. Pankreas, akciğer ve dalakta ise oldukça düşük miktarda bulunmaktadır. ALT yanında ayrıca parçalanan hücrelerden laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi de salınır. LDH hücre sitoplazmasında bulunan bir enzimdir. Birçok dokuda bulunduğu için nonspesifik bir enzimdir. Birçok hastalıkta serum seviyesinde artış gözlenebilir. Beş farklı izoenzimi (LDH1-LDH5) vardır. Kalp, karaciğer, iskelet kası, böbrek ve eritrositler en yüksek miktarda bulunduğu dokulardır.

Son yıllarda iskemi ve oksidatif stresin sentisif bir göstergesi olarak kullanılan iskemi modifiye albümin (İMA) adında yeni bir protein tanımlanmıştır. İMA, iskemik dokulardan üretilen serbest radikaller ile değişikliğe uğrayan albuminin kobalt bağlama kapasitesindeki değişim prensibine bağlı gelişir. Albüminin N-terminal kısmı kobalt,

kurşun ve nikel gibi metaller için bağlanma bölgesi olup iskemi boyunca bu bölge hipoksi, asidoz, serbest radikal ve membran hasarı sonucu değişikliğe uğrar. Değişiklik sonucunda bu metallere bağlanma kapasitesi değişir. Kobalt bağlama yetisindeki azalma İMA artışı ile sonuçlanır. Rezidüel bağlanmamış kobaltın kromojen (dithiothreitol) ile kompleks oluşturmasının fotometrik ölçümü sonucu İMA düzeyi tespit edilir. Bu ölçüm albümin-kobalt bağlama (ACB) testinin temelini oluşturur. Serum düzeyi 52- 116 kiloünite/L arasında değişir. İMA düzeyi myokardial iskemi, infarkt, egzersis ve iskemi yanında siroz, ileri evre kanser, akut enfeksiyon gibi serbest radikal oluşumu ile giden klinik durumlarda da artabilir (71).

Özet olarak hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler, vital ATP sentezi azalır. Membran hasarı öldürücü hasar için kritiktir, hücre ölümüne yol açan biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerde kalsiyum önemli bir mediatördür.

2.5.2. Reperfüzyon hasarı:

Teorik olarak iskemik hasarın reperfüzyonla düzeleceği bilinir. Ancak bilinen bir gerçek de belli durumlarda reperfüzyonun beklenen iskemik hasardan daha fazla hücre hasarına neden olduğudur.

İskemi reperfüzyon hasarının mekanizması bugün tam olarak anlaşılammış olsa da kabul gören fizyopatoloji; iskemi süresi boyunca anaerobik kalan dokunun tekrar kanlandırılması ile oksijenden zengin arteryal kana maruz kalan dokuda ağırlıklı olarak aktifleşen nötrofillerden salınan serbest oksijen radikalleri oluşur. Oluşan bu serbest oksijen radikalleri iskemiye maruz kalarak dış ekilere karşı duyarlaşan ve anaerobik ortam nedeniyle mitokondrial aerobik solunum metabolizması bozulan, enerji kaynakları ve bu kaynaklardan elde ettiği enerjisi azalan, hücre nekrozuna duyarlı hale gelmiş hücrelerde membranda lipit peroksidasyonu, sonrasında membranda parçalanma ve hücre ölümüne yolaçar. Hücre ölümüyle ortaya çıkan hücresel artık maddelere karşı da nötrofiller tarafından duyarlılık gelişir (61-67).

Revaskülarizasyonun getirmiş olduğu kan akımıyla (reflow) beraber oluşan artık maddeler iskemik alandan adeta yıkanarak (wash out fenomeni) uzaklaştırılır. Uzaklaştırılan yıkım ürünlerinin venöz ve pulmoner arter kan akımları ile beraber ağırlıklı olarak akciğer olmak üzere diğer uzak organ kapillerlerini tıkar. Tıpkı iskemiye maruz

kalan alanlarda görülen nötrofil aracılıklı yıkım gibi, bu yıkım ürünlerinin kümelenerek kapillerleri tıkadığı uzak organlarda da kapillerlerde nötrofil marginasyonu, agregasyonu, infiltrasyonu ve enflamatuar yanıt gelişir. Oluşan bu yanıt sonucunda multisistemik multiorgan hasarının olduğu doku zedelenmesi gelişir (67,68,70,71).

İskemi reperfüzyon hasarının mekanizması ile ilgili çeşitli faktörler, serbest oksijen radikalleri, kompleman sistemi, endotel aktivasyonu ve lökositlerdir.

2.5.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır. Kendi aralarında serbest oksijen ve serbest nitrojen radikalleri olarak ayrılabilirler. Hücre içinde elektron transferi sonucunda oluşmaktadırlar. Yörüngelerindeki eşlenmemiş elektronlar nedeniyle oldukça reaktif ve unstabil yapıdadırlar. Stabilitate çevredeki moleküllerden oksidasyonla bir elektron koparılarak elektron çifti oluşturmasıyla sağlanır. Bu nedenle herhangi bir molekül veya atom ile etkileşime girme eğilimindedirler (68-72).

Serbest oksijen radikalleri biyolojik, intrasellüler veya toksik maddelerden kaynaklanabilir. Biyolojik kaynakların en önemlisi lökositlerdir. Lökositler bir uyarı ile uyarıldıktan sonra lizozomal bileşiklerini dışarıya vermeye başlarlar ve reaktif oksijen metabolitleri oluştururlar (72).

İskemi- Reperfüzyon sırasında ROS kaynakları

- Xantin oksidaz sistemi
- Aktive nötrofiller
- Mitokondrial elektron transport sistemi
- Araşidonik asit metabolizması
- Katakolaminlerin oto-oksidasyonu

Hücrelerin normal aerobik metabolizması sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri endojen antioksidan mekanizmalarla hızlıca yıkılır. Patolojik durumlarda serbest oksijen

radikallerinin miktarı antioksidan sistemlerin kapasitesini aşarak artar. Buna bağlı olarak doku hasarı gelişir

Başta iskemi reperfüzyon hasarı olmak üzere ateroskleroz, transplantasyon, diyabet, inflamasyon, romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalıkları, pankreatit, kanser, ilaç toksisitesi gibi durumlar serbest oksijen radikalleri oluşturan patolojik durumlar arasında sayılabilir.

Oksijen radikalleri en önemli özelliği hücre membranındaki lipid peroksidasyonunu başlatıp konjuge dienler, lipid hidroperoksid radikalleri ve lipid hidroperoksidler gibi lipid türevi radikaller çıkarmasıdır. Serbest oksijen radikallerinin diğer bir hasar yapma mekanizması ise aminoasit yan zincirleri oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına, protein yapısında aminoasit ana zincirini okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olmasıdır. Bunların yanında DNA hasarı yaparak, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları da oluştururlar.

Genel olarak serbest radikal reaksiyonları üç gruba ayırabiliriz (78,79,80).

a) Radikal-non radikal reaksiyonu: Bir serbest radikal non-radikal bir molekülle reaksiyona girdiğinde non-radikal molekül bir elektronunu kaybederek serbest radikale dönüşür. Yeni bir radikal oluşumuna neden olan bu tür reaksiyonlara zincir reaksiyonları denir.

b) Radikal-radikal reaksiyonu: İki radikal molekül yörüngelerindeki serbest elektronları kovalen bağ kurarak ortaklaşa kullanabilirler. Bu durum yeni bir radikal oluşumuna neden olmasa bile mevcut toksisitenin artmasına neden olur.

c) Lipit peroksidasyonu: Hücre membranının iç kısmı ağırlıklı olarak lipit yapıdadır. Bu lipit yapının temel elemanı yağ asitleridir. Çoklu doymamış karbon atomu içeren araşidonik asit bu yağ asitlerinin en önemlisidir. Miktarca çoğunluğu oluşturur. Membran bütünlüğü, membran akışkanlığı ve iyon transportunda görev alır. Lipit peroksidasyonu hücre membran lipitlerinin oksidatif hasarı sonucu oluşur. Yağ asitleri parçalanır. Membran bütünlüğü ve selektif geçirgenliği bozulur. Bu durum hücre içine su girişine ve hücrede şişmeye neden olur (71,82,83). Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlayan bir süreçtir (78,85,86). Başlayan reaksiyon

zincirleme şekilde devam eder. Peroksidasyonu artıracak şekilde serbest radikal üretimine neden olur. Reaksiyon sonucunda geri dönüşümsüz hücre membranı hasarı oluşur (93,94).

Lipit peroksidasyonuna maruz kalan membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikal özelliği kazanır. Oluşan lipit radikali kararsız yapıdadır. Bu nedenle tekrar moleküler oksijenle reaksiyona girerek sırasıyla lipit peroksit ve lipit hidroperoksi radikallerine dönüşür. Oluşan hidroperoksit radikalleri oldukça stabil yapılardır (80,81,82).

Lipit peroksidasyonu oluşan lipit hidroperoksitlerinin aldehit, karbonil bileşikleri ve etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile sonlanır. Oluşan aldehitler oksidatif hasarı artırır (70,71). Oksidatif hasara bağlı lipit peroksidasyonunun değerlendirilmesi amacıyla oluşan son ürünlerden MDA plazmada ölçülebilir (72,73,74). MDA lipit peroksidasyonunun başlıca ürünüdür. Uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi nedeniyle hücre içi ve dışındaki birçok biyomoleküle etki ederek irreversibl hasar oluşturur. Bunun yanısıra membran akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve kalsiyum iyonlarının membrandan geçişinin artmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda dokularda artan MDA seviyesinin koroner arter hastalığına, akciğer kanserine, DNA mutasyonlarına ve enflamasyona neden olduğu görülmüştür (73,74).

Başlıca serbest oksijen radikalleri (SOR):

Major SOR

- Superoksid anyonu (O_2^-)
- Hidrojen peroksid (H_2O_2)
- Hidroksil radikali (OH)
- Nitrik Oksid (NO)

Minor SOR

- Lipid hidroperoksid
- Lipid peroksi radikali
- Lipid alkolsil radikali
- Thiol radikali

a) Oksijen (O_2): İki atomu ve dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektronu olan zayıf bir oksijen radikalidir. Suyu redüksiyonu sırasında güçlü ara ürünler oluşabilir.

b) Süperoksit (O₂⁻): Moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle oluşur. Çok güçlü bir radikal olmamasına rağmen toksisitesi oluşan miktarının fazlalığına bağlıdır. Reperfüzyon hasarından sorumludur (75,76).

c) Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Süperoksit radikaline bir elektron eklenmesiyle oluşur. Kendisi serbest radikal olmayıp hidroksil radikaline dönüşerek toksik etki gösteren güçlü bir oksidandır. Olduça mobil olup membranlardan kolayca geçer. Endotel üzerine toksik etkilidir.

Yapısındaki zayıf oksijen bağlarının redükte haldeki demir (FeII) den gelen elektronun katalizlediği reaksiyonla kopmasıyla hidroksil radikali ve hidroksil iyonuna dönüşür. Birçok serbest radikal reaksiyonuna katılan demir güçlü bir pro-oksidan olarak kabul edilir.

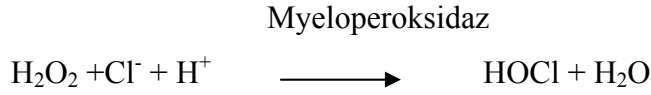
d) Hidroksil Radikali (OH•): Serbest radikaller içinde en reaktif olanı olup diğer radikaller ile sıklıkla reaksiyona girer. Bu özelliği mobilitesini ve toksisitesini sınırlar. Yine de çok tehlikeli ve toksiktir. İnsan vücudundaki her molekülü okside edebilir (77).

e) Lipid peroksil radikali (LOO•): Reaktif radikaller membran lipitlerinden bir hidrojen uzaklaştırarak lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Oluşan lipit radikal (L) oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur.

Oluşan lipit peroksil radikali de başka bir lipitten (LH) hidrojen atomunu uzaklaştırır ve lipit hidroperoksit (LOOH) ile başka bir lipit radikali oluşturur. Bu zincirleme reaksiyonu nitrik oksidin (NO) lipit peroksil radikali ile etkileşerek önlediği gösterilmiştir (78).

f) Nitrik Oksit (NO) ve Peroksinitrit (ONOO•): Nitrik oksit vücutta nörotransmitter, vasodilatör ve bakterisit etkileri olan bir moleküldür. Süperoksit varlığında toksik özellik kazanır (78). Nitrik oksit ile süperoksitin reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten 2000 kat güçlü oksidan etkili peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit direkt etkisinin yanısıra hidroksil radikali ve nitrojen dioksite de dönüşebilir (79).

g) Hipokloröz Asit (HOCl): Nötrofillerdeki myeloperoksidaz enziminin etkisiyle hidrojen peroksit klorlanarak hipokloröz asit oluşur (82). Hipoklorit (hipokloröz asit) güçlü bakterisit etkisinden dolayı evlerde kullanılan temizlik maddelerinin içinde de yer alır.



h) Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$): Kuvvetli oksidan özellikleri olan bir serbest radikaldir. Membran lipitlerine etki ederek peroksitleri oluşturur (80).

2.5.2.2. Kompleman Sistemi

Kompleman sistemi bir dizi plazma proteini ve bu proteinlerin hücre zarı reseptörlerinden oluşmaktadır. Hepatositler, monositler, makrofajlar, böbreğin tubuler ve glomerüler hücreleri kompleman komponentlerinin sentez yerlerinden bazılarıdır. Kompleman sistemi; plazmada inaktif olan enzimlerin aktivasyonu ile etki gösterir. Bu aktivasyon iki ayrı yol olan klasik yol ve aktif yol (properdin yolu) ile bu iki yolun birleşerek oluşturduğu terminal yolda kademeli olarak gerçekleşir. Bunun sonucunda inflamatuvar peptitler, opsoninler ve hücre zarı saldırı kompleksi oluşur. Oluşan proteinlere bağlı olarak enflamasyon bölgelerinde lökositlerin endotele tutunması, anaflaksi, vasodilatasyon ve vasküler permeabilite artışı (C3a, C4a, C5a) gerçekleşir (81).

İskemi reperfüzyon hasarı kompleman sisteminin aktive olmasına neden olarak proinflamatuvar sitokinlerin salınması bir yandan lökositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- α , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyararak inflamatuvar cevabı uyarır.

Miyokard iskemisini ve reperfüzyonu takip eden inflamatuvar cevabın hücresel ve moleküler mekanizmalarının araştırılması sonucunda, miyokard nekrozunun kompleman aktivasyonu ve serbest radikal üretimini indükleyerek TNF- α , salınımı ile sitokin kaskadını başlattığı saptanmıştır (82,83).

Nötrofiller için çok kuvvetli bir kemoatraktan olan C5a, kompleman kaskadından salınan başlıca inflamatuvar faktördür. Damar cidarındaki immün kompleksler kompleman sistemini aktive ettiği zaman C5a salınarak damara nötrofillerin infiltrasyonuna sebep olur. Nötrofiller immün kompleksleri fagosite ederlerken lizozomal enzim ve toksik oksijen metabolitleri salgılayarak damar duvarında hasara neden olurlar. Endotel proliferer olur, trombositler lümeninde kümeleşir, pıhtılaşma kaskadının aktivasyonu ile fibrin depositleri oluşur. Hasarın ilerlemesi ile makrofajlar ve lenfositlerin infiltrasyonu başlar.

Ayrıca bazı kompleman faktörlerinin kagülasyon sistemi ve enflamatuvar yanıtla ilişkili olduğu gösterilmiştir. C1s ve C2b enzimatik aktivitesi pıhtılaşma, fibrinolitik, kinin sistemlerini ve trombositleri aktive etmektedir. C5b6, C7, C8 ve C9'un karıştırılıp saflaştırılması ile elde edilen inaktif terminal kompleksin etkisine maruz kalmış endotel hücrelerin, proinflamatuvar ve prokoagülan etki [doku faktörünün (TF) artışı ve FXa formasyonu] yarattığı gözlenmiştir (84). C5a tarafından endotel hücrelerinde TF indüklenmesi, inflamasyon ile koagülasyon arasındaki muhtemel ilişkiye örnek gösterilebilir.

2.5.2.3. Endotel Aktivasyonu

Kan damarları yapısal bileşenleri sayesinde hemostaz, tromboz ve enflamasyonun kontrolünde kritik öneme sahiptir. Endotel kan ile dokuları birbirinden ayıran tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan fonksiyonel bir bariyerdir. Damar fonksiyonunun idamesinde esas teşkil eder.

Fonksiyonel olarak seçici geçirgen bariyer özelliği sayesinde kan ve dokular arasında madde alışverişini sağlar. Bu sayede enflamasyon, immün cevap ve yara iyileşmesi gerçekleşir. Enflamasyon sırasında nötrofiller çeşitli adezyon molekülleri ile endotele bağlanır. Bu bağlanma endotel hücre hasarı ve permeabilite artışı ile sonuçlanır (85).

Normal endotel, trombosit agregasyonunu ve koagülasyonun aktivasyonunu inhibe eder. Fibrinolitik özellik gösterir. Bu sayede pıhtılaşmayı önleyici bir yüzey oluşturur. Buna karşın enflamasyon ve endotel hasarı oluşturan durumlarda prokoagülan davranır (85).

Antitrombosit etkisi, endotel hücrelerinin ürettiği araşidonik asit metabolizma ürünü olan prostasiklin (PGI_2), NO ile yüzeylerinde eksprese ettikleri CD39'a bağlıdır. Trombosit adezyon, aktivasyon ve agregasyonu ile lökositlerin endotele yapışması önlenir. Damar düz kasında gevşeme olur (86,87).

Antikoagülan etki, endotel hücre yüzeyindeki trombomodulinin trombini bağlamasına, endotel hücreler tarafından antikoagülan etkili protein C ve protein S salınımına, endotelin luminal yüzeyinde ve subendotelial alanda sentezlenen heparan sülfatın

antitrombini aktiflemesine ve karaciğer hücrelerinde de sentezlenen doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI)'nün endotel hücrelerinden salınımına bağlıdır (88).

Vasküler tonusun düzenlenmesi de sağlıklı bir endotelin fonksiyonudur. Bu endotel kaynaklı vasodilatatör mediatörler olan NO, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) ve PGI₂ ile endotel kaynaklı vasokonstriktör mediatör olan endotelin-1 (ET-1) arasındaki denge ile sağlanır.

Endotel hücrelerinde iskemi sonrası reperfüzyon fazında hücre nekrozuna kadar ilerleyen hasar oluşur. Oluşan hasarın tetikleyicisi olarak oluşan serbest radikallerin hücre membranı ve yapısal elemanlarında litik etki oluşturması kabul edilir. Endotel hasarı gelişimi endotel kaynaklı mediatör ve serbest radikallerin etkisiyle daha fazla lökositin endotel hücrelerine saldırmasına neden olur. Bir kaskat halinde ilerleyen hasar sonucu endotel yıkılır. Antikoagülan özelliğini kaybeder. Prokoagülan etkisiyle trombosit ve yeni gelecek olan lökositlere hedef haline gelir. Trombüs gelişir ve yıkım daha da artar (84,89).

Pinsky ve arkadaşları, hipoksik endotel hasarı sonucu endotel hücrelerinin Wiebel-Palade cisimleri adı verilen sitoplazmik depolarını ortama bıraktığını gösterdiler (90). Wiebel-Palade cisimlerinde yer alan von Willebrand faktör, trombosit-nötrofil agregasyonuna ve mikrotromboz oluşumuna neden olmaktadır.

Endotelin çeşitli organik ve inorganik maddelerin geçişinde bariyer görevi görmesi, koagülasyon sistemindeki rolü ve hücrel hasara cevap olarak çeşitli mediyatörler salgılaması, endoteli reperfüzyon patogenezinde ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde daha da önemli kılmaktadır (91).

2.5.2.4. Lökositler

İskemi-reperperfüzyon hasarına en önemli katkıyı sağlayan hücrelerdir. Hem lokal hasardan hemde uzak organ asarından sorumludurlar. Oluşturdukları hasar serbest oksijen radikalleri, sitokinler (IL-1, IL-6, TNF α) ve sitotoksik enzim salınımına bağlıdır. Endotel hasarı ve kapiller tıkaçlar, kapiller geçirgenlikte artma, doku ödemi ve dokuda nekroz şeklinde görülür (92).

Lökositlerin endotel hücrelerine yapışması (adezyon) doku hasarının ilk aşamasıdır. Bu yapışmada lökosit integrinleri, endotelyal intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1),

selektin ailesinden L-selektin (lökosit yüzeyinde), E-selektin (endotel yüzeyinde) ve P-selektin (endotel yüzeyinde) gibi çeşitli adezyon molekülleri görev alır. Bu şekilde adhezyona uğramış lökositler C5a, lökotrien B₄ (LTB₄), interlökin- 8 (IL-8) ve platelet aktive edici faktör (PAF) vasıtasıyla aktive edilirler. Lökositlerin aktive edilmesi ile transendotelyal migrasyon gerçekleşir. Olay kemotaksis ve hücre nekrozuna ilerler (93).

Tüm bu patolojik ve fizyolojik süreçlerde lökositlerin yapılarında bulunana granüller lökosit fonksiyonlarında önemlidir. İki tip granül içerirler. Bunlardan azurofilik granüller; asit hidrolazlar, myeloeroksidaz (MPO), elastaz, katepsin G, proteinaz 3, defensinler ve alfa- 1 antitripsin içerir. Spesifik granüllerde ise laktoferrin ve lizozim bulunur.

Azurofilik granüllerde bulunan myeloperoksidaz (MPO) enzimi fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. MPO çeşitli bileşikleri (elektron ya da hidrojen donörleri) okside edebilen bir enzim substrat kompleksi oluşturmak için H₂O₂ ile birleşir. Bunların oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla organizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir. Bu toksik ajanlar hücre ölümüne yol açarlar (90).

Lökosit fonksiyonunun inhibisyonu yoluyla yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda reperfüzyon hasarının azaldığı gösterilmiştir. Lökosit metabolizmasını inhibe eden ATP-MgCl₂, ilioprost ve adenzin gibi ilaçların iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği gösterilmiştir (89,90,92). Lökosit düzeyleri düşürülmüş, oksijenlenmiş kanla yapılan reperfüzyonun hasarı belirgin olarak azalttığı tespit edilmiştir (93). Nötropenik hale getirilmiş sıçanlarda reperfüzyon sonrası bozulan çizgili kas dinlenme potansiyeli ve kontraktıl fonksiyonu tamir olmuştur.

2.6. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ KLİNİK SONUÇLARI

Aort cerrahisi ve özellikle alt ekstremitte aterlerinin cerrahi işlemleri sırasında geçici süre ile ugalanan vasküler klemplere bağlı olarak alt ekstremitte iskemi- reperfüzyon hasarı ortaya çıkmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında klinik bulgular iki kategoride incelenir. Bunlar lokal ve sistemik uzak organ bulgularıdır.

2.6.1. Lokal organ bulguları

İskeminin lokalize olduğu doku alanında önce iskemik hasara bağlı bulgular gelişir. Bunlar dayanılmaz ağrı, ciddi iskemi, ekstremitte rijidite, rigor mortis ve ödemdir. Kas

yıkımına bağılı olarak değişik derecelerde metabolik asidoz, oligüri, myoglobinüri görülebilir. Revaskülarizasyon sağlandıktan sonra masif kas ödemi, bacakta kompartman sendromu, şiddetli ağrı ve gangren gelişir. Asidoz ağırlaşır. Potasyum daha da artar. Kardiak arreste sebep olabilir. Kreatin fosfokinaz, LDH ve serum glutamikoksaloasetik transaminaz düzeyleri artar. Miyoglobinüri ile birlikte oligüri/anüri gözlenir. Renal shutdown gelişerek akut renal yetmezliğe gidiş gözlenir (94).

Bazı durumlarda da “no reflow” sendromu gelişir, revaskülarizasyon sağlansa bile reperfüzyon oluşamaz. Bu klinik durumun en önemli sebebi; endotel hücrelerinin ödemi ve kapiller trombosir tıkaçları nedeniyle mikrovasküler dolaşımın sağlanamamasıdır (94,95).

2.6.2. Uzak organ bulguları

İskemi sonrası revaskülarizasyon sağlanmasıyla başlayan reperfüzyon fazında sistemik etki ile uzak organ hasarı gelişebilir. Uzak organ hasarının mekanizması halen tam olarak ortaya konulamamıştır. Kabul gören başlıca mekanizma; revasküle edilen iskemik alandan doku yıkım ürünü olan metabolik artıkların sistemik dolaşıma katılmasıyla sistemik inflamatuvar yanıtın oluştuğudur. Oluşan sistemik inflamatuvar yanıtla IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler, trombosit aktive edici faktör (PAF), lökotrienler ve eikosanoidler salınır. Sitokinlerin etkisiyle nötrofiller, trombositler ve diğer inflamatuvar hücreler aktifleşir. Nötrofillerin aktifleşmesi nötrofil kaynaklı proteazların ve serbest oksijen radikallerinin salınımına neden olur. Buna bağılı olarak uzak organ kapiller endotellerinde başlayan ve endotel altı dokulara yayılan yıkım görülür. Sitokinlerin etkisiyle aktifleşen trombositlere bağılı olarak hasar gören kapiller endotel alanlarında pıhtı oluşur. Oluşan pıhtı kapillerleri tıkar. Nötrofil aktivitesi ile yıkımın olduğu dokularda trombositlerin aktive olmasıyla kapillerlerin tıkanması dokunun beslenmesini bozarak yıkımı daha da artırır. Yıkım ve yıkım ürünleri kapiller permeabilityyi artırarak enflamasyonun yayılmasına ve doku ödemeine neden olur. Tüm bunların sonucunda organ fonksiyonları bozularak klinik bulgular gözlenir (66,67,69).

2.6.2.1. Akciğer hasarı

Alt ekstremitte iskemisi sonrası uzak organ reperfüzyon hasarında akciğerler hedef organ konumundadır (96). Akut alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonunda akciğer hasarı önemli derecede postoperatif mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Başlangıçta

linik; hipoksemi, pulmoner hipertansiyon, azalmış akciğer kompliansı ve nonhidrostatik pulmoner ödem oluşan akut akciğer hasarının birer bulgusu olarak ortaya çıkar. Tamamen sublinik seyreden geçici bir durumdur. Hastaların büyük bir kısmında bu durum geri dönüşümlüdür. Ancak bu durum devam ederse, artmış kapiller permeabilite plazmanın alveollere geçmesine ve surfaktan inaktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda yatan hastada erken hava yolu kapanması, pulmoner ödem, bölgesel ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğu ve akut akciğer hasarından ARDS'ye doğru ilerleme gözlenir (102).

Akut alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon dönemi sonunda ortaya çıkan akciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Plazmada ve dokuda artmış serbest oksijen radikalleri, sitokinler (IL-6, IL-8, TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), eikosanoid ve lökotrien salınımı gibi bir çok mekanizma bildirilse de bu konuda kesin bir görüş birliği ortaya konulamamıştır. Hasarı başlatan mekanizma ne olursa olsun sonuç olarak artmış polimorfonükleer lökosit (PMNL) aktivitesi, kemoatraksiyonu ve infiltrasyonu, en sonunda PMNL degranülasyonuna sebep olmaktadır. Degranülasyon sonrası artan serbest oksijen radikalleri ve proteazlar akciğer endotel hasarına ve buna bağlı gelişen artmış pulmoner kapiller permeabiliteye sebep olmaktadır (96,97,102). Yaptıkları bir çalışmada Eliason ve arkadaşları, akut alt ekstremitte iskemisi gelişen ve cerrahi tedavi uygulanan 70 hastada erken postoperatif dönemde %64 oranında pulmoner komplikasyon bildirmişler (97).

Yapılan klinik çalışmalarda akut akciğer hasarı ve ARDS'nin sistemik enflamatuvar yanıtın sonucu olduğu ve bu yanıtın oluşmasında da nötrofil aktivasyonunun ve kapiller permeabilite artışının önemli rol oynadığı gösterilmiştir (99,100,101). Rajmakers ve arkadaşları aort cerrahisi sonrası hem akciğerlerde hem de deride mikrovasküler permeabilitede artış göstermişlerdir. Rajmakers ve arkadaşları vucutta IL-8 seviyelerinin arttığını ve bu artışın da akciğerdeki permeabilite değişikliklerinde önemli rol oynadığını göstermişlerdir (98).

2.6.2.1.1. ARDS (Akut Respiratuvar Distres Sendromu)

ARDS oksijen tedavisine cevap vermeyen, her iki akciğeri de içine alabilen nonkardiyojenik yaygın infiltrasyonla karakterize akut akciğer hasarının en ağır şeklidir.

Bugüne kadar “şok akciğeri”, “transfüzyon akciğeri” “reperfüzyon akciğeri” ve “erişkin respiratuar distress sendromu” şeklinde adlandırılmıştır (99).

Etyolojide pulmoner ve ekstrapulmoner sebepler rol alır. Pulmoner sebepler arasında aspirasyon pnömonisi, infeksiyöz pnömoni, septik emboli, amniyotik sıvı embolisi yer alırken ekstrapulmoner sebepler arasında ise akut pankreatit, bakteriyemi, yanıklar, çoklu travma, gazlı gangren, reperfüzyon hasarı, kafa travması ve yanıklar yer almaktadır (100, 101).

1992’de yapılan Amerikan-Avrupa ARDS konsensus konferansında “akut respiratuar distress sendromu” terminolojisi kabul edilmiş ve akut akciğer hasarı (ALI) ve ARDS tanı kriterleri ortak karara bağlanmıştır. Bu tarife göre ALI, ARDS’nin erken safhası olarak gösterilmektedir (Tablo 1).

Tablo1 : ALI ve ARDS nin Amerikan-Avrupa ARDS konsensusuna göre tanım

Solunum sıkıntısının olması
Hipoksemi
ALI için $PaO_2 / FiO_2 < 300$ mmHg
ARDS için $PaO_2 / FiO_2 < 200$ mmHg
Standart akciğer grafisinde bilateral konsolidasyon
Sol ventrikül yetmezliğinin klinik bulguları
PCWP < 18 mmHg (PEEP’den bağımsız)

ALI: Akut akciğer zedelenmesi

ARDS: Akut solunum sıkıntısı sendromu

PCWP: Pulmoner kapiller köşe basıncı

PEEP: pozitif ekspiryum sonu basınç

ARDS ister pulmoner olsun, ister ekstrapulmoner olsun, akciğerde oluşan değişiklikler hemen her zaman aynıdır. ARDS başladıktan sonraki ilk 24 saat içinde gelişen eksudatif fazı, daha sonraki 7-10. günlerde fibroproliferatif faz takip eder (102) .

Eksudatif faz klinik olarak 24-72. saatlerde tespit edilebilir. Pulmoner vasküler basıncın normal oluşuna rağmen alveolo-kapiller membrandaki bütünlüğün bozulmasına bağlı

olarak artan geçiçenlik proteinden zengin sıvının, hücrelerin, koagülasyon faktörlerinin, inflamatuvar mediatörlerin interstisyuma ve alveoler alana geçişiyle sonuçlanır. Alveollerin vasküler alandan sızan sıvı ile dolması akciğerlerin solunum sırasındaki kompliyansının azalmasına neden olur. Bunun sonucunda alveoler ventilasyon bozulur ve solunum işi ve yükü artar (103)

Perfüze olan ancak ventile olmayan akciğer alanları nedeniyle oksijen tedavisine rağmen hipoksemi devam eder. Bu safhada akciğer röntgeninde bilateral infiltrasyon, bilgisayarlı tomografi de alveol içinde homojen olmayan görüntüler tesbit edilebilir (104).

İlerleyen günlerde akciğer Tip 1 ve Tip 2 pnömositlerin hasarı sonucu alveolün doku bütünlüğü ve surfaktan yapımı bozulur. Hiyalen membran formasyonu gelişir. Mortal seyretmeyen hastalarda iyileşme genellikle 7-14 günlerde olmaktadır (104).

Proliferatif faz olarak isimlendirilen fazda anormal kollajen ile doku istilası söz konusudur. Yani interstisyel fibrosis gelişir. Ödemin yerini fibrozisin alması akciğer mekaniğinin bozulmasına ve brankospazma neden olur. Ölü boşluk artar (> %70-80), dakika ventilasyon artar (> 15 L/dak) ve pulmoner hipertansiyon gelişir.

Tedavisinde mekanik ventilasyon hayat kurtarıcıdır. Ayrıca yapılan çalışmalarda pron pozisyonunun oksijenasyona yardımcı olduğu bulunmuştur. Yüksek frekanslı ventilasyon ise tedaviye dirençli vakalarda etkinliği kanıtlanmış olan diğer bir yöntemdir. Ekstrakorporeal dolaşım (ECMO) tedavisi ise ARDS tedavisinde kullanılan seçenekler arasında olan ve akciğeri istirahate alarak toparlanma süresince oksijen alımının membran oksijenasyonu ile sağlanmasına yardımcı olan diğer yöntemdir. Ayrıca ve sıvı rejimi tedavilerinin de ARDS vakalarına faydalı etkileri bulunmuştur. Farmakolojik tedaviler arasında ise surfaktan, nitrik oksit ve kortikosteroidlerin etkinliği kanıtlanmış olup seçilmiş vakalarda kullanılmaktadır.

2.7. KLOTRİMAZOL

Klotrimazol, çeşitli mantar enfeksiyonlarına karşı topikal olarak kullanılan, geniş spektrumlu imidazol türevi antigungal bir ilaçtır. Mantar hücre zarındaki primer sterol olan ergosterolün sentezini engeller. Bu işi, bir sitokrom P-450 enzimi olan lanosterol-ergosterol dönüşümünü yapan C-14- α -demetilazı inhibe ederek yapar. Klotrimazol hem P-

450 enzim inhibitörü olarak hem de direkt olarak kalsiyum ile aktive olan K kanallarını tolere edilebilir dozlarda bloke ederek etki gösterir (105).

Ayrıca voltaj bağımlı Ca kanallarını da inhibe eder. Sitokrom P-450 hipoksi ve iskemi durumlarında oksidatif metabolizmanın artışına neden olur. Klotrimazol; potent bir antimikotik ilaç olmasının yanında önemli bir serbest oksijen radikal temizleyicisidir. Klotrimazolün radikal temizleyici etkinliğinin sitokrom P-450 ye bağlı enzimleri inhibe ederek, dolayısıyla hücreye Ca girişini inhibe ederek oluşturduğu bildirilmektedir. Hipoksi ve iskemi sırasında hücrelere aşırı kalsiyum girişi olur. Aşırı kalsiyum birikimi Ca'a bağlı proteazların aktivasyonuna yol açarak mitokondrilerde dekstrüksiyon oluşturur. NO sentaz aktivasyonu ve serbest oksijen radikalleri oluşur. Birçok çalışma göstermiştir ki klotrimazolün radikal temizleyici etkisi insan hücre tiplerine göre değişkendir (105,106,109). Klotrimazolün nöroprotektif etkisi kalsiyum transportunu engelleyerek primer cerebellar hücre kültüründe ve spinal kord hasar modellerinde gösterilmiştir. Literatür tarandığında spinal kord travmalarında iskemi ve reperfüzyon oluşturulan deneysel hayvan modellerinde klotrimazolün membran kalsiyum kanallarını süprese ederek neuroprotektif etkisi ve yine kalp kası ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda iskemiye düzeltmede yararlı olduğu gösterilmiştir (109,110).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra (2009 tarih ve 33 numaralı Etik Kurul onayı) Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada Deneysel Hayvanları Laboratuvarlarında üretilen 36 adet sağlıklı Sprague- Dawley türü erkek rat kullanıldı. Ratların ağırlığı 420 ± 56 gramdı. Tüm ratlar deneyden önceki 12 saat aç bırakılarak sadece su verildi.

3.1. DENEY SÜRECİ

Deney protokolü:

Bu deneysel yöntem 1995 yılında Thomas Lindsay tarafından “ Ratlarda rüptüre abdominal aort anevrizması modeli” olarak yayınlanmış, ideal şok, iskemi ve reperfüzyon süreleri ile klempin koyulacağı yer detaylı olarak tanımlanmıştır (15).

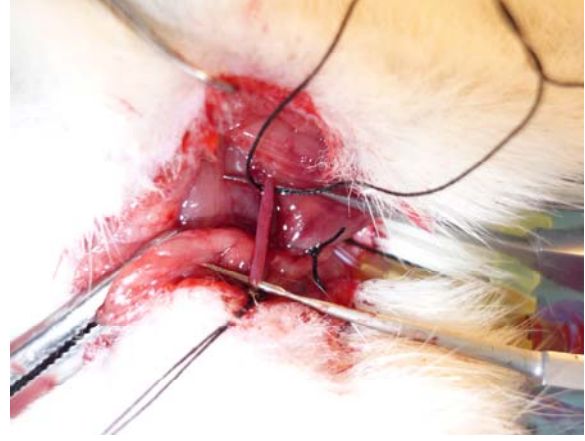
Bütün cerrahi işlemler cerrahi loop kullanılarak yapıldı (Design for Vision x 3.5)

Bu modele göre tanımlamalar:

AKM: Anestezi + Kateterizasyon + Monitorizasyon

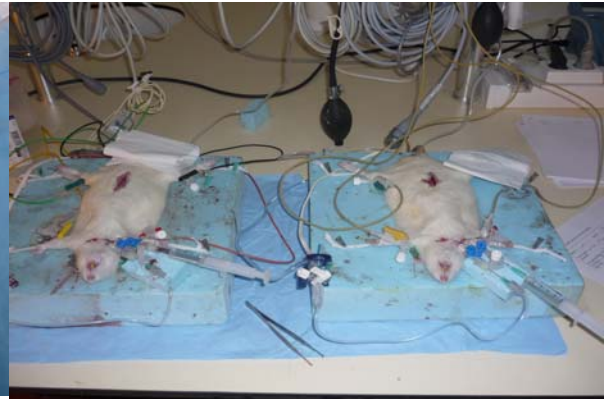
Anestezi: Ratlar spontan solunumda kalacak şekilde uyutuldu. Bu amaçla Xylazine 10 mg/kg olarak intramüsküler, Ketamin 50 mg/kg dozunda intramüsküler olarak verildi, gerektiğinde tekrarlandı. Anestezi derinliği parmak kıstırma yöntemiyle belirlendi.

Kateterizasyon: Arteriel basınç takiplerinin yapılması için sağ karotis arter, kan ve mayi replasmanı için sol internal juguler venin kateterizasyonu yapıldı.



Resim 1 ve 2: Rat karotis arterinin kateterizasyonu için hazırlanması ve kateterizasyonun tamamlanmış hali

Monitorizasyon: Kan basıncı, kalp hızı ve solunum sayısı monitorize edildi. (Monitor: Nikon Kohden BSM-4113K, Basınç transducer seti: Abbott transpac)



Resim 3: Anestezi, kateterizasyon ve monitorizasyonu yapılarak hazırlanmış rat

Resim 4: Deney sürecinde ratların izlenmesi

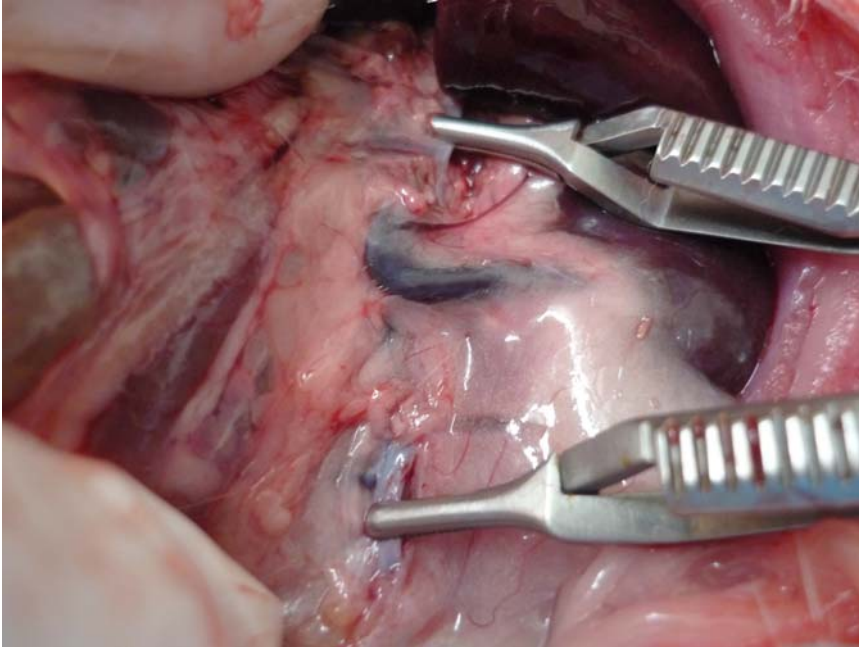
Şok: Heparinli 5 ml lik enjektöre karotis arterden kan alınarak ortalama arteriel basınç (MAP) ≤ 50 mmHg ya düşürüldü ve 60 dakika boyunca bu basınçta tutuldu. Modeldeki şok süresi 60 dakikadır. (Modeldeki şok sürecinde hastadaki anevrizma rüptürü ve hemorajik şok simüle edildi).



Resim 5: Heparinli enjektöre kan alınarak şok oluşturulması

Laparotomi: Median batin insizyonu ile retroperitoneal bölgede abdominal aorta ulaşıp klemplenecek alanın gerekli eksplorasyonu yapıldı.

İskemi(X-Klemp): Laparotomi ve aort eksplorasyonu yapıldıktan sonra superior mezenterik arterin üzerinden ve iliak bifurkasyondan birer adet buldog klempler koyularak aort klemplendi. 60 dakika boyunca aort klempli kaldı. (Modeldeki iskemi sürecinde; cerrahi tedavi yani aort klempli ile kanamanın durdurulması ve cerrahi rekonstrüksiyon süreci simüle edildi).



Resim 6: Laparotomi sonrasında aort klemplerinin koyulması

Resusitasyon: Klemp koyulduktan sonra rattan alınarak saklanmış olan kanın yarısının geri verilmesidir.



Resim 7 ve 8: Tüm deney boyunca kalp hızı, invaziv arteriel basınç ve solunum sayısı monitorize edilerek takip edildi.

Reperfüzyon: İskemik sürecin sonunda klempler açılarak alt beden yeniden kanlandırıldı. Bu sırada rattan alınmış olan kanın geri kalan yarısı da verildi, ayrıca ringer laktat infüzyonu da yapılarak $MAP \geq 100\text{mmHg}$ tutuldu. 120 dakika süreyle reperfüzyon uygulandıktan sonra ratlar kan alma yöntemiyle öldürülerek kan ve doku örnekleri toplandı.

SF: Serum Fizyolojik - % 0.9 NaCl (Baxter)

KT: Klotrimazol

Clotrimazole (CTZ) (Sigma- Aldrich)

(1-(2-chloro-phenyl) diphenylmethyl- 1H-imidazole, CAS-Reg.-No. 23593-75-1)

PEG: Polietilen glikol (Klotrimazol'ün çözücü maddesi) (Sigma- Aldrich)

RL: Ringer Laktat (Baxter)

Standard deney hayvanlarına 12 saatlik açlık süresinden sonra anestezi verilecek ve deney protokolü başlatıldı.

Çalışma grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu.

SIR: Şok+ İskemi/Reperfüzyon

1. Grup 1 (n = 6) : Sh (Sham)

60 dk bekleme + Laparotomi + 180 dk bekleme

2. Grup 2 (n = 9) : SIR (Şok + İskemi- Reperfüzyon)

60 dk Şok + Laparotomi + 60 dk X-Klemp + SF + Resüsitasyon + 120 dk Reperfüzyon

3. Grup 3 (n = 6) : Sh + KT (Sham + Klotrimazol)

60 dk bekleme + Laparotomi + 60 dk bekleme + KT + 120 dk bekleme

4. Grup 4 (n = 6): Sh + PEG (Sham + Polietilen glikol)

60 dk bekleme + Laparotomi + 60 dk bekleme + PEG + 120 dk bekleme

5. Grup 5 (n = 9): SIR + KT (Şok + İskemi-Reperfüzyon + Klotrimazol)

60 dk Şok + Laparotomi + 60 dk X-Klemp + KT+ Resüsitasyon + 120 dk Reperfüzyon

Yapılan işlemlerin özeti aşağıda verilmiştir.

Gruplar	n	AKM	Şok 60 dk	Ekspl	Heparin 100U	İskemi 60 dk	İlaç 1 ml ip	Reperfüzyon 120 dk
1	6	+	-	+	+	-	SF	-
2	9	+	+	+	+	+	SF	+
3	6	+	-	+	+	-	KT	-
4	6	+	-	+	+	-	PEG	-
5	9	+	+	+	+	+	KT	+

Tablo 1: Deney grupları ve yapılan işlemler

Aşamalar ve metod:

1. Kateterizasyon aşaması: Sağ karotis arter ve sol internal juguler ven cerrahi olarak eksplore edilerek 22G intraketle kanüle edildi, kanül ucuna silikonlu plastik tıpa yerleştirildi ve transducer setinin ucu buraya saplanarak monitöre bağlandı, deney boyunca invaziv basınç monitorizasyonu devam ettirildi.
2. Şok aşaması: Kateterizasyon işlemi bitirildiğinde Grup 2 ve Grup 5 deneklere içinde 500 Ünite Heparin olan 5 ml lik enjektöre MAP≤50 mmHg oluncaya kadar kontrollü bir şekilde karotis arterden kan alınarak şok yaratıldı. Bu kan resüstasyonda kullanılmak üzere oda ısısında muhafaza edildi. Şok süresi MAP≤ 50mmHg olduktan sonra 1 saat devam ettirildi. Bu süreçte MAP ≤50mmHg olması için gerektiğinde belli aralıklarla yeniden kan alındı ve bu miktarlar ve zamanları

kaydedildi. Alınan kan hacmi ratın kilosuna göre hesaplanan total kan hacminin % 30'unu geçmedi.

Deneklerden alınacak kan miktarı literatürde ortalama 3-7 ml olarak belirtilen düzeylerde tutuldu.

3. Laparotomi + İskemi + Resüsitasyon aşaması: Şok aşamasının sonuna doğru median laparotomi yapılarak abdominal aort eksplore edildi, eksplorasyon sonrası bütün deneklere 100U Heparin iv uygulanarak antikoagülasyon sağlandı. 1 saatlik şok aşaması bittiğinde Grup 2 ve Grup 5 deneklere superior mezenterik arterin üzerinden ve aortik bifürkasyo düzeyinden bullog klempler koyularak iskemi başlatıldı, klempler koyulduğu anda resüstasyon başlatılarak deneklerden alınarak oda ısısında muhafaza edilmiş kanın yarısı internal juguler venden geri verildi.
4. İlaç verilmesi: 1 saatlik iskemik sürecin 55. dakikasında Grup 1 ve Grup 2 deneklere 1 ml SF , Grup 3 ve Grup 5 deneklere 30mg/kg KT, Grup 4 deneklere 1 ml PEG intraperitoneal olarak verildi. PEG; Klotrimazolün likid çözücüsüdür.
5. Reperfüzyon aşaması. Grup 2 ve Grup 5 deneklerde 1 saatlik iskemik sürecin sonunda aort klempleri yeniden açılarak alt beden iskemisi sonlandırıldı ve reperfüzyon başlatıldı. Klemp açılmadan hemen önce deneğin kendi kanından geri kalan da deneğe geri verildi.
6. Denekler 120 dakika boyunca reperfüzyonda bırakıldılar, bu sırada MAP \geq 100 mmHg olacak şekilde deneklere serum fizyolojik replasmanı yapıldı ve verilen miktarlar kaydedildi.
7. Deneyin sonlandırılması: 120 dakikalık reperfüzyon süresinin sonunda bütün kan alınma yöntemiyle ötanazi uygulandı.
8. Alınan kan örneklerinde kan gazı analizleri yapıldı, santrifüj edilerek bir kısmında biyokimyasal parametrelerin bazıları hemen çalışıldı, geri kalanlar ise – 80 derecede dondurularak diğer parametreler çalışıldı.
9. Akciğer dokuları çıkarılarak bir kısmı enzimatik çalışma için – 80 derecede donduruldu, ayrıca doku örnekleri histopatolojik incelemeler için formaldehitte fiske edildiler.

3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.2.1. Serum ve plazma analizleri

3.2.1.1. Malondialdehit ölçümü (MDA)

Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı reaksiyonlardan biri lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri de malondialdehittir. Plazma ve dokularda MDA'nın ölçümüyle serbest oksijen radikalleri hakkında bilgi edinilir (111).

Serum MDA ölçüm yöntemi

Rat plazma örneklerinde MDA miktarı 1984 yılında Yagi tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak ölçüldü (112,113).

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk 532 nm dalga boylu ışıkta spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçüm sonucunda plazma MDA miktarları nmol/mL olarak hesaplandı.

3.2.1.2. Miyeloperoksidaz ölçümü (MPO)

En çok nötrofillerde bulunan ve peroksidaz enzimi olan Miyeloperoksidaz; nötrofillerin azurofik granüllerinde depo edilen lizozomal bir proteindir. Heme pigmentine sahip olduğu için pü ve bazı mukus örnekleri gibi nötrofilden zengin sekresyonların yeşil rengini verir.

MPO'nun fonksiyonu; Nötrofillerde hücre solunumu sırasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve klorid (Cl^-) anyonundan hipokloroz asit ($HOCl$) oluşturur, bu işlem sırasında heme kofaktör olarak kullanılır. Ayrıca hidrojen peroksidi bir oksitleyici ajan olarak kullanarak tirozini oksitleyerek tirozil radikale çevirir. Serum ve doku MPO değerlerinin ölçülmesi nötrofil aktivasyonu hakkında bilgi verir.

Serumda MPO düzeylerinin ölçüm yöntemi

Serum MPO seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Hycult biotech, Catalog No. HK105, The Netherland) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar ng/ml cinsinden verildi (112).

3.2.1.3. Serum TNF α ölçümü

Tümör nekrotizan faktör- α ; 17 kDa ağırlığında, aktive makrofajlardan, monositlerden, T lenfositlerden, killer hücrelerden ve fibroblastlar tarafından üretilen bir proinflamatuvar sitokindir. TNF- α , güçlü bir kemoatraktanttır ve erken sitokin cevabı oluşturur, IL-1,IL-6,IL-8 ve PAF salınımı düzeyleri artar. Serebral veya iskelet kası I-R hasarında yükselmiş serum TNF- α düzeyleri tesbit edilir ve pulmoner I-R hasarında nötrofil sekestrasyonu ve permeabilite artışı yaptığı bilinir. Alt ekstremitte iskemisi sırasında serum TNF- α hızlı artışı, rat akciğerlerinde iNOS tarafından up-regüle edilen NO üretimini artırır. Aynı çalışmada alt ekstremitte iskemisi oluşturulmadan önce TNF- α aktivitesinin inhibe edilmesi ile pulmoner NO üretiminin azaldığı ve IR hasarının şiddetinin azaldığı gösterilmiştir. TNF- α , ROS üretimine sebep olur ve muhtemelen ICAM-1 salınımını artırmak yoluyla vasküler endotelyumun nötrofile bağlı hasara olan hassasiyetini artırır (114).

Çeşitli hayvan modeli çalışmalarında TNF- α blokajının IR hasarının şiddetini azalttığı yolunda tedavi edici bir etkisi olduğunu göstermektedir. Anti-TNF α antikoru IR hasarına bağlı akciğer hasarına karşı koruyucu rol oynarlar, mikrovasküler hasarı önlerler, no-reflowu düzelterek IR hasarının lokal ve sistemik etkilerini azaltırlar.

Serum TNF α düzeylerinin ölçüm yöntemi

Serum TNF α seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyime-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Bender MedSystems, Catalog No. BMS622, Vienna, Austria) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar pg/ml cinsinden verildi.

3.2.1.4. Serum IL6 ölçümü

İnterlökin-6, 19-26 kDa ağırlığında, monositler, fibroblastlar, keratin hücreleri ve endotel hücreleri tarafından üretilen bir protein olup IL-1 ve TNF α ya cevap olarak üretilir.IL-6 nötrofillerde oksidasyonu (respiratuvar brüst) başlatır ve stimule eder, endotelial hücrelerden ICAM-1 salınımını ve endotelial permeabiliteyi artırır.

IL-6, periferik arter hastalarında hipoperfüze iskelet kası tarafından üretilir, ayrıca aortik anevrizma cerrahisinin reperfüzyon fazında sistemik olarak salınır.

Serum IL-6 düzeylerinin ölçüm yöntemi

Serum IL-6 seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Bender MedSystems, Catalog No. BMS625, Vienna, Austria) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar pg/ml cinsinden verildi.

3.2.1.5. Serum İskemi Modifiye Albümin ölçümü

İskemi Modifiye Albumin (İMA); organizmada doku hipoksisini gösteren bir markırdır. İskemiye sensitiftir ancak dokuya spesifik değildir. Öncelikle miyokard iskemisinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır (115).

Dolaşımda serum proteinlerinden en fazla albumin bulunur. Albuminin değişik ligantlara bağlanabilme özelliği çok yüksektir. Bu nedenle dolaşımda endojen veya eksojen toksik moleküller olduğunda özelliği değişmiş bu albumin tamponlayıcı bir ajan gibi davranır. Albumin molekülünün ucundaki amino terminali (N-terminal) kobalt, bakır, ve nikel gibi elementlere primer olarak bağlanan bölgedir. İskemik dokuyla karşılaşan albuminin N- terminali değişikliğe uğrayarak metallere bağlanma kapasitesi azalır. Bu metallere bağlanma kapasitesi azalmış albumine İskemi Modifiye Albumin adı verilmiştir. Serum albuminini İMA ya dönüştüren mekanizmalar; organizmanın maruz kaldığı hipoksi, asidoz, süperoksit radikallere bağlı hasar, enerji bağımlı membran hasarı, serbest demir ve bakıra maruz kalma gibi durumlardır. Değişik çalışmalar İMA oluşumunun sadece miyokard enfarktüsüyle sınırlı olmadığını, değişik dokuların maruz kaldığı çeşitli iskemi-reperfüzyon hasarı modellerinde İMA'nın arttığını göstermektedir. İMA artışı hipoksiden başka organizmada serbest radikal artışıyla karakterli karaciğer sirozu, akut enfeksiyonlar, ilerlemiş kanser gibi durumlarda da görülür.

Normalde total albumin konsantrasyonunun % 1-2'si kadar olan İMA, iskemik bir durum yaşayan hastalarda % 6-8 oranına yükselir. Akut MI da nekroz görülmeden önce en erken yükselen markırlardan biridir, iskeminin ilk 6-10 dakikasında pozitifleştiği, 6 saat boyunca yüksek kaldığı gösterilmiştir (116).

Yine aynı çalışmada ST segment elevesyonlu (STMI) akut miyokard enfarktüsünde perkütan koroner revaskularizasyon sonrasında 2.5 saatte İMA'nın normal düzeylere indiği gösterilmiştir. İMA değerlerinin 12-24 saat içinde normal değerlere dönmesi albumindeki değişikliklerin geri dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Bu durum iskeminin giderilmesi ardından serbest radikallerin organizmadan temizlenmesiyle veya yapısal değişikliğe uğramış proteinin hızlı atılmasıyla açıklanabilir (117).

İMA Ölçüm Yöntemi

Albumine kobaltın azalan bağlanma kapasitesini David Bar ve arkadaşları tarafından geliştirilen hızlı ve kolometrik tayin metoduyla değerlendirildi (118,119).

200 µL hasta serumları cam tüplere eklendi üzerlerine %0.1'lik 50 µL CoCl₂.6H₂O (Sigma) hafifçe karıştırıldıktan sonra yeterli kobalt albumin bağlanması sağlanması amacıyla 10 dakika beklendi. Renklendirici ajan olarak 50 µL 1.5 mg/mL'lik Dithiothreitol (DTT) (Sigma) eklendi. 2 dakika beklendikten sonra % 0.9' luk NaCl' den 1 mL kobalt ve albumin arasında meydana gelen bağlanmayı durdurmak amacıyla eklenerek reaksiyon durduruldu. Her bir numune için numune körü yapıldı. DTT eklenen aşamada 50 µL 1.5 mg/mL'lik Dithiothreitol (DTT) yerine 50 µL distile su konarak DTT siz serum kobalt körü hazırlandı. Numune absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu, UV1601) 470 nm ölçüldü. DTT'li örneklerdeki renk oluşumu kör tüplerindeki renk oluşumuyla karşılaştırılarak sonuçlar ABSU absorbans ünitesi cinsinden rapor edildi.

3.2.1.6. Kan gazı ölçümleri

Arteriel kan gazı ölçümleri kan pH değerini, parsiyel O₂ ve parsiyel CO₂ basınçlarını ve bikarbonat seviyelerini gösterir. Birçok kan gazı analizlerinde laktat, hemoglobin, elektrolitler, oksihemoglobin, karboksihemoglobin gibi diğer kan parametreleri de ölçülebilmektedir.

Arteriel kan gazı analizleri genellikle gaz değişiminin ölçümü ile akciğer fonksiyonları hakkında bilgi vermekle birlikte genel metabolik durumu da değerlendirmekte önemlidir.

Kan gazı ölçüm yöntemi

Deney sürecinin bitiminde transdücer bağlı karotis arterden transducer çıkarıldı. Olası serum artıklarını yok etmek için 0.5 ml kan alınarak atıldı. Daha sonra Heparinli enjektöre 1.5 ml kadar arteriel kan alındı. Hazırda tutulan Kartuşa alınarak otomatik olarak ölçüldü.(IRMA Tru point blood analysis system)

3.2.2. Dokularda biyokimyasal analizler

3.2.2.1. Akciğer dokusunda Malondialdehit ölçümleri

Dokularda MDA düzeyleri Mihara ve Uchiyama'nın 1978 yılında geliştirdikleri tiyobarbitirik asit metoduyla çalışıldı (112,113). Metodun prensibi; tiobarbitirik asit ile doku homojenatındaki MDA'nın reaksiyona girerek oluşturdukları renkli kompleksin 532 nm dalga boyundaki ışığı absorbe etmesine dayanır. Oluşan renkli kompleksin absorbans miktarı MDA miktarı ile doğru orantılıdır. Ölçümde absorbans miktarlarına göre doku MDA düzeyleri nmol/gr olarak hesaplandı.

3.2.2.2. Akciğer dokusunda Miyeloperoksidaz ölçümleri

Doku MPO seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (Hycult biotech, Catalog No. HK105, The Netherland) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Divices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar gram doku başına ng/ml cinsinden verildi.

3.2.3.1 Akciğer dokusu örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesi

Deneyin sonlandırılmasını takiben tüm ratların (deney ve kontrol gruplarına ait) akciğerlerinin yaklaşık aynı kısımlarından alınan doku örnekleri histopatolojik değerlendirme yapılması için ayrı ayrı %10'luk nötral formaldehid solüsyonu içeren numaralandırılmış kaplara konuldu. 30 dakika sonra kanlanan solüsyon değiştirildi ve dokular 48 saat süreyle %10'luk nötral formaldehid solüsyonu içinde fikse edildi. Dehidratasyon için dereceli alkol serilerinden geçirildi ve ksilen ile şeffaflaştırılmanın ardından parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklar mikrotom (Leica RM2255, Japan) ile 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesilerek numaralanmış lamalar üzerine alındı. Lam

üzerine alınan kesitler zembil içine yerleştirildi ve etüvde 50°C’de 30 dakika bekletildikten sonra ksilen ve alkol serileri ile parafini giderilerek hidrate edildi. Bu şekilde hazırlanan kesitler hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyandıktan sonra; alkol serileri ve ksilen uygulanarak dehidrate edilen preparatlar entellan damlatılarak lamelle kapatıldı. Histopatolojik değerlendirme çalışma gruplarından habersiz bu konuda deneyimli bir histolog tarafından yapıldı.

Akciğer dokularına ait hasar skorlamasında her bir gruba ait akciğer preparatında, yüksek büyütmede (400X) 5 farklı alan aşağıda tanımlanan kriterlere göre yarı kantitatif olarak değerlendirildi (120).

Akciğer hasarının mikroskopik skorlama kriterleri:

Grade ve Histopatolojik Görünüş

Grade 0 Normal akciğer morfolojisi

Grade 1 Hafif intraalveoler ödem ve hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu

Grade 2 Orta derecede alveolar ödem ve orta derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu

Grade 3 Şiddetli alveolar ödem, şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fokal hemoraji

Grade 4 Yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve alveolar yapıda harabiyet

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Biyokimyasal ve histolojik verilerin analizlerinde sayısal değerler Kruskal Wallis varyans analizi (Post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile karşılaştırıldı. $P < 0.016$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tablo 2: Serum Malondialdehit (MDA) değerleri (nmol/mL)

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	0,71	1,99	1,46	0,48
SIR	1,66	6,34	2,95	1,48
Sham + KT	1,07	1,93	1,51	0,30
Sham + PEG	1,12	2,34	1,52	0,45
SIR + KT	1,02	3,04	1,89	6,95

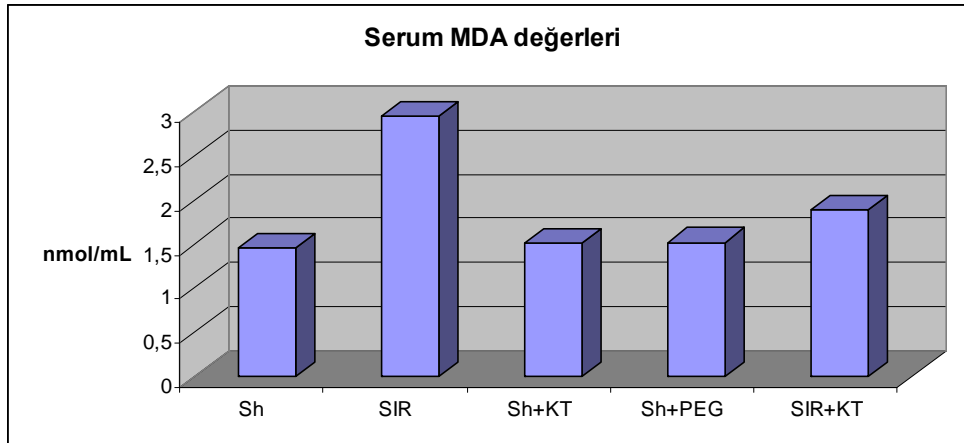
Grupların karşılaştırılmasında;

Sham ve SIR grupları karşılaştırıldığında $p = 0,002$ bulundu. $p < 0,016$ olduğu için SIR grubunda MDA değeri Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Sham ve Sham + KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,93$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için MDA değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

Sham ve Sham + PEG grupları karşılaştırıldığında $p = 1,00$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için MDA değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

SIR ve SIR + KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,77$ olarak bulunmuştur. $P > 0.016$ olduğu için MDA değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.



Grafik 1: Serum MDA değerleri

Grafikte görüldüğü gibi MDA değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı ölçüde yükselmiş, SIR + KT verilen grupta düşmüş ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sham grubu ile Sham + KT ve Sham+PEG grupları arasında farklılık bulunmamıştır.

Tablo 3: Serum Miyeloperoksidaz (MPO) değerleri (ng/ml)

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	31,08	144,26	81,83	52,25
SIR	317,43	421,32	383,85	38,0
Sham+KT	64,34	102,5	86,62	13,37
Sham+PEG	56,69	85,60	73,08	11,36
SIR+KT	88,05	199,91	163,40	39,25

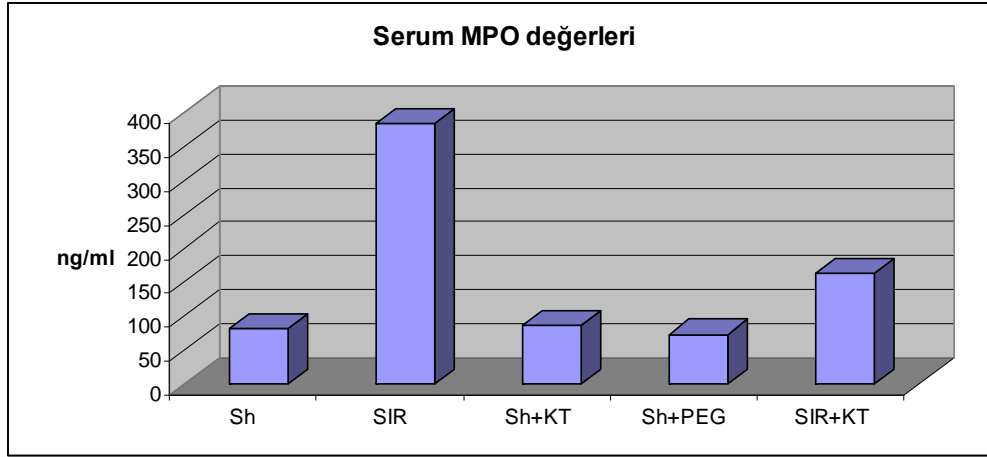
Grupların karşılaştırılmasında;

Sham ve SIR grupları karşılaştırıldığında $p = 0.000$ bulundu. $P < 0,016$ olduğu için SIR grubunda MPO değeri Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Sham ve Sham+KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,81$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için MPO değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

Sham ve Sham+PEG grupları karşılaştırıldığında $p = 1$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için MPO değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

SIR ve SIR+KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,000$ olarak bulunmuştur. $P < 0.016$ olduğu için MPO değeri iki grup arasında farklı bulunmuştur. KT verilen SIR grubunda MPO değerleri anlamlı derecede düşmüştür.

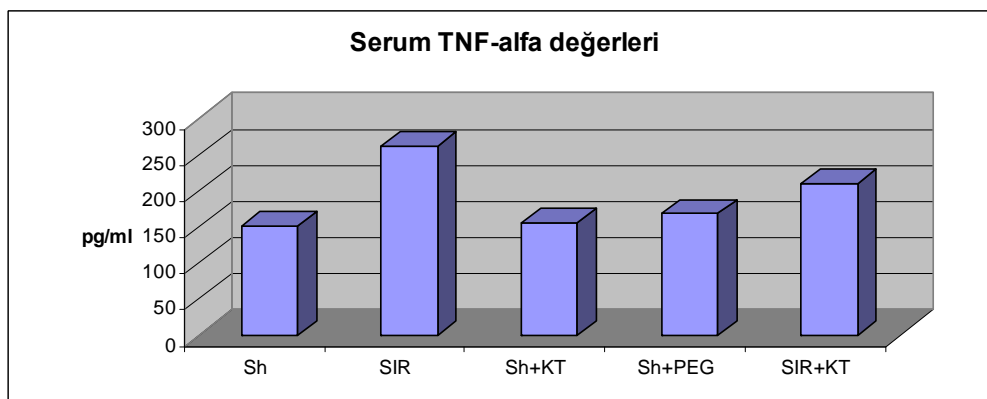


Grafik 2: Serum MPO değerleri

Grafikte de görüldüğü gibi serum MPO değerleri Sham, Sham+KT ve Sham+PEG gruplarında birbirlerine yakın, SIR grubunda ise Sham grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuş, SIR+KT grubunda ise SIR grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Tablo 4: Serum Tümör Nekrotizan Faktör alfa (TNF α) değerleri (pg/ml)

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	121,57	211,12	151,63	30,64
SIR	245,76	295,51	262,71	18,24
Sham+KT	137,24	177,46	156,09	14,97
Sham+PEG	131,78	250,46	168,16	42,74
SIR+KT	142,41	290,90	210,01	48,03



Grafik 3: Serum TNF α değerleri

Sham ve SIR grupları karşılaştırıldığında $p = 0.000$ bulundu. $P < 0,016$ olduğu SIR grubunda $TNF\alpha$ değeri Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

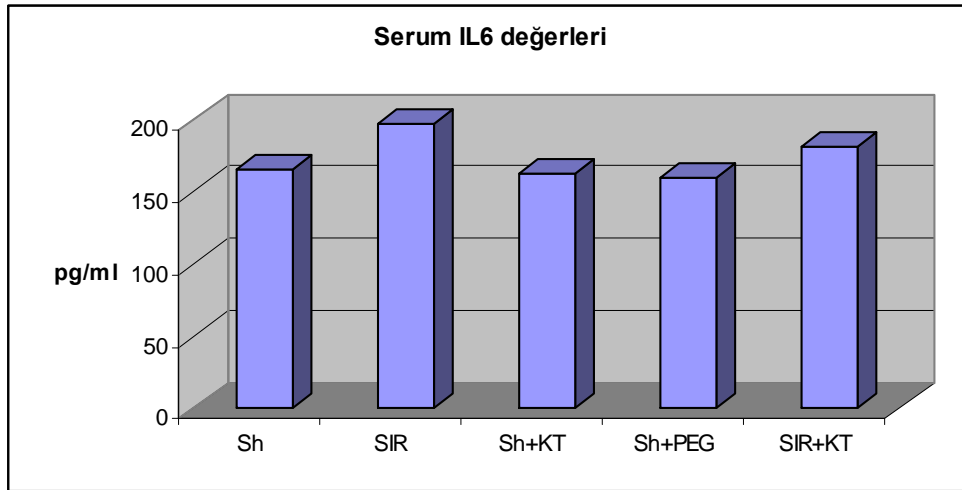
Sham ve Sham+KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,39$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için $TNF\alpha$ değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

Sham ve Sham+PEG grupları karşılaştırıldığında $p = 0,48$ olarak bulunmuştur. $p > 0,016$ olduğu için $TNF\alpha$ değeri iki grup arasında farklı bulunmamıştır.

SIR ve SIR+KT grupları karşılaştırıldığında $p = 0,003$ olarak bulunmuştur. $P < 0.016$ olduğu için $TNF\alpha$ değeri iki grup arasında farklı bulunmuştur. KT verilen SIR grubunda $TNF\alpha$ değerleri anlamlı derecede düşmüştür.

Tablo 5: Serum İnterlökin 6 (IL-6) değerleri (pg/ml)

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	133,48	204,80	164,62	24,93
SIR	137,87	280,62	196,53	52,22
Sham+KT	133,92	201,16	162,46	26,89
Sham+PEG	129,73	350,94	159,04	45,74
SIR+KT	122,51	248,23	181,75	48,37



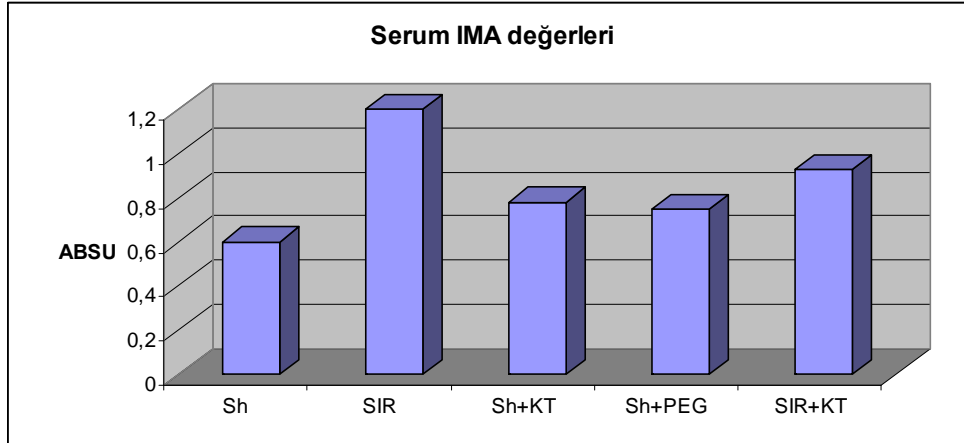
Grafik 4: Serum IL-6 değerleri

Grupların karşılaştırılmasında;

Sham ve SIR grupları karşılaştırıldığında $p = 0,32$, Sham ve Sham+KT grupları karşılaştırıldığında $p = 1.00$, Sham ve Sham+PEG grupları karşılaştırıldığında $p = 0,39$, SIR ve SIR+KT grupları karşılaştırıldığında $P = 0,48$ olarak bulunmuştur. SIR grubunda artış, SIR+KT grubunda bir miktar azalma olmasına rağmen gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı değildir. Yani IL-6; Şok ve IR da önemli derecede yükselmemiş ve KT verilen grupta da belirgin ölçüde düşmemiştir.

Tablo 6: Serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) değerleri (ABSU)

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	0,4	0,93	0,6	0,3
SIR	0,8	1,86	1,2	0,43
Sham+KT	0,01	1,02	0,78	0,38
Sham+PEG	0,06	1,1	0,75	0,36
SIR+KT	0,78	1,16	0,93	0,10



Grafik 5: Serum IMA değerleri

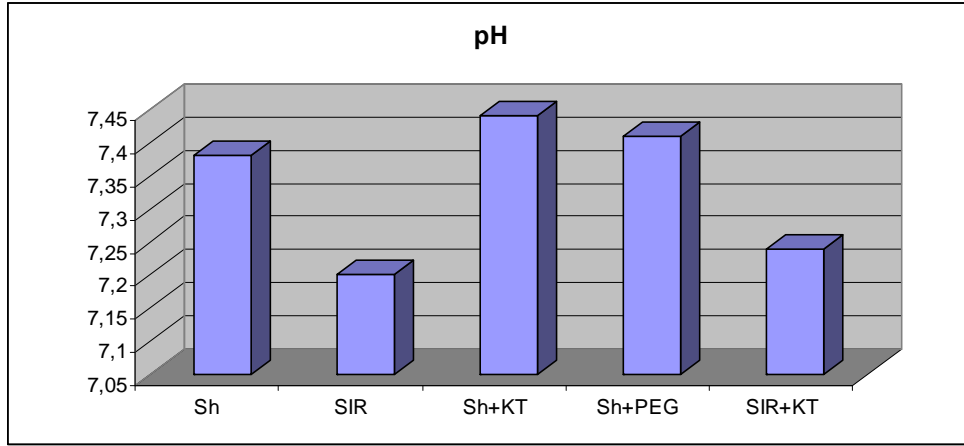
Grupların karşılaştırılmasında;

Sham ve SIR gruplarında $p = 0,003$ olup $p < 0,016$ olduğu için SIR grubunda Sham grubuna göre IMA değerleri anlamlı ölçüde yükselmiştir. Sham ve Sham+KT gruplarında $p = 0,132$, Sham ve Sham+PEG gruplarında $p = 0,24$ olup gruplar arasında farklılık yoktur

($p > 0,016$). SIR ve SIR+KT gruplarında $p = 0,2$ olup iki grup arasında fark anlamlı değildir. IMA değeri KT verilen grupta anlamlı derecede azalmamıştır.

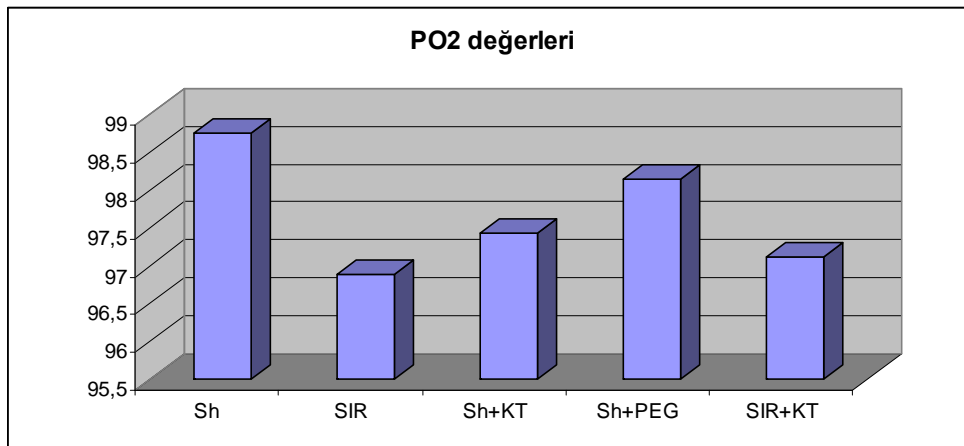
Tablo 7: Kan gazı değerleri

	pH	PO ₂	PCO ₂	HCO ₃	BE
Sham	7,38 ± 0,04	98,75 ± 2,34	41,8 ± 5,7	25,45 ± 1,73	0,43 ± 1,38
SIR	7,20 ± 0,09	96,88 ± 1,39	36,1 ± 7,05	15,4 ± 4,7	-12,38 ± 5,04
Sham+KT	7,44 ± 0,08	97,43 ± 2,54	34,3 ± 11,6	23,51 ± 5,14	0,13 ± 2,49
Sham+PEG	7,41 ± 0,04	98,14 ± 1,22	39,7 ± 5,45	24,34 ± 4,74	0,55 ± 3,7
SIR+KT	7,33 ± 0,07	97,11 ± 1,29	36,9 ± 7,47	19,24 ± 2,88	-5,64 ± 2,8



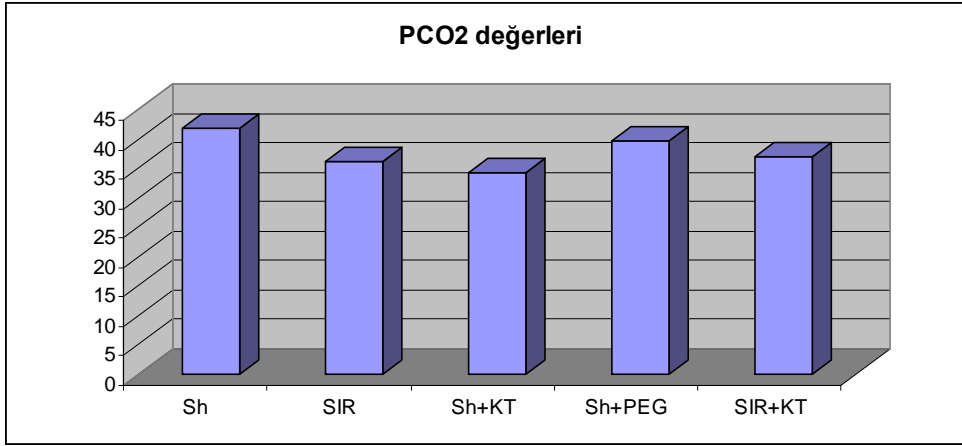
Grafik 6: Kan pH değerleri

Kan pH değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür ($p = 0,000$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır



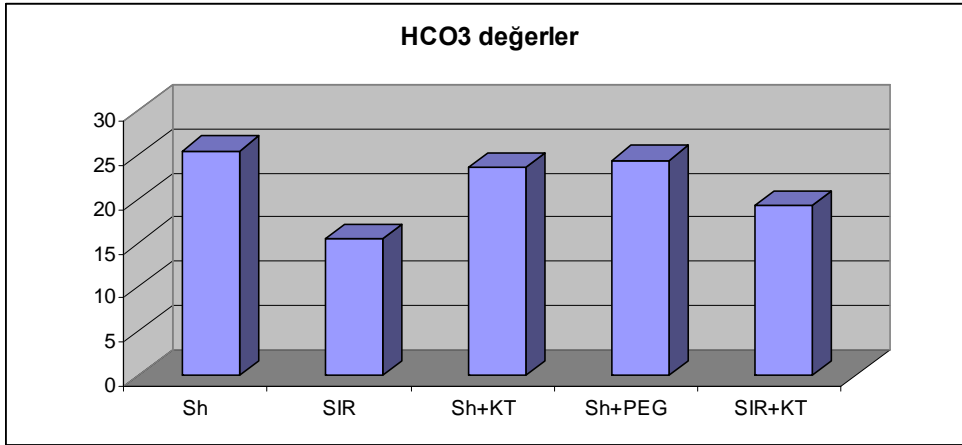
Grafik 7: Kan PO₂ değerleri

Kan PO₂ değerlerinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0,016$)



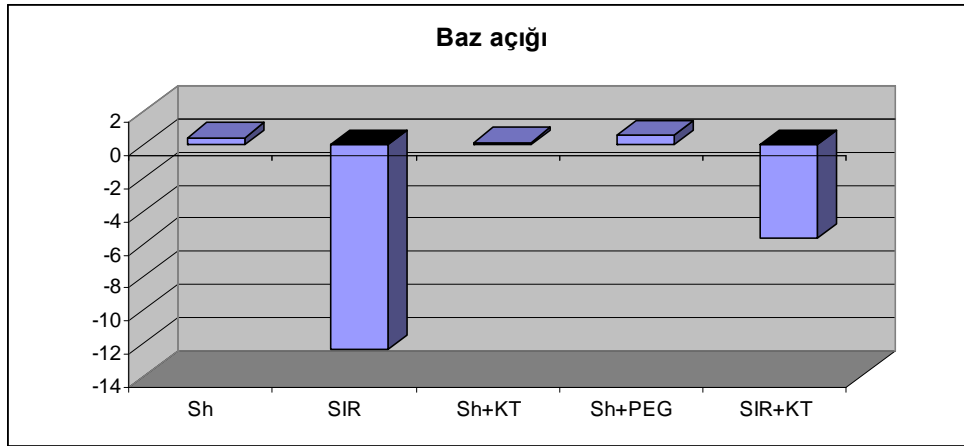
Grafik 8: PCO₂ değerleri

Kan PCO₂ değerlerinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0,016$)



Grafik 9: HCO₃ değerleri

Kan HCO₃ değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede düşmüş ($p = 0,000$), SIR+KT grubunda ise SIR grubuna göre bir miktar yükselmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,65$)

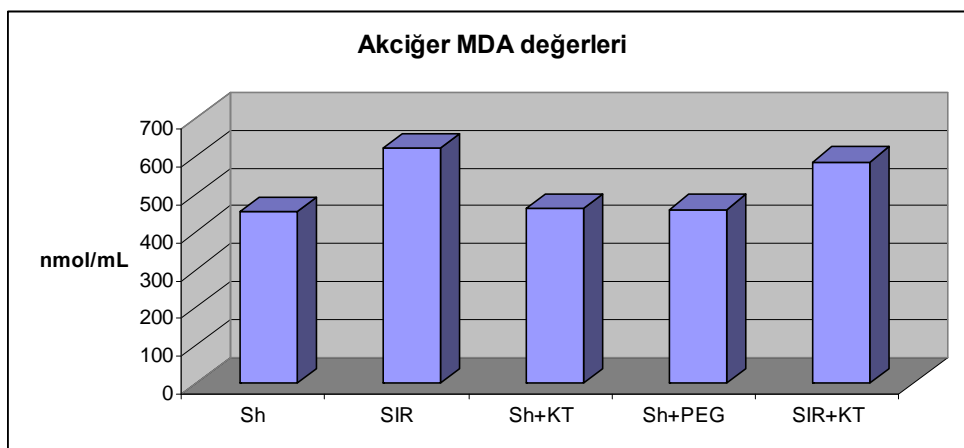


Grafik 10: Baz açığı değerleri

Kan Baz açığı (BE) SIR grubunda anlamlı ölçüde artmış ($p = 0.000$), SIR+KT grubunda anlamlı ölçüde azalmıştır ($p = 0,006$), Sham grupları arasında farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 8: Akciğer MDA değerleri

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	410,29	489,47	454,29	35,22580
SIR	512,50	768,61	620,96	81,66
Sham+KT	331,73	603,42	462,14	185,71
Sham+PEG	343,43	585,62	458,31	86,74
SIR+KT	482,48	717,63	585,79	73,28

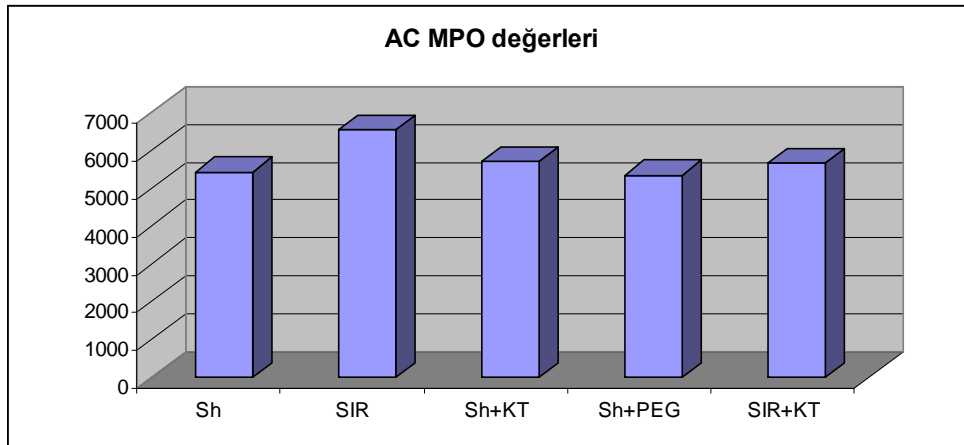


Grafik 11: Akciğer MDA değerleri

Akciğer MDA değeri SIR grubunda yükselmiş ($p = 0,000$) , Sham , Sham+KT ve Sham+PEG grupları arasında farklılık göstermemiştir. SIR+KT grubunda bir miktar azalma olmakla birlikte aradaki fark anlamlı değildir ($p=0,43$).

Tablo 9: Akciğer MPO değerleri

	En küçük	En büyük	Ortalama	St sapma
Sham	5149,36	6113,39	5436,77	404,75
SIR	5656,32	7517,71	6541,15	613,42
Sham+KT	5430,02	6000,93	5717,08	185,07
Sham+PEG	4838,6	5752,52	5346,94	358,79
SIR+KT	4859,77	6693,66	5676,82	566,43

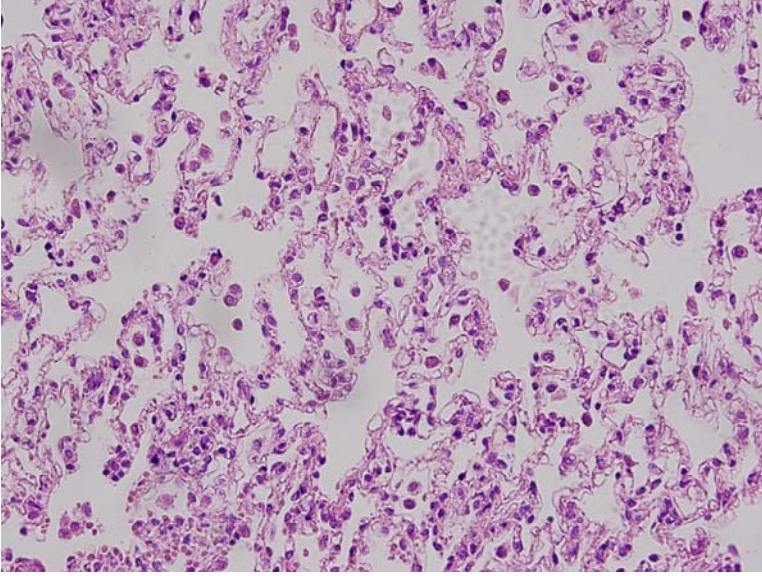


Grafik 12: AC MPO değerleri

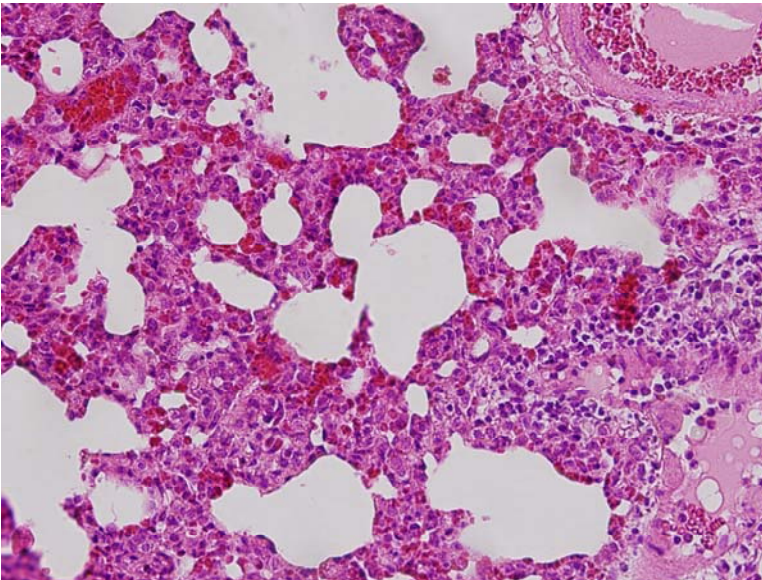
AC MPO değerleri SIR grubunda anlamlı derecede artmış ($p = 0,012$), KT verilen SIR+KT grubunda anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,014$). Diğer Sham grupları arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur $p > 0,016$

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

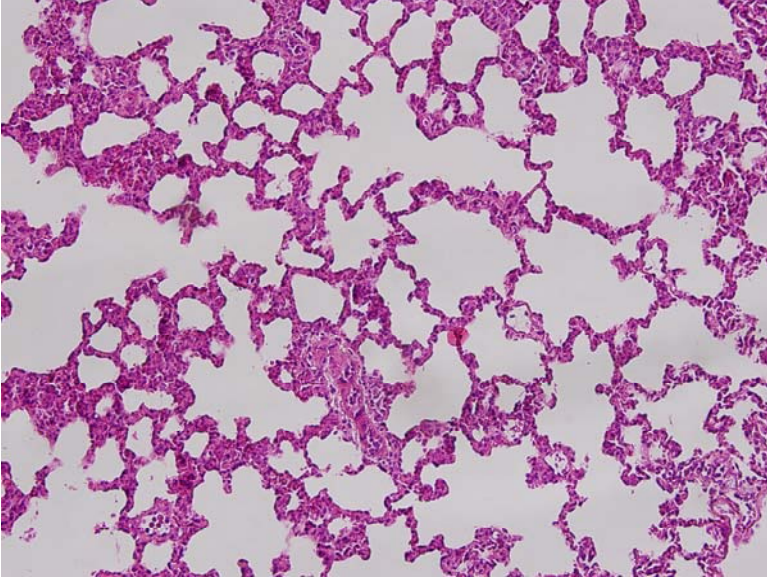
Akciğer dokusunun histopatolojik incelenmesi



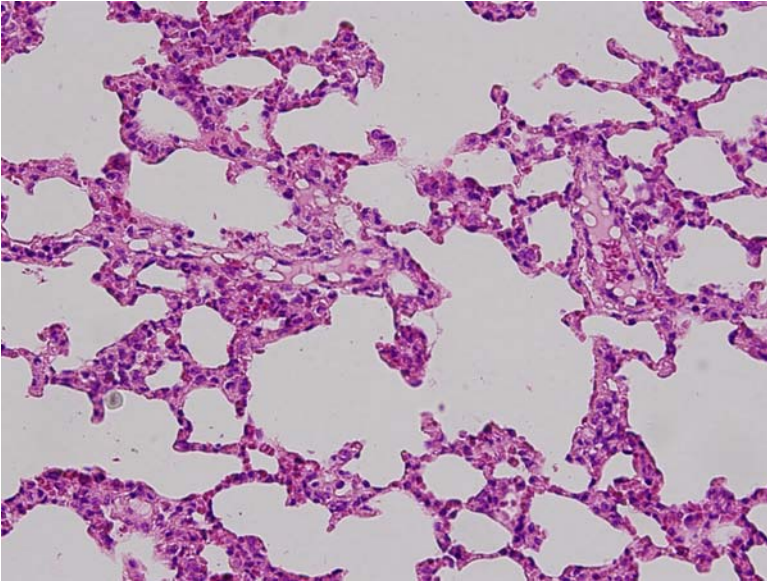
Resim 9: Sham grubuna ait akciğer dokusunda normal akciğer dokusunu gösteren yapı izlendi (H&E X200).



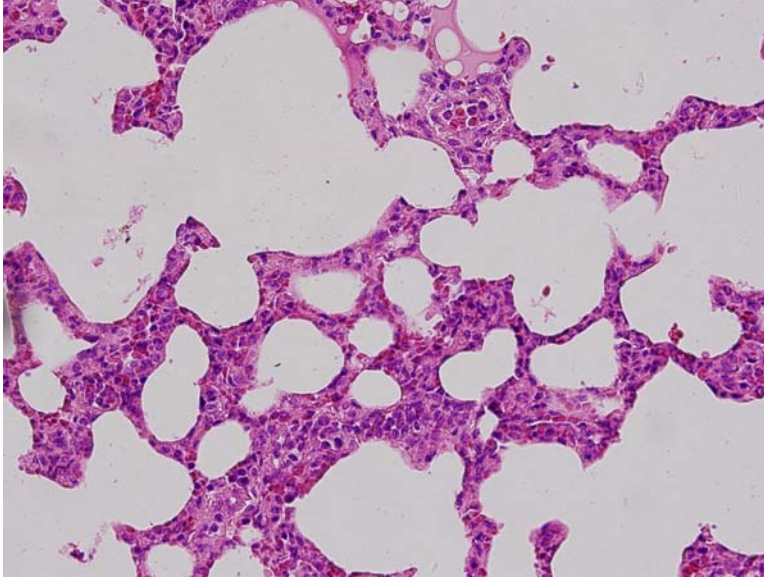
Resim 10: Şok+ İskemi reperfüzyon grubuna ait akciğer dokusunda yaygın interalveolar ödem, lökosit infiltrasyonu, interalveolar ve intraalveolar hemoraji izlendi (H&E X200).



Resim 11: Sham+Klotrimazol grubunda, alveolar epitelde yer yer kalınlaşma izlendi (H&E X200).



Resim 12: Sham + Polietilen glikol grubunda, az miktarda interalveolar ödem izlendi (H&E X200).



Resim 13: Şok + İskemi Reperfüzyon + Klotrimazol grubunda, az miktarda interalveolar ödem, orta derecede lökosit infiltrasyonu ve alveolar epitelde kalınlaşma mevcut idi (H&E X200).

Hematoksilen – Eosin ile boyanan akciğer doku preparatlarında yapılan histolojik değerlendirmelerde doku histolojisi skoru şeklinde sayısal değerlere dönüştürüldü. Yapılan bu skorlamaya göre grupların ortalama skorları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 10: Grupların akciğer dokularının histopatolojik skorlamalarının ortalamaları

Gruplar	Skorlama
Sham	0,5 ± 0,54
SIR	2,66 ± 0,7
Sham+KT	1,16 ± 0,4
Sham+PEG	1,33 ± 0,51
SIR+PEG	1,88± 0,32

Tablo 11: Ki- kare testine göre akciğer hasarı skorlarının gruplara göre dağılım yüzdeleri

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Sham	% 50	% 50	-	-	-
SIR	-	-	% 45	% 45	% 10
Sham+KT	-	% 80	% 20	-	-
Sham+PEG	-	% 76	% 33	-	-
SIR+KT	-	% 45	% 22	% 33	-

Tablodan da görüldüğü gibi Sham gruplarında skor dereceleri 0,1, ve 2 de yoğunlaşmışken, SIR grubunda 2. 3. ve 4. decelerde yoğunlaşmıştır. Klotrimazol verilen SIR grubunda hasar skorlamasının 1. ve 2. ve 3. derecelere gerilediği gösterimiştir.

5. TARTIŞMA

Rüptüre abdominal aort anevrizması (RAAA) cerrahi tekniğin ve postoperatif bakım yöntemlerinin ilerlemesine rağmen % 40-70 oranındaki hastane mortalitesiyle gerek kalp ve damar cerrahisinin gerekse 65 yaş üstü populasyonun en önemli ölüm sebeplerinden biridir (16,17). Rüptüre abdominal aort anevrizmalarının tedavisinde giderek artan sıklıkla endovasküler tedavi uyulansa da günümüzde en yaygın uygulanan tedavi açık yöntemle aortun klemlenerek kanamanın durdurulması, anevrizma rezeksiyonu ve greft interpozisyonudur (3,11). İngiltere’ de her 5000 ölümün 1-2’sinin sebebi RAAA’dır. İntakt anevrizmalarda elektif ameliyatların cerrahi mortalitesi %1’in altında olmasına rağmen rüptüre anevrizmalarda mortalitenin hala çok yüksek olmasının sebebi hemorajik şok nedeniyle oluşan total beden iskemisidir. Bunun üzerine cerrahi tedavi esnasında aortaya koyulan kros klempe bağlı oluşan iskemi de eklendiğinde iki büyük iskemik hasar meydana gelmekte, klemp açıldığında da reperfüzyon gelişerek sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) gelişmektedir (52). Artan nötrofil sekestrasyonu ve mikrovasküler permeabilite sonucunda çoklu organ disfonksiyonu sendromu (MODS) oluşmaktadır. Elektif anevrizma ameliyatlarında en önemli mortalite sebebi perioperatif miyokard enfarktüsüdür. RAAA’sında da hastalar miyokard enfarktüsünden kaybedilebilir fakat primer ölüm nedenleri akciğer ve böbrek gibi organlarda yetmezliğe yol açabilen çoklu organ yetmezliğidir. Patofizyolojik mekanizmaların tanımlanmasındaki eksikliklere rağmen rüptürle başlayan ve anevrizmanın onarımıyla sonuçlanan bu süreçte iskemik dokular diğer dokuları hasarlayarak yetmezliğe sebep olurlar. Sonuçta RAAA’da cerrahi tedavi sonrasında en fazla mortalite ve morbidite sebebi akciğer, böbrek ve karaciğer gibi uzak organlarda gelişen çoklu organ yetmezlikleridir (10,11, 48, 49, 52).

Rüptüre abdominal aort anevrizmasında cerrahi tedavinin erken dönemi iki önemli süreci içerir. Bunlardan birincisi süresi ve şiddeti hastadan hastaya değişiklik gösteren aort rüptürüne bağlı “şok” fazıdır. Bu durum aslında bir total beden iskemisidir. İkincisi ise cerrahi tedavinin en önemli kısmını oluşturan “klemp” fazıdır ki burada da alt beden iskemisi meydana gelmektedir. Ne hemorajik şok ne de aort klempine bağlı alt beden iskemisi tek başlarına mortaliteyi yükseltecek kadar organ hasarına sebep olamazlar.

RAAA ameliyatlarında bu iki önemli iskemik durum ve ardından yaşanan reperfüzyon nedeniyle mortalite yüksek kalmakta ve organ yetmezlikleri yaşanmaktadır (4,5,10,30).

Şok ve iskemi-reperfüzyon hasarını oluşturan birçok fizyopatolojik etken sayılmasına rağmen esas etken reperfüzyon fazında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleridir. Oluşan bu radikaller öncelikle hücre membranının lipid yapısında peroksidasyon olmak üzere hücrenin sitoplazmik ve nükleer elemanlarında da hasar oluşturarak nekroza neden olur. Reperfüzyon hasarından sorumlu tutulan serbest radikallerin esas kaynağı ise hem şok hem de iskemi ve reperfüzyon fazlarında aktifleşen nötrofillerdir (66,67,72). Nötrofiller ve oluşan sistemik enflamatuvar yanı çeşitli organ ve dokularda değişik derecelerde hasar meydana getirir. Akciğerler, böbrekler ve karaciğer gibi parankimal organlar şok ve iskemi-reperfüzyon hasarından en çok etkilenen uzak organlardır.

Akciğerler pulmoner kapiller yatak nedeniyle çok geniş bir endotel yüzeyine sahiptir. İskemik dokuların reperfüzyonu sonrası pulmoner kapiller yatak bir filtre gibi görev yapar. Vasküler staz esnasında oluşan trombosit mikroagregatları reperfüzyondan sonra akciğerlerde tutulur. Nötrofillerin akciğer endoteline yapışmasını (adezyon) takiben proteolitik enzimler ve serbest oksijen radikalleri açığa çıkar ve buna bağlı akciğer hasarı gelişir. Akciğer yetmezliğinin şiddeti hemorajik şokun süresine, şiddetine ve hastanın akciğer rezervlerine bağlı olarak değişir. Klinikte akut solunum yetmezliğinden ARDS'ye kadar giden değişken bir tablo ortaya çıkabilir (99,100). Şok+iskemi ve reperfüzyon dönemi sonunda ortaya çıkan akciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Plazmada ve dokuda artmış serbest oksijen radikalleri, sitokinler, trombosit aktive edici faktör (PAF), eiokosanoid ve lökotrien salınımı gibi bir çok mekanizma bildirilse de bu konuda kesin bir görüş birliği ortaya konulamamıştır. Hasarı başlatan mekanizma ne olursa olsun sonuç olarak artmış polimorfonükleer lökosit (PMNL) aktivitesi, kemoatraksiyonu ve infiltrasyonu, en sonunda PMNL degranülasyonuna sebep olmaktadır. Degranülasyon sonrası artan serbest oksijen radikalleri ve proteazlar akciğer endotel hasarına ve buna bağlı gelişen artmış pulmoner kapiller permeabiliteye sebep olmaktadır. Sonuçta alveoler ödem meydana gelmekte ve gaz değişimi bozularak hipoksiden ağır solunum yetmezliğine giden bir dizi olaylar meydana gelmektedir. ARDS başladıktan sonraki ilk 24 saat içinde gelişen eksudatif fazı, daha sonraki 7-10. günlerde fibroproliferatif faz takip eder (102). Eksudatif fazda pulmoner vasküler basıncın normal oluşuna rağmen alveolo-kapiller

membrandaki bütünlüğün bozulmasına bağlı olarak artan geçirgenlik proteinden zengin sıvının, hücrelerin, koagülasyon faktörlerinin, inflamatuvar mediatörlerin interstisyuma ve alveoler alana geçişiyle sonuçlanır. Alveollerin vasküler alandan sızan sıvı ile dolması akciğerlerin solunum sırasındaki kompliyansının azalmasına neden olur. Bunun sonucunda alveoler ventilasyon bozulur ve solunum işi ve yükü artar (103).

Akciğerler şok ve iskemi-reperfüzyondan en çok etkilenen organlar oldukları için biz de çalışmamızda akciğer hasarını ve klotrimazolün bu hasarı azaltıcı etkisi olup olmadığını inceledik.

Literatür tarandığında iskemi-reperfüzyon ve şokla ilgili deneysel çalışmaların tamamı yakınının ayrı ayrı modeller üzerinde yapıldığı görülmektedir. Deneysel şok çalışmaları; genellikle sadece şok oluşturulup belli bir süre sonra şokun sonlandığı, oluşan hemodinamik ve metabolik değişikliklerin şokun derinliği ve süresiyle ilişkilerinin incelendiği veya bu süreçte çeşitli ilaç ve kimyasalların etkin olup olmadıklarının veya çeşitli sıvı resüstasyonlarının etkinliklerinin araştırıldığı çalışmalardır. İskemi- reperfüzyon çalışmaları ise kalp ve damar cerrahisi bilim dalında en sık kullanılan deneysel çalışmalardır. Genellikle açık cerrahi yöntemle klempleyerek aort oklüzyonu oluşturulmakta veya turnike kullanılarak alt ekstremitte iskemisi meydana getirilmekte belli sürelerden sonra klemp ve turnikeler açılarak reperfüzyon uygulanmaktadır.

Thomas F. Lindsay tarafından 1995 yılında yayınlanan bir deneysel yöntemde şok, iskemi ve reperfüzyon birlikte uygulanmış ve bu yöntem “deneysel rüptüre abdominal aort anevrizması” modeli adı verilmiştir (15). Bu çalışmada şok ve iskemi-reperfüzyon işlemleri deney gruplarına ayrı ayrı ve birlikte uygulanmış, her bir grupta şok ve iskemi-reperfüzyon süreleri 1 ve 2 saatlik ayrı ayrı çalışılmıştır. Ayrıca aort klempini koyularak iskemi ve reperfüzyon yapılan gruplarda da klemp yeri infrarenal ve supramezenterik olarak ayrı ayrı yerleştirilmiş ve tüm gruplarda pulmoner permeabilite indeksi ve akciğer dokusunda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçülmüş ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Sonuçta 1 saatlik şok, 2 saatlik supramezenterik klemp uygulamasının ve 2 saatlik reperfüzyon sürelerinin pulmoner permeabilite indeksini en fazla artırdığı ve nötrofil kümülasyonuna yol açtığı saptanmıştır. Bu model daha sonra bir çok çalışmada kullanılmıştır (8,9,16,17,18,19).

Biz de çalışmamızda şok, iskemi ve reperfüzyonun bir arada simüle edilebildiği rüptüre abdominal aort anevrizması modelinde akciğer hasarını ve klotrimazolün bu hasar üzerine olan etkisini inceledik. Çalışmamızda serum MDA, MPO, TNF α , IL6, İMA, kan gazı ölçümleriyle akciğer dokusunda MDA ve MPO ölçümleri yaptık. Ayrıca akciğer dokusunu histopatolojik olarak inceledik.

Serum ve akciğer dokusu MDA değerleri lipid peroksidasyonunu, dolayısıyla serbest oksijen radikallerinin varlığını gösteren önemli bir testtir. Çalışmamızda serum MDA değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p = 0,002$), klotrimazol verilen SIR+KT grubunda MDA değerleri bir miktar düşse de fark anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,77$). Deneysel IR çalışmalarının büyük bir kısmında serum MDA değerleri çeşitli yöntemlerle ölçülerek serumda ve dokularda lipid peroksidasyonu hakkında bilgi edinilmiştir. Jan ve ark. ratlarda hemorajik şok öncesi yaptıkları iskemik önkoşullamanın akciğer hasarını azaltıp azaltmadığını incelemiş ve bir parametre olarak MDA ölçümü yapmışlardır (121).

Gülmen ve ark. ratlarda abdominal iskemi-reperfüzyon yaparak β -Glucan'ın akciğer dokusundaki hasar üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada histopatolojik ve diğer biyokimyasal parametrelerin yanında MDA ölçümü yapılarak iskemi-reperfüzyon hasarının dokulardaki yansımaları incelenmiştir. Kiriş ve ark, Kurtoğlu ve ark. yaptıkları deneysel IR çalışmalarında MDA yı önemli bir parametre olarak kullanmışlardır (122,123,124). Biz de çalışmamızda hem serumda hem de akciğer dokusunda MDA değerlerini ölçerek lipid peroksidasyonu hakkında bilgi edinmeye çalıştık. Akciğer MDA değerleri incelendiğinde SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yükselmiş ($p = 0,000$) , klotrimazol verilerek SIR oluşturulan SIR+KT grubunda bir miktar azalma olmakla birlikte aradaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,43$). Akciğer MDA değerleri Sham , Sham+KT ve Sham+PEG grupları arasında farklılık göstermemiştir.

MDA ile ilgili sonuç olarak Şok ve IR yapılan grupta belirgin derecede akciğer hasarı ve sistemik dolaşımda lipid peroksidasyonu oluşmuş, klotrimazol verilmesiyle birlikte hem dolaşımda hem de akciğer dokusunda MDA değerleri bir miktar düşse de normal değerlere inememiştir. Klotrimazol lipid peroksidasyonunu, dolayısıyla serbest radikal oluşumunu belirgin derecede baskılamamıştır. Usul ve ark. klotrimazol verdikleri ratlarda aortik iskemi-reperfüzyon sonrasında medulla spinalis dokusunda MDA değerlerinde anlamlı

derece azalma bulmuşlardır (110). Biz de klotrimazolü benzer dozlarda kullandık ancak hem deneysel modelimiz hem de incelediğimiz dokular farklıydı. Bizim modelimizde daha fazla oksijen radikali oluşmuş ve ilaç bunu baskılamada yetersiz kalmış olabilir veya klotrimazolün medulla spinalis dokusuna geçişi daha farklı olabilir. Bu konuda daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç duyulduğu aşikardır.

Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin serumda ve dokuda ölçülmesiyle nötrofil aktivasyonu hakkında bilgi edinilir. Şokta, iskemi ve reperfüzyonda sistemik yanıtı başlatan en önemli hücreler nötrofiller ve endotel hücreleridir. Gerek klinik gerekse deneysel IR çalışmalarında MPO ölçümü neredeyse rutin hale gelmiştir (64,66,67). Biz de çalışmamızda MPO ölçümleri yaparak lökosit aktivitesi hakkında bilgi edinmeye çalıştık.

SIR grubunda MPO aktivitesi Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p = 0.000$). Klotrimazol verilen SIR grubunda ise MPO değeri anlamlı ölçüde düşmüştür ($p = 0.000$). Yani klotrimazol sistemik dolaşımdaki nötrofilleri baskılamıştır.

Akciğer dokusu incelendiğinde de benzer sonuçlara ulaşılmış, Akciğer MPO aktivitesi SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı ölçüde artmış ($p = 0,012$), KT verilen SIR+KT grubunda anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,014$).

Sonuç olarak deneysel RAAA modelinde klotrimazol sistemik dolaşımında ve en önemli uzak organ olan akciğer dokusunda nötrofil aktivasyonunu baskılamıştır. Souza'nın iskemik önkoşullama, Okutan'ın melatoninle yaptıkları deneysel çalışmalarda MPO aktivitesi önemli bir markır olarak kullanılmış, Xu ve Zhao gibi diğer araştırmacılar da çok güncel olan çalışmalarında diğer markırlar yanında MPO düzeylerini de ölçmüşlerdir (125-128).

Literatürde klotrimazolle yapılan çalışmalarda genellikle farklı parametreler kullanılmıştır. Klotrimazolün hem sistemik dolaşımında hem de uzak organda nötrofil aktivasyonunu baskıladığına dair kanıt yoktur (106-110). Çalışmamız bu bakımdan ilktir.

TNF α , aktive makrofajlardan, monositlerden, T lenfositlerden, killer hücrelerden ve fibroblastlar tarafından salgılanan ve hücre membranına spesifik reseptörlere bağlanan çok önemli bir proenflamatuar sitokindir. Eksperimental olarak hayvanlara TNF enjeksiyonu;

septik şoktan ayırt edilemeyen bir sendroma yol açar. Dolaşımdaki düzeylerinin artmış olmasıyla TNF α nın şoktaki en önemli mediatörlerden olduğu anlaşılmaktadır. Sepsiste TNF ilk 30-90 dakikalarda artmakta ve ikinci düzey mediatörler olan sitokinleri, lipid mediatörleri ve oksijen radikallerini aktive ederek, hatta adezyon moleküllerini up-regüle ederek dokulardaki enflamasyon ve hücre migrasyonunu başlatırlar. TNF α , ARDS li hastaların bronkoalveolar lavaj sıvılarında yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve ARDS yi teyid eder. Mbachu, Harkin, Shahani ve bir çok araştırmacı şok, iskemi-reperfüzyon gibi sistemik enflamatuvar yanıtın incelendiği deneysel çalışmalarda serumda ve dokularda TNF α değerlerini ölçmüşler ve sitokinlerin spesifik blokajlarının sistemik yanıtı, şoka benzer durumu ve mortaliteyi azalttığını bulmuşlardır (8,9,129, 130).

Roumen, 1993 yılında yaptığı bir klinik çalışmada major vasküler girişim yapılan hastalarda serum TNF α , ve diğer sitokin düzeylerinin yüksekliğinin mortaliteyle çok yakın ilişkili olduğunu bulmuştur (131). Çalışmamızda TNF α değerlerini SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduk (p = 0.0000). Yani deneysel modelde sistemik enflamatuvar yanıt oluşturan sitokinler aktifleşti. Klotrimazol verdiğimiz SIR + KT grubunda ise TNF α değerleri anlamlı ölçüde düşmüştür (p = 0.003). Bu da KT ile sistemik enflamatuvar yanıtın önemli ölçüde baskılandığını göstermektedir. Bulgularımız Thapa'ninkilerle uyumludur. Ratlarda kolit modelinde klotrimazol'un TNF α 'yı baskılayarak kolon epitelinde anjiogenezisi ve intestinal enflamasyonu baskıladığını göstermiştir (132). Shahani aynı deneysel modeli uyguladıkları ratların miyokard dokularında TNF α düzeylerinin kontrol gruplarına göre 10 kat arttığını, TNF α 'nın immunnötralizasyonu ile kardiyak fonksiyonlarda iyileşme izlendiğini yayınlamışlardır (9). Harkin, C5 komplemanının inhibisyonunun, bir başka çalışmada da nitrik oksit sentaz inhibisyonunun (iNOS) serum ve akciğer dokularında TNF α 'yı azaltarak etkin koruma sağladıklarını göstermiştir (17,19). Swartbol ve ark 2001 yılında yayınladıkları bir review çalışmasında çeşitli anevrizma serilerinin hemen hemen tamamında TNF α 'nın cerrahi sırasında yükseldiğini ve pik değere 6 saatte ulaştığını, rüptüre anevrizmalarda intakt olanlara göre 15 kat arttığını, postoperatif 2 gün süreyle pik değerde kaldığını ve MODS gelişen hastalarda yüksekliğin devam ettiğini bildirmiştir (24). TNF α , önemli bir proenflamatuvar sitokindir ve enflamasyonla seyreden durumlarda takip edilmelidir.

İnterlökin-6, genellikle konağın inflamatuvar yanıtında septik durumlardan sorumludur. TNF α , IL-1 veya her iki sitokinin birden salınmasına yanıt olarak üretilir. IL-6'nın tek başına infüzyonunun herhangi bir yanıt oluşturmadığı bilinmektedir (81, 87). IL-6 nötrofillerde oksidasyonu (respiratuvar burst) başlatır ve stimule eder, endotelial hücrelerden ICAM-1 salınımını ve endotelial permeabiliteyi artırır. IL-6, periferik arter hastalarında hipoperfüze iskelet kası tarafından üretilir, ayrıca aortik anevrizma cerrahisinin reperfüzyon fazında sistemik olarak salınır.

Çalışmamızda SIR grubunda sham grubuna göre IL-6 seviyelerinde değişiklik yoktu ($p = 0.32$). Klotrimazol verilen SIR+KT grubunda da anlamlı farklılık yoktu ($p = 0.48$).

IL-6 daha çok reperfüzyon fazında ve diğer sitokinler tarafından tetiklenerek salgılandığı için reperfüzyon süresi bu mediatörün yükselmesi için yeterli olmamış olabilir. Shields ve Waldow IL-6'yı deneysel çalışmalarında markır olarak kullanmış ve uyguladıkları yöntemlerle IL-6 seviyelerindeki değişimleri göstermişlerdir (133). Harkin 2005 yılında aynı deneysel modelle yaptığı bir çalışmada kompleman 5 inhibitörü vererek akciğer hasarını incelemiş, diğer parametrelerle birlikte IL-6 düzeylerini de ölçmüştür. C5 inhibisyonu yoluyla IL-6 düzeylerinin de düştüğünü, akciğer hasarının azaldığını belirtmiştir (17). IL-6'nın anevrizma rüptürlerinde yükseldiği, çoklu organ yetmezliği geliştiğinde de yüksek kalmaya devam ettiği bilinmektedir (133,134). Swartbol, intakt ve RAAA'ların cerrahi ve endovasküler tedavileri sırasında değişik olgu serilerinde cerrahi sonrası IL-6'nın 6 saatle 7 gün arasında pik değerlere ulaştığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda SIR grubunda sham grubuna göre yükselme olmamasını 2 saatlik reperfüzyon süresinin IL-6'nın kanda henüz yeterli yüksekliğe ulaşamamasıyla açıklanabilir. Belki de daha büyük hayvan modellerinde cerrahi sonrası survey çalışmaları yaparak IL-6 düzeyleri daha sağlıklı olarak ölçülebilir.

İskemi modifiye albümin; dokuların maruz kaldığı hipoksi veya iskemi-reperfüzyon, sepsis, akut enfeksiyon, ilerlemiş kanser gibi serbest radikal artışı olan durumlarda yükseldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (113,115,116). Son yıllarda Gündüz ve Türedi yaptıkları klinik çalışmalarda IMA'nın akut mezenter arter tıkanıklığında ve pulmoner embolide tanısal değerinin olduğunu ortaya koymuşlardır (135,136). Çalışmamızda Sham ve SIR gruplarında $p = 0,003$ olup $p < 0,016$ olduğu için SIR grubunda Sham grubuna göre IMA değerleri anlamlı ölçüde yükselmiştir. Sham ve Sham+KT gruplarında

$p = 0,132$, Sham ve Sham+PEG gruplarında $p = 0,24$ olup gruplar arasında farklılık yoktur ($p > 0,016$). SIR ve SIR+KT gruplarında $p = 0,2$ olup iki grup arasında fark anlamlı değildir. İMA değeri KT verilen grupta anlamlı derecede azalmamıştır.

İMA bizim uyguladığımız bu deneysel modelde daha önce hiç ölçülmemiştir. SIR grubunda İMA değerlerinin anlamlı şekilde yükselmiş olması iskemiye teyid etmektedir. Diğer parametrelerle örtüşmesi nedeniyle bu tür deneysel çalışmalarda iskemiye gösteren önemli bir markır olarak kullanılabilir. Bu sonuç birçok klinik çalışmayla örtüşmektedir (115,117,136,137). İMA ile ilgili çalışmalar yakın zamanlara kadar miyokard enfarktüsü ve akut koroner sendromlarla ilgiliyken son yıllarda periferik arteriel ve venöz sistem hastalıklarında da çalışılmıştır (116, 137). İMA ilgili yayınların önemli bir kısmı üniversitemizden yapılmıştır. Bizim çalışmamız RAAA modelinde de İMA'nın kullanılabilceğini göstermektedir.

İskemi modifiye albumin, organizmada iskeminin ve serbest radikal oluşumunun göstergesidir. SIR grubunda anlamlı derecede artması ancak SIR+ KT grubunda önemli derecede azalmaması serum MDA değerleriyle örtüşmektedir. Belki bu bulgu KT'ün etkinliğinin serbest radikalleri temizleyerek değil, MPO aktivitesindeki değişimle korele bir şekilde nötrofilleri baskılayarak olduğunu göstermektedir. Buradan klotrimazolün antioksidan özellik göstermediği sonucunu çıkarabiliriz.

Kan gazı incelemeleri alveolar seviyedeki gaz değişimini ve organizmanın asit-baz dengesini gösterir. Kan pH değerleri SIR grubunda Sham grubuna anlamlı derecede düşmüş ve metabolik asidoz oluşmuş ($p = 0.000$), KT verilen grupta anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır. KT, metabolik durumda herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır. Parsiyel oksijen basıncı PO_2 incelendiğinde gruplar arasında farklılık göstermediği izlenmektedir ($p > 0,016$). Grafikselsel olarak SIR grubunda bir miktar düşme gözlenirse de farklılık anlamlı değildir. Parsiyel karbondioksit (PCO_2) değerlerinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0,016$). Bikarbonat (HCO_3) önemli tampon sistemlerinden biridir. SIR grubunda metabolik asidozu tamponlamak için önemli derecede düşmüştür ($p < 0.016$). KT verilen grupta ise farklılık yoktur ($p > 0.016$). Klotrimazol tampon sistemlerine herhangi bir etkide bulunmamıştır. Baz açığı (BE) SIR grubunda anlamlı ölçüde artmış, -12' lere kadar inmiştir ($p = 0.000$), SIR+KT grubunda anlamlı ölçüde azalmış, - 5 civarında kalmıştır ($p = 0,006$), Sham grupları arasında farklılık gözlenmemiştir. Kan gazları

parametrelerindeki büyük değişimlerin oda havasında spontan solunumda bırakılan ratlarda tolere edilemeyeceği ve ölümlerle sonuçlanacağı aşıkardır.

RAAA modeli adı verilen bu deneysel çalışmada deney sürecindeki ratlarda ölüm oranları yüksektir. Bu nedenle Sham gruplarında 6'şar rat olmasına rağmen SIR ve SIR+KT grupları 9'ar ratla çalışılmış, bu gruplardaki ratların neredeyse % 50'si kaybedilmiştir. Ancak bizim amacımız bir mortalite çalışması olmadığı için istatistiksel olarak yeterli sayıya ulaşıncaya kadar deneye devam edilmiştir. Sham gruplarında hiçbir kayıp yaşanmamıştır. Bu deneysel modele bir ekleme yapılarak entübe ratlarda çalışılıp mekanik ventilatör altında solunum sistemi standardize edilebilir. Biz burada literatürdeki modeli uygulayarak ratları spontan solunumda bıraktık.

Histopatolojik incelemede SIR grubunda akciğer dokusunda yaygın interalveolar ödem, lökosit infiltrasyonu, interalveolar ve intraalveolar hemoraji izlendi. Bu grubun hasar skorlaması Sham grubundaki 0.5'den 2.66'ya yükselmişti.

KT verilen SIR+KT grubunda ise interalveolar ödemde ve lökosit infiltrasyonunda azalma gözlemlendi, hasar skorlaması ise SIR grubundaki 2.66'dan 1.88'e gerilemişti. Burada Sham+PEG ve Sham+KT gruplarında da Sham grubuna göre bir miktar hasar ve epitel kalınlaşması vardı. KT ve onun çözücüsü PEG'de kendi başlarına hücre düzeyinde nötrofil azalması yaparken kimyasal etkiyle membran düzeyinde reaksiyon meydana getirmiş olabilir. Bu etkinin başka deneysel çalışmalarla incelenmesi gerektiğini düşünüyoruz. Klotrimazolün antimikotik olarak klinik kullanımı sırasında böyle bir etkinin araştırıldığına dair bir yayına rastlamadık. Klotrimazol'ün entienflamatuar, antioksidan ve nöroprotektif etkinliğinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda da akciğer hasarıyla ilgili herhangi bir bulguya rastlamadık (105,106,108,132).

İskemi-Reperfüzyon çalışmalarında akciğer dokusu hakkında en değerli bilgiyi “ Pulmoner Permeabilite İndeksi” vermektedir. Radyoaktif işaretli albuminin kanda ve bronkoalveolar lavaj sıvısında ölçülerek birbirine oranlanmasıyla elde edilen kantitatif bir yöntemdir (15-18). Biz de bu yöntemi kullanmak için gerekli çalışmaları yaptık ancak başarılı olamadık. Biz çalışmamızda bu ölçümü de uygulayabilseydik akciğer dokusundaki değişimleri daha iyi değerlendirmiş olacaktık.

Klotrimazolü çalışmamızda 30mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uyguladık. Literatürde 10-50 mg/kg arasında değişik uygulamalar vardır. Biz Usul ve ark. uyguladıkları ilaç dozunu kullandık. Klotrimazol'un iskemi ve reperfüzyon çalışmalarında farklı dozlarda çalışılmasıyla daha farklı sonuçlar ortaya koyulabilecektir (108,109,110).

Klotrimazol, imidazol grubu bir bileşiktir ve antimikotik ilaç olarak kullanılmaktadır.

Yüksek voltajla uyarılan ve Ca^{+2} iyonu ile aktive olan K^{+} kanalları memelilerde en belirgin ileti yollarıdır. Bu kanallar çok hızlı iletim yapabildikleri için BK (Big K^{+}) kanalları adı verilmiştir. BK kanalları, membran depolarizasyonu veya hücre içi Ca^{+2} artışıyla aktivitelerini artırır.

İskemik bir süreç sırasında iyon gradientinin bozulması depolarizasyona neden olur ve bu da voltaja bağlı Ca^{+2} kanallarını ve bazı glutamat reseptör kanallarını açar. İskemik enerji azalması sonucu Ca^{+2} 'a bağlı $Na^{+}-K^{+}$ pompasında yetmezliğe sebep olur, intrasellüler Na^{+} artışı $Na^{+}-Ca^{+2}$ değişimini tersine çevirir. Sinaptik terminallerde yükselen Ca^{+} bazı uyarıcı aminoasitlerin salınımına neden olur, AMP ve glutamat reseptörleri aktive olarak hücre içine Ca^{+2} girişi meydana gelir. İskemi sırasındaki bu şekilde Ca^{+2} girişi ve diğer uyarılar toksik hücre ölümüne neden olur. Hücre içinde hızla yükselen Ca^{+2} mitokondrilerde de Ca^{+2} toplanmasına neden olur ve mitokondrilerde serbest oksijen radikallerine ve apoptotik faktörlerin salınmasına ve ayrıca makromolekülleri yıkan Ca^{+2} - bağlı enzimlerin aktive olmasına neden olur. İşte bu kritik durumda yükselmiş Ca^{+2} ve depolarizasyonla uyarılacak; bu durumu baskılayan, enerji ihtiyacını azaltan, Ca^{+2} girişini ve transmitter salınımını baskılayan bir koruyucu mekanizmaya ihtiyaç vardır. BK tipi kanallar en önemli koruyucu mekanizmadır. Klotrimazolün muhtemel etki mekanizması iskemik süreçte Ca^{+2} bağlı K^{+} kanallarını inhibe ederek etki göstermesidir. KT, Ca^{+2} transporunu ve Ca^{+2} bağlı işlevleri, özellikle N-metil-D-aspartat reseptörlerini regüle eder ki bu durum aşırı Ca^{+2} girişini ve mitokondrial kollapsı önler. KT böylece özellikle nöronlarda ve hepatositlerde iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu olduğu rapor edilmiştir (105,106,107).

Bizim çalışmamızda organizmada serbest radikal oluşumunu gösteren MDA düzeyleri ve oksidatif stresin diğer göstergesi olan İMA düzeyleri KT ile anlamlı olarak azalmamıştır. KT verilen grupta proenflamatuar sitokin olan TNF α ve MPO düzeyleri

belirgin ölçüde azalmıştır. Belki de KT bu dozda ve bu modelde sistemik ve lokal enflamatuar yanıtı ve nötrofil infiltrasyonunu baskılamıştır. Bu konuda başka çalışmalara ihtiyaç duyulduğu aşikardır.

Sonuç olarak ratlarda deneysel RAAA modeli kullanarak oluşturduğumuz akciğer hasarını önlenmesinde klotrimazol sistemik ve lokal enflamatuar yanıtı ve nötrofil infiltrasyonunu baskılayarak etkin olmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ratlarda deneysel rüptüre abdominal aort anevrizması (RAAA) modeli kullanılarak oluşturulan şok, iskemi ve reperfüzyona bağlı akciğer hasarını azaltmada Klotrimazol'un etkinliği serum ve akciğer dokularındaki bazı biyokimyasal ve histolojik parametrelerle incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Serum MDA değerlerinde SIR grubunda Sham gruplarına göre anlamlı yükseklik mevcuttu ($p = 0.002$). SIR+KT grubunda bir miktar azalmakla birlikte fark anlamlı değildi ($p = 0.77$). Bu bulgu SIR grubunda sistemik lipid peroksidasyonu oluştuğunu ancak KT verilmesiyle yeterince baskılanmadığını göstermektedir.
2. Serum MPO değerlerinde SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı yükseklik mevcuttu ($p = 0.0000$), SIR+KT grubunda belirgin derecede azalmıştı ($p = 0.000$). Buna göre SIR grubunda önemli ölçüde sistemik lökosit aktivasyonu olduğu ve KT'nin bu aktivasyonu önemli ölçüde baskıladığı görülmektedir.
3. Serum TNF α değeri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yükselmiş ($p = 0.000$), SIR+KT grubunda belirgin derecede azalmıştı ($p = 0.003$). En önemli proenflamatuar sitokinlerden biri olan TNF α 'nın azalması KT'nin sistemik enflamatuar yanıtı baskıladığını göstermektedir.
4. Serum IL-6 değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yükselmemiş ($p = 0.32$) ve SIR+KT grubunda da önemli bir azalma görülmemiştir ($p = 0.48$). SIR grubunda oluşan genel ve lokal değişikliklerin derecesi veya süresi bu mediatörü etkileyecek seviyede olmamıştır.
5. Serum İMA değerleri SIR grubunda Sham grubuna göre anlamlı derecede yükselmiştir ($p = 0.003$) ancak SIR+KT grubundaki azalma anlamlı değildir ($p = 0.2$). Bu bulgu SIR grubunda oksidatif strese yol açan sistemik lökosit aktivasyonunun olduğunu ancak KT ile bu aktivasyonun baskılanmadığını göstermektedir.

6. Kan gazı incelemelerinde

- a) Kan pH değerleri SIR grubunda Sham grubuna anlamlı derecede düşmüş ve metabolik asidoz oluşmuş ($p = 0.000$), KT verilen grupta anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır. KT metabolik durumda herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır.
- b) PO_2 incelendiğinde gruplar arasında farklılık göstermediği izlenmektedir ($p > 0,016$).
- c) Parsiyel karbondioksit (PCO_2) değerlerinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0,016$).
- d) Bikarbonat (HCO_3) SIR grubunda metabolik asidozu tamponlamak için önemli derecede düşmüştür ($p < 0.016$). KT verilen grupta ise farklılık yoktur ($p > 0.016$). Klotrimazol tampon sistemlerine herhangi bir etkide bulunmamıştır.
- e) Baz açığı (BE) SIR grubunda anlamlı ölçüde artmış, -12' lere kadar inmiştir ($p = 0.000$), SIR+KT grubunda anlamlı ölçüde azalmış, - 5 civarında kalmıştır ($p = 0,006$), Sham grupları arasında farklılık gözlenmemiştir.

7. Akciğer dokusu MDA değeri SIR grubunda yükselmiş ($p = 0,000$) , Sham , Sham+KT ve Sham+PEG grupları arasında farklılık göstermemiştir. SIR+KT grubunda bir miktar azalma olmakla birlikte aradaki fark anlamlı değildir ($p=0,43$). Bu bulgu SIR grubunda akciğer dokusunda lokal lipid peroksidasyonu oluştuğunu ancak KT ile yeterince baskılanmadığını göstermektedir.

8. Akciğer dokusu MPO değeri SIR grubunda anlamlı derecede artmış ($p = 0,012$), KT verilen SIR+KT grubunda anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,014$). Yani SIR grubunda lokal lökosit infiltrasyonu oluşmuş, KT ile bu yeterince baskılanmıştır.

9. Histopatolojik incelemede hasar skorlaması Sham grubunda 0.5, SIR grubunda 2.66 olarak bulunmuş, SIR+KT grubunda 1.88'e gerilemişti. SIR grubundaki akciğer

dokusunda yaygın interalveolar ödem, lökosit infiltrasyonu, interalveolar ve intraalveolar hemoraji SIR+KT grubunda önemli ölçüde azalmıştı.

10. Şok, iskemi ve reperfüzyonun birlikte uygulandığı deneysel RAAA modeli üniversitemiz deneysel araştırma laboratuvarlarında başarıyla uygulanmıştır.
11. Klotrimazol, deneysel RAAA modelinde şok ve iskemi-reperfüzyona bağlı akciğer hasarını azaltmış, bu etkiyi önemli bir proenflamatuar sitokin olan TNF α 'yı, sistemik dolaşımdaki ve akciğerlerdeki lokal lökosit infiltrasyonunu azaltarak gerçekleştirmiştir.
12. Bu çalışma literatürde klotrimazolün kullanıldığı sınırlı sayıdaki iskemi-reperfüzyon çalışmalarına katkıda bulunacaktır.

7. ÖZET

AMAÇ: Hemorajik şok ve alt beden iskemisinin birlikte olduğu rüptüre abdominal aort anevrizması (RAAA) nın cerrahi tedavisinde ölüm riski% 50-70'dir. Bunun en önemli sebebi çoklu organ yetmezliğidir ve akciğerler en fazla etkilenen uzak organlardır. Bu çalışmanın amacı ratlarda deneysel RAAA modeli oluşturarak potent bir antimikotik ilaç olan klotrimazolün akciğer hasarı üzerine olan etkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Ağırlıkları 420 ± 56 gr olan 36 adet Sprague-Dawley erkek rat Sham(n:6), SIR (n:9), Sham+KT(n:6), Sham+PEG(n:6), SIR+KT(n:9) olarak 5 gruba ayrıldı. Bütün gruplara Ketamin ve Xylazine anestezisi altında karotis arter ve juguler ven kateterizasyonu yapılarak laparotomi ve aort eksplorasyonu yapıldı. Sham gruplarına şok ve IR yapılmadan SF, Klotrimazol (KT) ve Polietilen glikol(PEG) uygulandı. SIR ve SIR+KT gruplarına ise ortalama arter basıncı 50mmHg olacak şekilde 1 saat boyunca kan alınarak hemorajik şok uygulandı, ardından abdominal aort supramezenterik ve iliak bifurkasyo öncesinde iki yerden klemplenerek 1 saat iskemi uygulandı. 1 saatin sonunda SIR grubuna 1 ml SF, SIR+KT grubuna 30mg/kg KT verilerek aort klempleri açıldı, 2 saat süreyle reperfüzyonda bırakıldılar. Hemorajik şok yapmak için alınan kanların yarısı iskemik süreçte, kalanı da reperfüzyonda geri verildi. Reperfüzyon sürecinin sonunda kan alınarak ötanazi yapıldı ve serum malondialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO), tümör nekrotizan faktör (TNF α), interlökin-6 (IL-6), iskemi modifiye albumin (İMA) ve kan gazları çalışıldı. Sol akciğer çıkarılarak akciğer dokusunda MDA, MPO ve histopatolojik inceleme yapıldı.

BULGULAR: SIR grubunda Sham gruplarına göre IL-6 dışında bütün parametrelerde artış görüldü. SIR+ KT grubunda serum ve akciğer MDA değerleri bir miktar azalsa da anlamlı değildi ($p>0.016$). SIR+KT grubunda serum MPO, TNF α ve akciğer MPO değerleri anlamlı derecede azalmıştı ($p< 0.016$). Serum İMA değerleri SIR grubunda Sham gruplarına göre önemli derecede artsa da SIR+ KT grubunda anlamlı derecede azalmamıştı ($p>0.016$).Kan gazları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.016$). Akciğerin histopatolojik incelemesinde SIR grubunda yaygın interalveolar ödem, lökosit

infiltrasyonu, interalveolar ve intraalveolar hemoraji izlenirken KT verilen grupta interalveolar ödemin azaldığı, lökosit infiltrasyonunun gerilediği gözlemlendi.

SONUÇ: Klotrimazol, deneysel RAAA modelinde şok ve iskemi-reperfüzyona bağlı akciğer hasarını azaltmış, bu etkiyi TNF α ve lökosit infiltrasyonunu azaltarak gerçekleştirmiştir.

8. SUMMARY

PURPOSE: The risk of death with surgical treatment of ruptured abdominal aortic aneurysm (RAAA) with ischemia of the lower torso and hemorrhagic shock is 50-70%. The most important reason for RAAA is multiple organ failure and the lungs are the most affected remote organs. The purpose of this study is to evaluate the effect of clotrimazole, which is a potent antimycotic drug on lung injury in rats by creating an experimental model RAAA.

MATERIALS AND METHODS: Twenty six male Sprague-Dawley rats, in weights of 420 ± 56 g, were divided into 5 groups as Sham (n = 6), SIR (n = 9), sham + CT (n = 6), Sham + PEG (n = 6), and SIR + CT (n = 9). Laparotomy and aortic exploration were performed in all groups under anesthesia with Ketamine and Xylazine and carotid artery and jugular vein cannulated. In Sham groups saline, Clotrimazole (CT) and polyethylene glycol (PEG) were administered without shock and IR were developed. In SIR and SIR + CT groups, hemorrhagic shock was developed by drawing blood through one hour as to keep average arterial pressure at 50mmHg, then ischemia was developed by clamping the abdominal aorta in two locations before the supramesenteric and iliac bifurcation. After 1 hour SIR group was given 1ml saline and SIR + CT group was given 30mg/kg CT then aortic clamps were opened and left for 2 h reperfusion. Half of the blood which was drawn in order to develop hemorrhagic shock was given back during the ischemic process and the remainder was given back during reperfusion process. at the end of the Reperfusion process of euthanasia was performed by drawing blood and serum malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), tumor necrosis factor (TNF α), interleukin-6 (IL-6), ischemia modified albumin (IMA), and blood gases were examined. The left lung removed and MDA, MPO and histological examination were performed in lung tissue.

RESULTS: An increase was observed in all parameters except IL-6 in the SIR group in comparison to sham groups. In SIR + CT group in serum and lung MDA levels were slightly decreased but it was not significant ($p > 0.016$). In SIR + CT group, the serum MPO, TNF α , and lung MPO values were decreased significantly ($p < 0.016$). In SIR group serum IMA values were increased significantly when compared with Sham groups

whereas in the SIR + CT group it was not decreased significantly ($p > 0.016$). Blood gas analysis did not differ significantly between the groups ($p > 0.016$). In histopathologic examination of the the SIR group diffuse interalveolar edema, leukocyte infiltration, and intraalveolar hemorrhage were observed. Whereas in the CT group, it is observed.

9. KAYNAKLAR

1. Visser P, Akkersdijk GJ, Blankenstein JD: In- hospital mortality of ruptured abdominal aortic aneurysm: a population – based analysis of 5593 patients in the Netherlands over a 10- year period. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 30(4): 359- 64, 2005
2. Acosta S, Ogren M, Bengtsson H, Bergqvist D, Lindblad B, Zdanowski Z: Increasing incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: a population based study. *J Vasc Surg*, Aug;44(2): 237- 43, 2006
3. Acosta S, Lindbald B, Zdanowski Z: Predictors for outcome after open and endovascular repair of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 33; 277- 284, 2007
4. Mass Group. The multicenter aneurysm screening study (MASS) into the effect of abdominal aortic aneurysm screening on mortality in men: a randomised controlled trial. *The Lancet*, 360 (16): 1531- 39, 2002
5. Davidovic L, Markovic M, Kostic D, Cinara I, Markovic D, Maksimovic Z: Ruptured abdominal aortic aneurysms: Factors influencing early survival. *Ann Vasc Surg*, 19: 29- 34, 2005
6. Rutherford RB, Krupski WC: Current status of open versus endovascular stent-graft repair of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 39: 1129- 39, 2004
7. Cosford PA, Leng GC: Screening for abdominal aortic aneurysm. *Cochrane Database Syst Rev*. Apr 18 (2): CD002945, 2007
8. Harkin DW, Maron C.D, Rother R.P, Romaschin A, Rubin B.B, Lindsay T.F: C5 complement inhibition attenuates shock and acute lung injury in an experimental model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *British J.Surg*, 92: 1227- 1234, 2005
9. Shahani R, Marshal J, Barry R, Walker PM, Lindsay TF: Role of TNF- α in myocardial dysfunction after hemorrhagic shock and lower-torso ischemia. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol*, 278: 942-950, 2000
10. Brewster DC, Cronenwett JL, Hallet JW, Johnson KW, Krupski WC, Matsumura JS: Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms. Report of

- subcommittee of the joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery. *J Vasc Surg*, 37: 1106- 17, 2003
11. Moll FL, Powell JT, Fraedrich G, Verzini F, Haulon S, Waltham M, Van Herwaarden JA, Holt PJE et al: Management of Abdominal Aortic Aneurysms Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 41(Supp1) Jan: 1- 58, 2011
 12. McLean KJ, Marshall KR, Richmond A, et al: Azole antifungals are potent inhibitors of cytochrome P450 mono-oxygenases and bacterial growth in mycobacteria and streptomyces. *Microbiology*, 148: 2937- 49, 2002
 13. Lannelli A, Sousa G, Zucchini N, Peyre L, Gugenheim J and Rahmani R: Clotrimazole protects the liver against normothermic ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplant Proc*, Dec; 14(10); 4099- 104, 2009
 14. Lannelli A, de Sousa G, Zucchini N, Saint-Paul MC, Gugenheim J, Rahmani R: Anti-Apoptotic Pro-Survival Effect of Clotrimazole in a normothermic ischemia reperfusion injury animal model. *J Surg Res*, doi: 10.1016/j.jss.2010.03.035: 1- 7,2010
 15. Lindsay TF, Walker P, Romaschin A: Acute pulmonary injury in a model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 22: 1- 8, 1995
 16. Lindsay TF, Luo XP, Lehotay DC, Rubin BB, Anderson M, Walker PM, Romaschin AD: Ruptured abdominal aortic aneurysm, a "two- hit" ischemia/reperfusion injury: evidence from an analysis of oxidative products. *J Vasc Surg*, Aug;30(2): 219- 28, 1999
 17. Harkin DW, Marron CD, Rother RP, Romaschin A, Rubin BB, Lindsay TF: C5 complement inhibition attenuates shock and acute lung injury in an experimental model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *British J Surg*, 92: 1227- 1234, 2005
 18. Boyd AJ, Rubin BB, Walker PM, Romaschin A, Issekutz TB, Lindsay TF: A CD18 monoclonal antibody reduces multiple organ injury in a model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *Am j Physiol Heart Crit Physiol*, 277:172- 182, 1999
 19. Harkin D, Rubin B, Romaschin A, Lindsay TF: Selective inducible nitric oxide (iNOS) inhibition attenuates remote acute lung injury in a model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Surg Res*, 120: 230- 241, 2004

20. Buket S, Yağdı T: Aort Cerrahisi. , Yüce reklam, yayın ve dağıtım, İstanbul, 1. basım. 2003, pp. 347-399
21. Lindholt JS, Juul S, Fasting H, Henneberg EW: Screening for abdominal aortic aneurysms: single centre randomised controlled trial. *BMJ*, 330: 750- 3, 2005
22. Norman PE, Jamrozik K, Lawrence-Brown MM, Le MT, Spencer CA, Tuohy RJ, et al: Population based randomised controlled trial on impact of screening on mortality from abdominal aortic aneurysm. *BMJ*, 329: 1259- 62, 2004
23. Swartbol P, Truedson L, Norgren L: The inflammatory response and its consequence for thr clinical outcome following aortic aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 21: 393-400, 2001
24. Cronenwett JL, Krupski WC, Rutherford RB: Abdominal aortic and iliac aneurysm. *Vascular Surgery*. , Saunders Company, Pennsylvania, 5th ed. 2000, pp. 1246-1281
25. Ebaugh JL, Garcia ND, Matsumara JS: Screening and surveillance for abdominal aortic aneurysms: who needs it and when. *Semin Vasc Surg*, Sep; 14(3): 193-9, 2001
26. Rutherford RB: Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms. *Vascular Surgery*. , Saunders company, Pennsylvania, 5th ed. 2000, pp.1296- 1303
27. Brady AR, Thompson SG, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Powell JT: Abdominal aortic aneurysm expansion: risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation*,110:16-21, 2004
28. Scobie TK, Masters RG: Changing factors influencing abdominal aortic aneurysm repair. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. Jul-Aug;23(4):309-13, 1982
29. Greco G, Egorova N, Anderson PL, Gelijns A, Moskowitz A, Nowygrod R, Arons R, McKinsey J, Morrissey NJ, Kent KC: Outcomes of endovascular treatment of ruptured abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, Mar;43(3): 453-459, 2006
30. Crawford ES: Ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 13: 348-50,1991
31. Bown MJ, Sutton AJ, Bell PR, Sayers RD: A meta-analysis of 50 years of ruptured abdominal aortic aneurysm repair. *Br J Surg*, 89: 714-30, 2002

32. Chaikof EL, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard GA, Timaran CH, Upchurch GR Jr, Veith FJ; The care of patients with an abdominal aortic aneurysm: the Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg*, Oct;50(4 Suppl): 2- 49, 2009
33. Brown PM, Zelt DT, Sobolev B: The risk of rupture in untreated aneurysms: the impact of size, gender, and expansion rate. *J Vasc Surg*, 37: 280- 4, 2003
34. Powell JT, Brown LC, Greenhalgh RM, Thompson SG: The Rupture rate of large abdominal aortic aneurysms: is this modified by anatomical suitability for endovascular repair? *Ann Surg* 247: 173- 9, 2008
35. Lindholt JS, Heegaard NH, Vammen S, Fasting H, Henneberg EW, Heickendorff L: Smoking, but not lipids, lipoprotein (a) and antibodies against oxidised ldl, is correlated to the expansion of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 21: 51- 6, 2001
36. Holt PJ, Karthikesalingam A, Poloniecki JD, Hinchliffe RJ, Loftus IM, Thompson MM: Propensity scored analysis of outcomes after ruptured abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*, 97: 496- 503, 2010
37. Eslami MH, Messina LM: Ruptured AAA: open surgical management. *Semin Vasc Surg*, Dec; 23(4): 200- 5, 2010
38. Boules TN, Compton CN, Stanziale SF, et al: Can computed tomography scan findings predict "impending" aneurysm rupture? *Vasc Endovascular Surg*, 40: 41- 7, 2006
39. Van Keulen JW, Moll FL, Verhagen HJ, Van Herwaarden JA: Commentary: DynaCT and its use in patients with ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Endovasc Ther*, 17(2): 190- 1, 2010
40. Roberts K, Revell M, Youssef H, Bradbury AW, Adam DJ: Hypotensive resuscitation in patients with ruptured abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 31(4): 339- 44, 2006
41. Van der Vliet JA, Van Aalst DL, Schultze Kool LJ, Wever JJ, Blankensteijn JD: Hypotensive hemostatis (permissive hypotension) for ruptured abdominal aortic aneurysm: are we really in control? *Vascular*,15(4): 197- 200, 2007

42. Roberts I, Evans P, Bunn F, Kwan I, Crowhurst E: Is the normalisation of blood pressure in bleeding trauma patients harmful? *Lancet*, 357: 385- 7, 2001
43. Quiroga E, Tran NT, Hatsukami T, Starnes BW: Hypothermia is associated with increased mortality in patients undergoing repair of ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Endovasc Ther.*, Jun;17(3): 434- 8, 2010
44. Janczyk RJ, Howells GA, Bair HA, Huang R, Bendick PJ, Zelenock GB: Hypothermia is an independent predictor of mortality in ruptured abdominal aortic aneurysms. *Vasc Endovascular Surg*, Jan-Feb; 38(1): 37- 42, 2004
45. Acosta S, Ogren M, Bergqvist D, Lindblad B, Dencker M, Zdanowski Z.: The Hardman index in patients operated on for ruptured abdominal aortic aneurysm: A systematic review. *J Vasc Surg*, Nov;44(5): 949- 54, 2006
46. Korhonen SJ, Ylönen K, Biancari F, Heikkinen M, Salenius JP, Lepantalo M: Glasgow aneurysm score as a predictor of immediate outcome after surgery for ruptured abdominal aortic aneurysm. *Brit J Surg*, 91: 1449- 1452, 2004
47. Harris JR, Forbes TL, Steiner SH, Lawlor DK, Derosé G, Harris KA: Risk-adjusted analysis of early mortality after ruptured abdominal aortic aneurysm repair, *J Vasc Surg Sep*;42(3): 387- 91, 2005
48. Blankensteijn JD, Lindenburg FP, van der GY, Eikelboom BC: Influence of study design on reported mortality and morbidity rates after abdominal aortic aneurysm repair. *Br J Surg*, 85: 1624- 30, 1998
49. Makar RR, Badger SA, O'Donnell ME, Loan W, Lau LL, Soong CV: The effects of abdominal compartment hypertension after open and endovascular repair of a ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 49: 866- 72, 2009
50. Noel AA, Gloviczki P, Cherry Jr KJ, Bower TC, Panneton JM, Mozes GI, et al. Ruptured abdominal aortic aneurysms: the excessive mortality rate of conventional repair. *J Vasc Surg*, 34: 41- 6, 2001
51. Gloviczki P, Pairolero PC, Mucha Jr P, Farnell MB, Hallett Jr JW, Ilstrup DM, et al. Ruptured abdominal aortic aneurysms: repair should not be denied. *J Vasc Surg*, 15: 851- 7, 1992
52. Kniemeyer HW, Kessler T, Reber PU, Ris HB, Hakki H, Widmer MK: Treatment of ruptured abdominal aortic aneurysm, a permanent challenge or a waste of

- resources? Prediction of outcome using a multi-organ-dysfunction score. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 19:190-6, 2000
53. Angele KM, Schneider CP, Chaudry IH. Bench-to bedside review: Latest results in hemorrhagic shock. *Crit Care*.12 (4): 218- 231, 2008
 54. Lomas-Niera JL, Perl M, Chung CS, Ayala A. Shock and hemorrhage: An overview of animal models. *Shock*. 24 (suppl): 33- 30, 2005
 55. Bruncardi CF, Andersen DK, Billier TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RF: Shock. *Schwartz's Principles of Surgery.*, The McGraw- Hill Companies, Inc, America, 9th Ed. 2010, pp. 135- 198
 56. Alam HB. An update on fluid resuscitation. *Scand J Surg*. 93: 136- 145, 2006
 57. Choi PTL, Yip G, Quinonez LG, et al: Crystalloid vs colloids in fluid resuscitation. A systemic review. *Crit Care Med*, 28: 3498- 504, 2000
 58. Domsky MF, Wilson RF. Hemodynamic resuscitation. *Crit Care Clin*, 10: 715- 26, 1993
 59. Kreimeier U, Messmer K: Small volume resuscitation: From experimental evidence to clinical routine. Advantages and disadvantages of hypertonic solutions. *Acta Anaesthesiol Scand*, 46: 625- 38, 2002
 60. Groeneveld AB. Albumin and artificial colloids in fluid management: Where does the clinical evidence of their utility stand? *Crit Care*, 4:16- 20, 2000
 61. Eltzschig HK, Collard CD: Vascular ischemia and reperfusion. *British Med Bull*, 70: 71- 86, 2004
 62. Okutan H, Savaş Ç, Özgüner F, Yönden Z, Eren Ç, Delibaş N: Lung injury after aortic occlusion-reperfusion in rats: the role of gonadolum chloride. *Thoku J Exp Med*. 203: 267- 273, 2004.
 63. Pereyra LH, Toledo AH, Walsh J, Lopez F, Neblina F: Molecular Signaling Pathways in Ischemia/Reperfusion. *Exp Clin Transplant*, Jun; 2(1): 174-7, 2004
 64. Girn HR, Ahilathirunayagam S, Mavor AL, Homer-Vanniasinkam S: Reperfusion Syndrome: Cellular Mechanisms of Microvascular Dysfunction and Potential Therapeutic Strategies. *Vascular and Endovascular Surgery*, Aug-Sep 41(4): 277- 93, 2007
 65. Tekeli A, Akgün S, Civelek A, İşbir S: Alt ekstremité iskemi reperfúzyonu sonucunda gelişen akciğer hasarının önlenmesinde farklı bir ajan: FK 506

- (Takrolimus). *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 9: 242- 246, 2001
66. Cowled PA, Laws PE, Roach DM and Fitridge RA: Pathophysiology of reperfusion injury. *Mechanisms of Vascular Disease*. , Cambridge University Pres, UK, First ed. 2007, pp. 259-275
 67. Eltzschig HK and Collard CD: Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British Medical Bulletin*, 70: 71–86, 2004
 68. Li C, Jackson RM: Reactive species mechanism of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol*, 82: 277- 241, 2002
 69. Hearse DJ: Ischemia, reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Cardiovasc Drugs Ther*, Aug;4 Suppl 4: 767- 76, 1990
 70. Karhausen J, Hasse VH, Colgan SP. Inflammatory hypoxia: role of hypoxia-inducible factor. *Cell Cycle*, 4: 256- 258, 2005
 71. Li C, Jackson RM: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282: 227- 241, 2002
 72. Tyagi S, Klickstein LB, Nicholson-Weller A: C5a-stimulated human neutrophils use a subset of beta2 integrins to support the adhesion-dependent phase of superoxide production. *J Leukoc Biol*, 68: 679- 686, 2000
 73. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr*. 57(7): 715- 25, 1993
 74. Rio DD, Steward AJ, Pellegrini N: A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stres. *Nutr Metabl Cardiovasc Dis*, Aug 15(4): 316- 28, 2005
 75. Zimmerman BJ, Granger DN: Reperfusion Injury. *Surg Clin North Am*, 72: 65- 83, 1992
 76. Salvemini D, Cuzzocrea S: Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. *Crit Care Med*, 31: 29- 38, 2003
 77. Cord JM: The evaluation of free radicals and oxydative stres. *Am J Med*, 108: 652- 659, 2000
 78. Bertuglia S, Giusti A: Microvascular oxygenation, oxidative stress, NO suppression and superoxide dismutase during postischemic reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 285:1064- 1071, 2003

79. Khanna A, Cowled PA, Fittridge RA: Nitric oxide and skeletal muscle reperfusion injury: current controversies. *J Surg Res*, 128: 98- 107, 2005
80. Li C, Jackson RM: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282:227- 241, 2002
81. Spark IJ: SIRS, sepsis and multi-organ failure in vascular surgery. *Mechanisms of Vascular Disease*. , Cambridge University Pres, UK, First ed. 2007, pp. 243- 259
82. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM: The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock*, May;21(5):401- 9, 2004
83. Riedemann NC, Ward PA: Complement in ischemia reperfusion injury. *Am J Pathol*, Feb;162(2):363-7, 2003
84. Sundsmo JS, Fair DS: Relationships among the complement, kinin, coagulation and fibrinolytic systems in the inflammatory reaction. *Clin Physiol Biochem*, 1(2-5):225- 84, 1983
85. Santiago-Delpin EA. The endothelium and early immune activation: new perspective and interactions. *Transplant Proc*, 36: 1709-1713, 2004
86. Omari KM, Dorovini-Zis K: CD40 expressed by human brain endothelial cells regulates CD40+ T cell adhesion to endothelium. *J Neuroimmunol*, 134: 166- 178, 2003
87. Monaco C, Andreakos E, Young S, Feldmann M, Paleolog E: Cell-mediated signalling to vascular endothelium: induction of cytokines, chemokines, and tissue factor. *J Leukoc Biol*. 71: 659- 668, 2002
88. Wu KK, Thiagarajan P: Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med*, 47: 315- 331, 1996
89. Tua HT, Al-Badawi H, Stoner MC, et al: CXC chemokine expression and synthesis in skeletal muscle during ischemia/reperfusion. *J Vasc Surg*. 42: 337- 343, 2005
90. Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC: Hypoxia- induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade Bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation. *J Clin Invest*, 15; 97(2): 493-500,1996
91. Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G: Role of plateletactivating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev*, 80: 1669- 1699, 2000

92. Watering S, Berk N, Buul JD, et al: VCAM- 1-mediated Rac signalling controls endothelial cell-cell contacts and leukocyte transmigration. *Am J Physiol Cell Physiol*, 285: 343- 352, 2003
93. Muller WA: Migration of leukocytes across endothelial junctions: some concepts and controversies. *Microcirculation*. 8: 181- 193, 2001
94. Haimovici H: Metabolic complications of acute arteriel occlusions and skeletal muscle ischemia: Myonephropatic-Metabolic Syndrome. *Haimovici's Vascular Surgery*. , Blackwell Science, US, 4th ed, 1996, pp. 509-531
95. Nanobashvili J, Neumayer C, Fuegl A, Blumer R, Prager M, Sporn E, Polterauer P, Malinski T, Huk I: Development of "no-reflow" phenomenon in ischemia/ reperfusion injury: failure of active vasomotility and not simply passive vasoconstriction. *Eur Surg Res*,35: 417-424, 2003
96. Antonelli M, Azoulay E, Bonten M, Chastre J, Citerio G, Conti G, De Backer D et al. Year in review in Intensive Care Medicine, 2008: II. Experimental, acute respiratory failure and ARDS, mechanical ventilation and endotracheal intubation. *Intensive Care Med*, Feb;35(2): 215- 31, 2009
97. Eliason JL, Wakefield TW: Metabolic consequences of acute limb ischemia and their clinical implications. *Semin Vasc Surg*, Mar;22(1): 29-33, 2009
98. Raijmakers PG, Groeneveld AB, Rauwerda JA, Teule GJ, Hack CE: Acute lung injury after aortic surgery: the relation between lung and leg microvascular permeability to 111indium-labelled transferrin and circulating mediators. *Thorax*, Oct 52(10): 866-71, 1997
99. Abraham E: Neutrophils and acute lung injury. *Crit Care Med*,31(4) supp:195-199, 2003
100. Özyurt Y, Erkal H, Demirhan R, Arıkan Z: Akut respiratuar distres sendromu. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg*, 10: 126- 130, 2002
101. Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Abu Amara M, Seifalian AM, Davidson BR: Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. *J Surg Res*, Dec;150(2): 304- 30. Epub 2008 Jan 22, 2008
102. Rocker MG: Ischemia/ Reperfusion, Inflammatory responses and acute lung injury. *Thorax*, 52: 841- 842, 1997

103. Rocker MG, Wiesseman MS, Pearson D, Shak DJ: Diagnostic criteria for adult respiratory distress syndrome: Time for reappraisal. *Lancet* 1: 120- 3, 1989
104. Desai SR: Acute respiratory distress syndrome. Imaging of injured lung. *Clin Radiol* 57: 8- 17, 2002
105. Bartolommei G, Tadini-Buoninsegni F, Hua S, Moncelli MR, Inesi G and Guidelli R: Clotrimazole inhibits the Ca²⁺-ATPase (SERCA) by interfering with Ca²⁺ binding and favoring the E2 conformation. *J Biol Chem.* 281: 9547–9551, 2006
106. Isaev NK, Stelmashook EV, Dirnagl U, Anfreeva NA, Manuhova L, Vorobjev VS, Sharonava IN, Skrebitsky VG, Victorov IV, Katchanov J, Weih M and Zorov DB: Neuroprotective effects of the antifungal drug clotrimazole. *Neuroscience*, 113: 47–53, 2002
107. Rettenhouse AR, Vandorpe DH, Brugnara C and Alper SL: The antifungal imidazole clotrimazole and its major in vivo metabolite are potent blockers of the calcium-activated potassium channel in murine erythroleukemia cells. *J. Membr. Biol*, 157: 177–191, 1997
108. Snajdrova L, Xu A and Narayanan N: Clotrimazole, an antimycotic drug, inhibits the sarcoplasmic reticulum calcium pump and contractile function in heart muscle, *J. Biol. Chem.* 273, 28032–28039, 1998
109. Usul H, Çakır E, Arslan E, Peksoylu B, Alver A, Sayin OC, Topbas M and Baykal S: Effects of clotrimazole on experimental spinal cord injury. *Arch Med Res*, 37: 571–575, 2006
110. Usul H, Arslan E, Cansever T, Cobanoglu U, Baykal S: Effects of clotrimazole on experimental spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats. *Spine*, Dec 15; 33(26): 2863- 7, 2008
111. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N: Review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 15: 316- 328, 2005
112. Yagi K: Assay of blood plasma or serum. *Methods of Enzymology*, 109:328- 331, 1984
113. Uchiyama M, Mihara M: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86:271- 278,1978.

- 114.**Yang L, Froio RM, Sciuto TE, et al: ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- α -activated vascular endothelium under flow. *Blood*, 106: 584- 592, 2005
- 115.**Shen XL, Lin CJ, Han LI, Lin L, Pan L, Pu X. Assessment of ischemia-modified albumin levels for emergency room diagnosis of acute coronary syndrome. *Int J Cardiol* doi:10. 1016 /j.ij card.2010.01.013, 2010
- 116.**Hjortshoj S, Dethlefsen C, Kristensen SR, Ravkilde J: Kinetics of ischaemia modified albumin during ongoing severe myocardial ischaemia. *Clin Chim Acta*, 403:114- 20, 2009
- 117.**Sbarouni E, Georgiadou P,Voudris V: Ischemia modified albumin changes - review and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*, 49(2):177–184, 2011
- 118.**Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E. Characterization of the Co(2q) and Ni(2q) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. *Eur J Biochem*, 268: 42- 7, 2001
- 119.**Bar-Or D, Lau E, Winkler JV: A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med*, 19: 311- 5, 2000
- 120.**Tekinbaş C, H.Ulusoy, Yulug E, Alver A, Erol M, Yenilmez E, Geze Ş, Topbaş M. “One- lung Ventilation: For How Long,” *J Thorac Cardiovasc Surg*, 134(2): 405- 10, 2007
- 121.**Jan WC, Chen CH, Tsai PS, Huang CJ: Limb ischemic preconditioning mitigates lung injury induced by haemorrhagic shock/resuscitation in rats. *Resuscitation*. Jun;82(6):760- 6, 2011
- 122.**Gulmen S, Kiris I, Kocyigit A, Dogus DK, Ceylan BG, Meteoglu I: β -Glucan protects against lung injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res*. Dec;164(2): e325- 32, 2010
- 123.**Kiriş I, Narin C, Gülmen S, Yilmaz N, Sütçü R, Kapucuoğlu N: Endothelin receptor antagonism by tezosentan attenuates lung injury induced by aortic ischemia-reperfusion.*Ann Vasc Surg*, May- Jun;23(3):382- 91, 2009

124. Kurtoglu T, Sacar M, Inan BK, Duver MH, Guler A, Ucak A, Us MH, Yilmaz AT: Erdosteine ameliorates injury induced by transient aortic occlusion in rats. *Cardiovasc J Afr*, Nov-Dec;18(6): 367- 70, 2007
125. SouzaFilho MV, Loiola RT, Rocha EL, Simão AF, Gomes AS, Souza MH, Ribeiro RA: Hind limb ischemic preconditioning induces an anti-inflammatory response by remote organs in rats. *Braz J Med Biol Res*, Oct;42(10):921- 9, 2009
126. Okutan H, Savas C, Delibas N: The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, Sep;3(3):519-22, 2004
127. Xu B, Gao X, Xu J, Lei S, Xia ZY, Xu Y, Xia Z. Ischemic postconditioning attenuates lung reperfusion injury and reduces systemic proinflammatory cytokine release via heme oxygenase 1. *J Surg Res*, Apr;166(2):e157- 64, 2011
128. Zhao X, Town JR, Yang A, Zhang X, Paur N, Sawicki G, Gordon JR. A novel ELR-CXC chemokine antagonist reduces intestinal ischemia reperfusion-induced mortality, and local and remote organ injury. *J Surg Res*, Aug;162(2):264- 73, 2010
129. Yassin MM, Harkin DW, Barros D'Sa AA, Halliday MI, Rowlands BJ: Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg*, Jan;26(1):115- 21, 2002
130. Mbachu EM, Klein LV, Rubin BB, Lindsay TF: A monoclonal antibody against cytokine-induced neutrophil chemoattractant attenuates injury in the small intestine in a model of ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. May;39(5):1104-11, 2004
131. Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, Goris RJ: Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg*, Dec;218(6):769-76, 1993
132. Thapa D, Lee JS, Park SY, Bae YH, Bae SK, Kwon JB, Kim KJ, Kwak MK, Park YJ, Choi HG, Kim JA: Clotrimazole ameliorates intestinal inflammation and abnormal angiogenesis by inhibiting interleukin-8 expression through a nuclear

- factor-kappaB-dependent manner. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Nov;327(2):353-64, 2008
- 133.** Shields CJ, Winter DC, Manning BJ, Wang JH, Kirwan WO, Redmond HP: Hypertonic saline infusion for pulmonary injury due to ischemia-reperfusion. *Arch Surg*. 2003 Jan;138(1):9- 14.
- 134.** Waldow T, Alexiou K, Witt W, Albrecht S, Wagner F, Knaut M, Matschke K: Protection against acute porcine lung ischemia/reperfusion injury by systemic preconditioning via hind limb ischemia. *Transpl Int*, Feb;18(2):198- 205, 2005
- 135.** Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Karahan SC, Hos G, Tatlı Ö, Turan I, Ucar U, Robert Russell M, Topbas M: Ischemia-modified albumin in the diagnosis of acute mesenteric ischemia: a preliminary study. *American Journal of Emergency Medicine*, 26, 202–205, 2008
- 136.** Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Topbas M, Karahan SC, Yeniocak S, Turan I, Eroglu O, Et al: The value of ischemia-modified albumin compared with d-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. *Respiratory Research*, 9:30- 49, 2008