

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

**RATLARDA GEÇİCİ ABDOMİNAL AORT OKLÜZYONU SONRASINDA OLUŞAN
AKCİĞER HASARININ AZALTILMASINDA TRANEKSAMİK ASİDİN ROLÜ**

**THE ROLE OF THE TRANEXAMIC ACITE ON REDUCING OF PULMONARY
INJURY DUE TO TRANSIENT ABDOMINAL AORTIC OCCLUSION IN RATS**

UZMANLIK TEZİ

Dr. M.Fethi SAĞLAM

TRABZON – 2009

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

**RATLARDA GEÇİCİ ABDOMİNAL AORT OKLÜZYONU SONRASINDA OLUŞAN
AKCİĞER HASARININ AZALTIKMASINDA TRANEKSAMİK ASİDİN ROLÜ**

**THE ROLE OF THE TRANEXAMIC ACITE ON REDUCING OF PULMONARY
INJURY DUE TO TRANSIENT ABDOMINAL AORTIC OCCLUSION IN RATS**

UZMANLIK TEZİ

Dr.M. Fethi SAĞLAM

TRABZON – 2009

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Zerrin PULATHAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	34
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	62
7. TÜRKÇE ÖZET	64
8.İNGİLİZCE ÖZET.....	65
9. KAYNAKLAR.....	67

KISALTMALAR

ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
ACB	Albümin Kobalt Bağlama testi
ADP	Adenozin Difosfat
ALI	Akut Akciğer Hasarı
ALT	Alanin Transaminaz
AMP	Adenozin Monofosfat
APC	Aktive Protein C
ARDS	Akut Respiratuar Distres Sendromu
ATP	Adenozin Trifosfat
AT III	Antitrombin III
BAL	Bronkoalveoler Lavaj
BE	Baz açığı
Ca⁺²	Kalsiyum iyonu
Cl⁻	Klörür iyonu
CPR	Kardiopulmoner Resüstasyon
Cu	Bakır
C1-9	Kompleman faktörleri
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DVT	Derin Ven Trombozu
EDHF	Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör
ER	Endoplazmik Retikulum
ET-1	Endotelin-1
Fe	Demir
FeII	Redükte haldeki demir
FI-XIII	Koagülasyon faktörleri
FiO₂	Ortamdaki Oksijen Yüzdesi
GSH	Glutasyon
H⁺	Hidrojen iyonu
HCO₃⁻	Bikarbonat iyonu

HOCl	Hipokloröz asit
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen peroksit
ICAM-1	İntersellüler Adezyon Molekülü-1
IR	İskemi Reperfüzyon Hasarı
IL-1	İnterlökin-1
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
İMA	İskemi Modifiye Albümin
iTCC	İnaktif Terminal Kompleks
K⁺	Potasyum iyonu
KPB	Kardiopulmoner by-pass
LDH	Laktat dehidrogenaz
LOO	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
LTB₄	Lökotrien B ₄
MBL	Mannoz Bağlayıcı Leptin
MDA	Malondialdehit
Mg	Magnezyum
MI	Myokart Enfarktüsü
MPO	Myeloperoksidaz
Na⁺	Sodyum iyonu
Na⁺-K⁺ATPaz	Sodyum potasyum ATPaz
NAC	N-asetil sistein
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NO	Nitrik oksit
OH[·]	Hidroksil radikali
ONOO	Peroksinitrit
O₂	Oksijen molekülü
O₂^{·-}	Süperoksit radikali
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PAI-2	Plazminojen aktivatör inhibitörü-2

PBS	Phospat buffer salin solusyonu
PCO₂	Parsiyel Karbondioksit basıncı
PCWP	Pulmoner Kapiller Wedge Basıncı
PEEP	Pozitif Ekspirium Sonu Basıncı
PGI₂	Prostasiklin
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
PO₂	Parsiyel Oksijen basıncı
PR3	Proteinaz 3
PT	Protrombin zamanı
SaO₂	Oksijen Satürasyonu
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAFI	Trombinle Aktive Edilen Fibrinolizis İnhibitörü
TAT	Trombin antitrombin kompleksi
TF	Doku Faktörü
TFPI	Doku Faktörü Yolu İnhibitörü
TM	Trombomodulin
TNF-Alpha	Tümör Nekroz Faktörü-Alpha
tPA	Doku Plazminojen Aktivatörü
TA	Traneksamik asit
uPA	Ürokinaz plazminojen aktivatörü
vWF	Von Willebraund faktör
¹O₂	Singlet Oksijen

1. GİRİŞ

İskemi; doku veya organa giden kan akımının bir süre azalması veya kesilmesi, reperfüzyon ise iskemiye maruz kalan dokunun tekrar kanlandırılması olarak tanımlanmaktadır (1). Kan akımındaki bu azalma iskemik organ ve dokularda değişik derecelerde doku hasarı oluşturur. Bu hasarın farklı derecelerde oluşması iskeminin süresine, dokuların özelliklerine ve duyarlılıklarına bağlıdır (2).

Yaşamsal fonksiyonların korunması veya geri döndürülmesi amacıyla reperfüze edilen iskemik alanlarda nekroz ve doku ödemi gelişebilir. Bu reperfüzyona bağlı hasar sadece iskemi gelişen ve reperfüze edilen alanda lokalize kalmayıp bazen erişkin respiratuar distres sendromu (ARDS), miyokard depresyonu, renal ve hepatik disfonksiyon gibi uzak organlarda sistemik etki ile çoklu organ yetmezliği yapacak şekilde kompleks sistemik hasarla da sonuçlanabilir (3).

Günümüzde cerrahi teknik ve erken postoperatif dönem takip uygulamalarındaki gelişmelere rağmen oluşabilen iskemi-reperfüzyon hasarı (IR) halen kardiyovasküler cerrahinin temel sorunlarından biridir. Vasküler cerrahide abdominal aort cerrahisi, alt ekstremitte arterlerindeki emboli, kronik ateroskleroz zemininde gelişen trombüs, travmatik veya iatrojenik arteriyal yaralanmaların cerrahi tedavisi sonrası IR gelişebilir (4,5,6).

IR'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber en sık üzerinde durulan mekanizma ; cerrahi veya travma sonrası bir dizi sistemik reaksiyonu tetikleyen doku yaralanmasıdır. Bu tetiklenme lokal ve uzak organ hasarından sorumlu olan nötrofil aktivasyonuna, IL-1 ve TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımına, serbest oksijen radikalleri ve proteazların oluşumuna sebep olur (7). İskemik kalan dokuda kan akımındaki staz ve hipoksiye bağlı kapiller endotel zedelenmesi sonucu kapiller içlerinde tromboz ve fibrin depositleri birikmektedir. Reperfüzyon aşamasında buna yanıt olarak kapiller endotellerinden salınan doku plazminojen aktivatörü (tPA) tarafından aktiflenen plazmin trombüs üzerinde fibrinolitik etki yaparak iskemik doku yıkımında artışa neden olmaktadır. Doku yıkım ürünleri ve fibrinolitik etki sonucu oluşan fibrin yıkım ürünleri 'wash out' yani yıkanma etkisiyle başta akciğer olmak üzere diğer organ kapillerlerini tıkayarak reperfüzyonun uzak organ etkilerinde önemli rol oynar (4).

Literatürde iskemi-reperfüzyon hasarıyla ilgili deneysel iskemi-reperfüzyon çalışmaları yapılmış, bu çalışmalarda ağırlıklı olarak hücrel hasardan sorumlu tutulan aktif nötrofil ve nötrofil ürünlerini baskılayan kimyasallar kullanılmış, reperfüzyon hasarına karşı antifibrinolitik ajan çalışmaları birkaç araştırma ile sınırlı kalmıştır (8,9).

Çalışmalar sonucunda iskeminin hedef organ etkileri, reperfüzyon sonrası hedef organ ve uzak organ değişiklikleri ile reperfüzyona bağlı oluşan bu değişikliklerin nasıl oluştuğu konusunda verilere ulaşılmış ancak reperfüzyon patolojisi henüz tam aydınlatılamamıştır (1-16). Yapılmış olan bu deneysel çalışmalarda reperfüzyon patogenezi ile ilgili olarak ulaşılan ortak sonuç; reperfüze edilen iskemik dokularda ve bu dokuların dışında en sık akciğerler olmak üzere uzak organlarda aktiveleşen nötrofillerden kaynaklanan ürünlerle hücre hasarı ve hücre ölümü olduğu, nötrofil aktivitesinin baskılanmasının bu hasarı önleyeceği ve patogenezin aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğudur.

Bu çalışmadaki amacımız, kardiovasküler cerrahide hiperfibrinolitik aşırı kanamalarda kullanılan antifibrinolitik bir ajan olan traneksamik asidin (TA) ratlarda aortik iskemi-reperfüzyon modeli kullanılarak oluşturulan uzak organ hasarı üzerine etkisi ve bu etkinin lökosit proteinazları inhibisyonuyla mı yoksa antifibrinolitik etkiyle mi ilişkili olduğunu ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI (İR)

Klinikte özellikle abdominal aortanın ve alt ekstremitte arterlerinin cerrahi girişimler sırasında vasküler klemplerle klemlenmesi daha distalde iskemiye neden olmakta, cerrahi işlemin devamında klempin açılarak distal kan akımının tekrar sağlanması lokal ve uzak organlarda reperfüzyon hasarıyla sonuçlanmaktadır (4,5,6).

Ayrıca periferik arteriyel revaskülarizasyon işlemleri, serobrovasküler olaylar, miyokard enfarktüsü, mezenter ve periferik arter embolilerinde uygulanan trombolitik tedaviler, organ transplantasyonu, sepsis, şok, yanık, pankreatit gibi cerrahi ve travmatik durumlarda ortaya çıkan iskemi ve hipovoleminin düzeltilmesi ile ortopedik cerrahi girişimlerde kullanılan turnikeler diğer reperfüzyon hasarı sebepleridir (16).

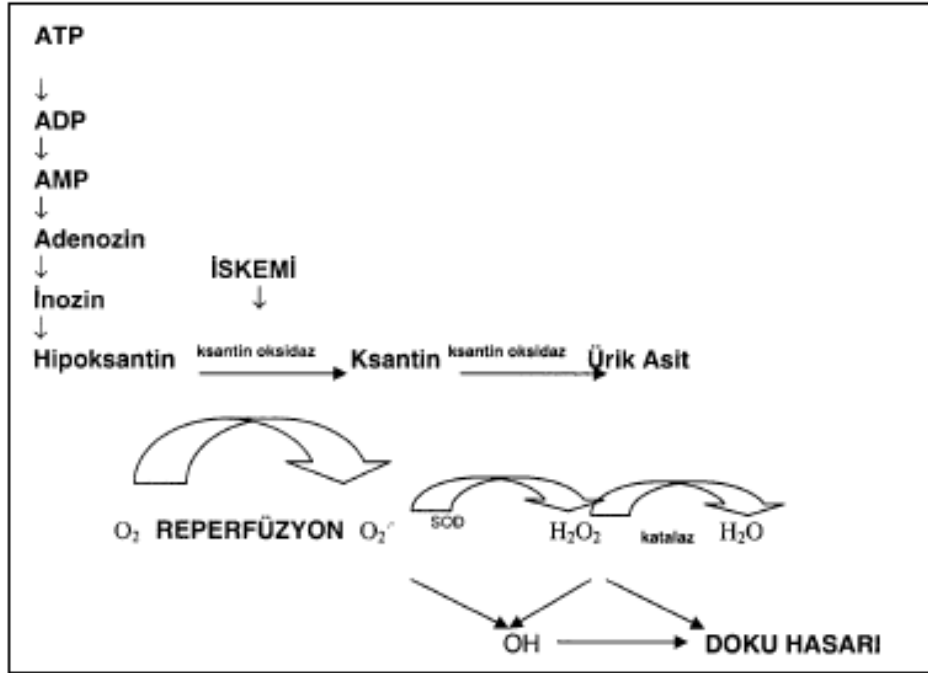
1973 yılında Hearse ve arkadaşları tarafından ilk reperfüzyon çalışması yapılmış, iskemik rat kalplerinde oksijene bağlı enzim salınımının önemi belirtilmiştir. İskemik dokuya oksijen sunumu ile oluşan bu hasara ‘’oksijen paradoksu ‘’ adı verilmiştir.

Reperfüzyon hasarı iskemi sonrası kanlanmanın tekrar sağlanmasıyla başlamakta klinik uygulamalarda iskemi süresine bağlı olarak hedef ve uzak organlarda asemptomatik 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 (18).

2.1.1. 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 (17 ,19).

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.



Şekil 1: Dokuda IR'nin oluşumu

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^{\cdot}) oluşturur .

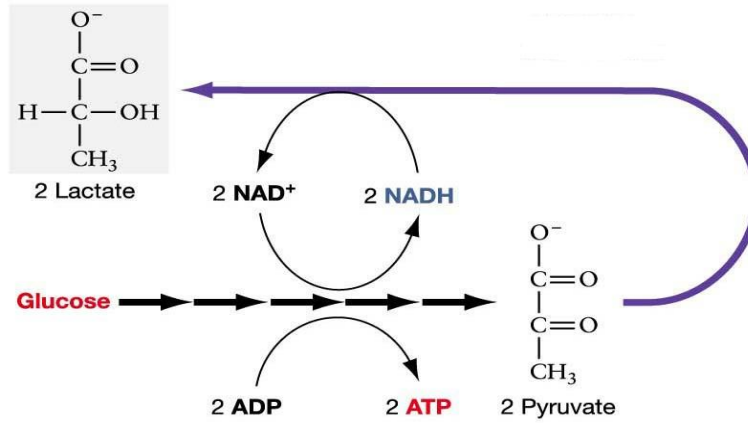
İskemi; anaerobik solunum olan glikoliz için gerekli maddelerin ve oluşan metabolitlerin taşınamamasına ve glikolizin de inhibe olmasına sebep olur. Anaerobik enerji üretimi de durur. Hipoksida ise glikolitik enerji üretimi devam edebilmektedir. Bu nedenle iskemi hipoksiden daha hızlı olarak dokulara 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 (17).

2.1.2. 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^{+2} 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 endoplazmik 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.



Şekil 2: Anaerobik Glikoliz sonucunda laktik asit ve inorganik fosfat birikimiyle pH düşer.

2.1.3. İrreversibl iskemik hasar:

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

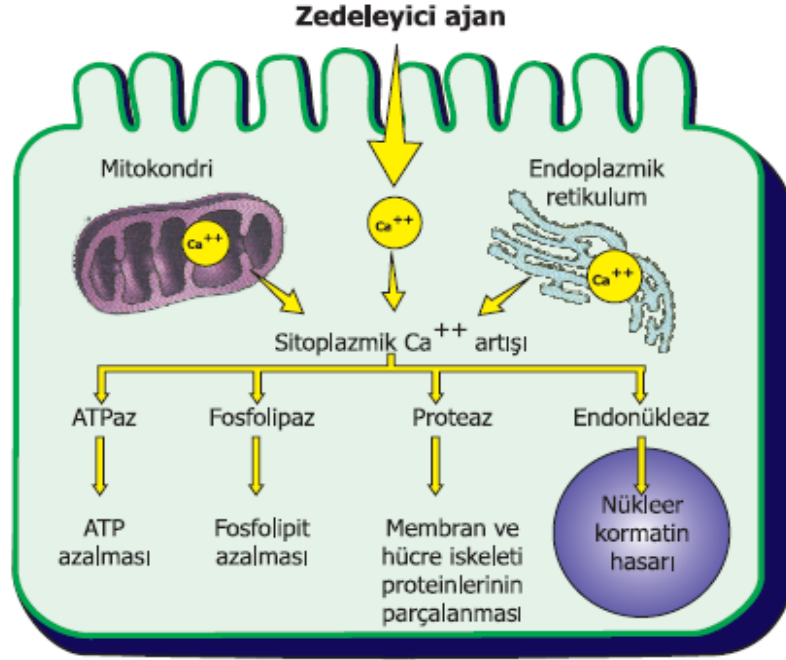
a) Mitokondrial fonksiyon bozukluğu: Mitokondrial permeabilite değişimi oluşur.

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 önemli rol oynarlar. İskemi fazında membran fosfolipitlerinin sentezi azalır. Ayrıca bu fazda hücre içinde artan Ca^{+2} etkisiyle aktifleşen fosfolipaz enzimi membrandaki fosfolipitlerin yıkımına neden olur.

Fosfolipitler iskemi sonrası reperfüzyon fazında oluşan serbest radikallerin primer hedefidir. Fosfolipitler serbest radikallerin 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 gradient ve membranın salgılama fonksiyonları bozulur.

c) **Hücre iskeletinde anomaliler:** Hücre iskeleti filamanları plazma membranını hücre içine bağlayan bağlar olarak görev yapar. Sitozolik Ca^{+2} artışı ile proteazların aktivasyonu hücre iskeletinin elemanlarında hasara neden olabilir.

Sitoplazmik serbest Ca^{+2} normalde ATP bağımlı Ca^{+2} taşıyıcıları ile oldukça düşük yoğunluklarda tutulur. Ancak hipoksiye bağlı olarak hücre dışından hücre içine Ca^{+2} geçişi artar. Aynı zamanda hücre içi organellerden de sitoplazmaya Ca^{+2} serbestleştirilir. Bunların sonucunda hücre içi serbest Ca^{+2} artar. Artan Ca^{+2} hücre içi proteaz, fosfolipaz, nükleaz ve ATPaz gibi enzimleri aktifler. Bunun sonucunda ATP daha da azalır, nükleus hasar görür, hücre membranındaki protein ve fosfolipidlerin yıkılmasına bağlı olarak membran parçalanır.



Şekil 3- Hücre zedelenmesinde hücre içi kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları

d) **Reaktif oksijen ürünleri:** Serbest oksijen radikalleri hücrede zedelenmeye neden olan aşırı toksik moleküllerdir.

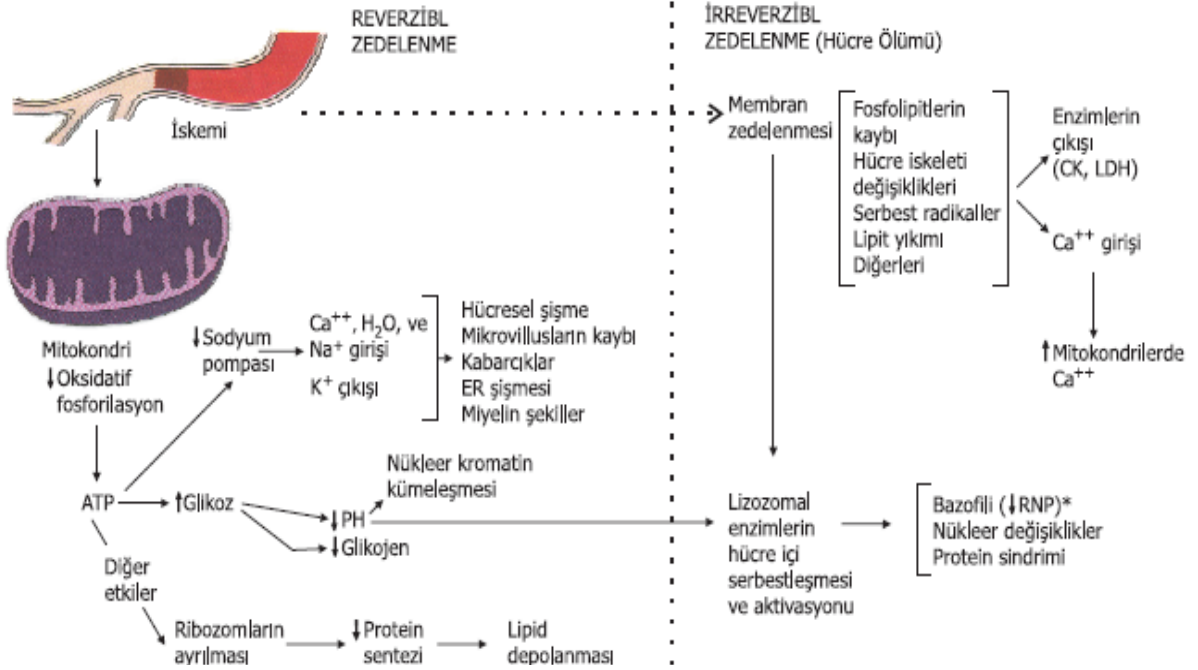
e) **Lipit yıkım ürünleri:** Membranlarda permeabilitede değişiklikler veya elektrofizyolojik değişikliklere neden olurlar.

f) Hücre içi aminoasitlerin kaybı: Hipokside hücreleri irreversibl hasardan koruyan bazı aminoasitlerin (glisin) kaybı görülür. Bu kayıplar membran hasarına predispozisyon oluşturur (17).

İskemi sonucunda hücre yıkımına bağlı olarak hücre sitoplazmasında Alanin Aminotransferaz (ALT) açığa çıkar. ALT'nin yarılanma ömrü yaklaşık 48 saattir. En çok karaciğer ve böbrek hücresinde bulunur. Kalp ve iskelet kasında daha 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. Bir çok dokuda bulunduğu için nonspesifik bir enzimdir. Bir çok hastalıkta serum seviyesinde artış gözlenebilir. Beş farklı izoenzimi (LDH1-LDH5) vardır. Kalp, karaciğer, iskelet kası, böbrek ve eritrositler en yüksek miktarda bulunduğu dokulardır (20).

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, egzersiz ve iskemi yanında siroz, ileri evre kanser, akut enfeksiyon gibi serbest radikal oluşumu ile giden klinik durumlarda da artabilir (21).

Özet olarak hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler ve vital ATP sentezi azalır. Membran hasarı öldürücü hasar için kritiktir. Hücre ölümüne yol açan biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerde Ca^{+2} önemli bir mediatördür.



Şekil 4. Hipoksi sonucu gelişen hücre hasarı

2.1.4. İskemi-reperfüzyon hasarı (IR):

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

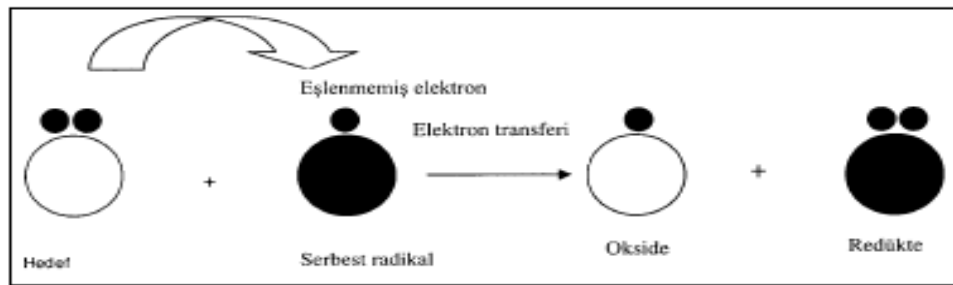
IR'nin mekanizması bugün tam olarak anlaşılamamış olsa da kabul gören fizyopatoloji; iskemi süresi boyunca anaerobik kalan dokunun tekrar kanlandırılması ile oksijenden zengin arteriyel kana maruz kalan dokuda ağırlıklı olarak aktifleşen nötrofillerden salınan serbest oksijen radikalleri oluşumudur. Oluşan bu serbest oksijen radikalleri iskemiye maruz kalarak dış etkilere 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 hücrelerin membranında lipit peroksidasyonuna, sonrasında membran parçalanması ve hücre ölümüne yol açar. Hücre ölümüyle ortaya çıkan hücresel artık maddelere karşı da nötrofiller tarafından duyarlılık gelişir.

Revaskularizasyonun getirmiş olduğu kan akımıyla (reflow) beraber oluşan artık maddeler iskemik alandan adeta yıkanarak (wash out fenomeni) uzaklaştırılır. Uzaklaştırılan yıkım ürünleri venöz ve pulmoner arter kan akımları ile beraber ağırlıklı olarak akciğerler 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 enflamatuvar yanıt gelişir. Oluşan bu yanıt sonucunda multisistemik multiorgan hasarının olduğu doku zedelenmesi gelişir (4,5).

IR'nin mekanizması ile ilgili en önemli etkenler; serbest oksijen radikalleri, kompleman sistemi, endotel aktivasyonu ve lökositlerdir.

2.1.4.1. 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 oluşturmaktadırlar. 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 (22).



Şekil 5: Serbest radikal reaksiyonunun şematik gösterimi.

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 metabolitlerini oluştururlar (23).

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 (24).

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

Oksijen radikallerinin en önemi özelliği hücre membranındaki lipid peroksidasyonunu başlatıp konjuge dienler , lipit peroksit ve lipid hidroperoksidler gibi lipid türevi radikaller oluşturmalarıdır. Serbest oksijen radikallerinin diğer bir hasar yapma mekanizması ise aminoasit yan zincirlerinin 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.

2.1.4.1.1. Serbest radikal reaksiyonları:

Genel olarak serbest radikal reaksiyonları üç gruba ayırabiliriz.

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 .

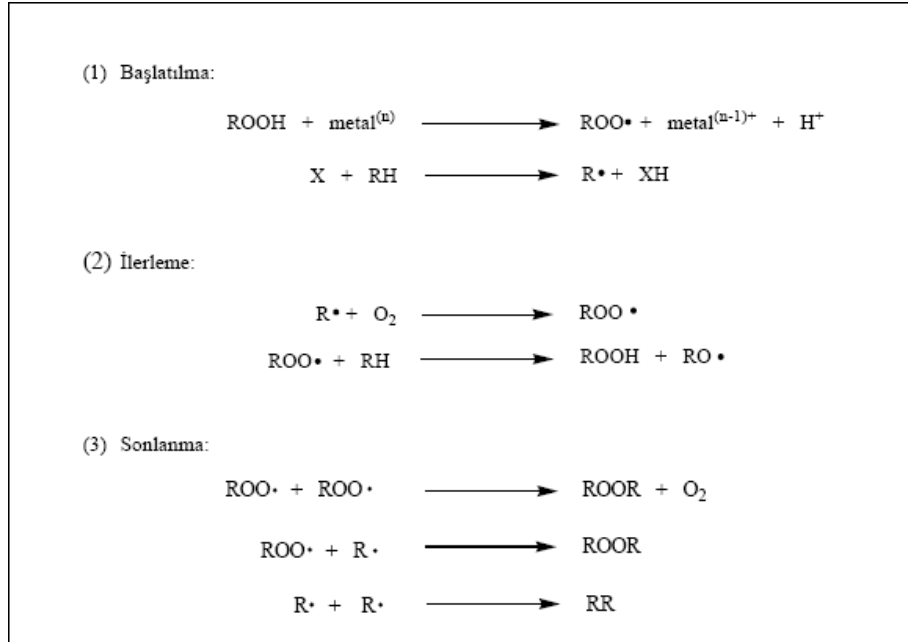
b) Radikal-radikal reaksiyonu: İki radikal molekül yörüngelerindeki serbest elektronları kovalen bağ kurarak ortaklaşa kullanabilirler. Bu durum yeni bir radikal oluşumuna neden olmasa bile mevcut toksisitenin artmasına neden olur.

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

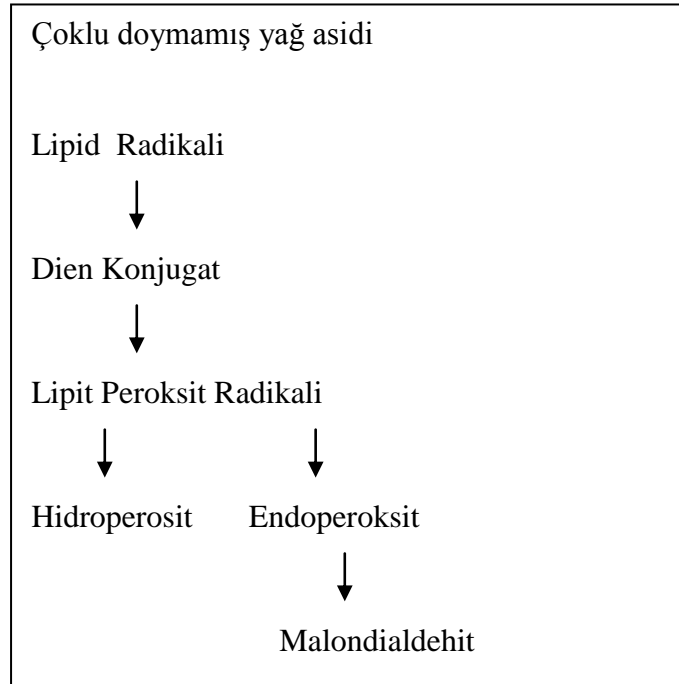
yağasitlerinin en önemlisidir. Miktarca çoğunluğu oluşturur. Membran bütünlüğü, membran akışkanlığı ve iyon transportunda görev alır. Lipit peroksidasyonu hücre membran lipitlerinin oksidatif hasarı onucu oluşur. Bunun sonucunda yağasitleri parçalanır. Membran bütünlüğü ve selektif geçirgenliği bozulur. Bu durum hücre içine su girişine ve hücrede şişmeye neden olur (22). Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlayan bir süreçtir (25). Başlayan reaksiyon zincirleme şekilde devam eder. Peroksidasyonu artıracak şekilde serbest radikal üretimine neden olur. Reaksiyon sonucunda geri dönüşümsüz hücre membranı hasarı oluşur (26).

Lipit peroksidasyonuna maruz kalan membranın 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 hidroperoksit radikallerine dönüşür. Oluşan hidroperoksit radikalleri oldukça stabil yapılardır (22).

Lipit peroksidasyonu oluşan lipit hidroperoksitlerinin aldehit, karbonil bileşikleri, etan ve pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile sonlanır. Oluşan aldehitler oksidatif hasarı artırır (27). Oksidatif hasara bağlı lipit peroksidasyonunun değerlendirilmesi amacıyla oluşan son ürünlerden MDA plazmada ölçülebilir (25,27). MDA lipit peroksidasyonunun başlıca ürünüdür. Uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi nedeniyle hücre içi ve dışındaki birçok biyomoleküle etki ederek irreversibl hasar oluşturur (28). Bunun yanısıra membran akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve Ca^{+2} iyonlarının membrandan geçişinin artmasına neden olur (25). Yapılan çalışmalarda dokularda artan MDA seviyesinin koroner arter hastalığına, akciğer kanserine, DNA mutasyonlarına ve enflamasyona neden olduğu görülmüştür (29).



Şekil 6: Lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonları (26)

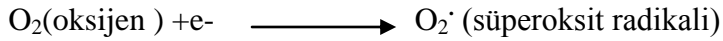


Şekil 6: Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu (26)

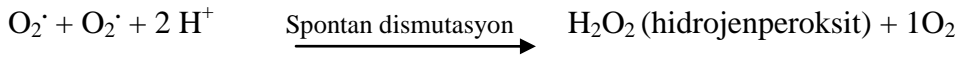
2.1.4.1.1. Başlıca serbest oksijen radikalleri (SOR):

a) Oksijen (O₂): İki atomu ve dış yörüngesinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektronu olan zayıf bir oksijen radikalidir. Suya redüksiyonu sırasında güçlü ara ürünler oluşabilir.

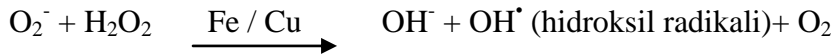
b) Süperoksit (O₂[•]): Moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle oluşur. Çok güçlü bir radikal olmamasına rağmen toksisitesi oluşan miktarının fazlalığına bağlıdır. Reperfüzyon hasarından sorumludur (22).



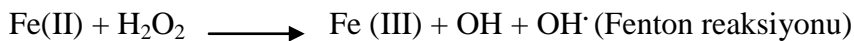
c) Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Süperoksit radikaline bir elektron eklenmesiyle oluşur. Kendisi serbest radikal olmayıp hidroksil radikaline dönüşerek toksik etki gösteren güçlü bir oksidandır. Oldukça mobil olup membranlardan kolayca geçer. Endotel üzerine toksik etkilidir.



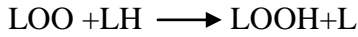
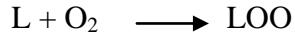
Yapısındaki zayıf oksijen bağlarının redükte haldeki demir (FeII) den gelen elektronun katalizlediği reaksiyonla kopmasıyla hidroksil radikali ve hidroksil iyonuna dönüşür. Birçok serbest radikal reaksiyonuna katılan demir güçlü bir pro-oksidan olarak kabul edilir.



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 (22).



e) **Lipid peroksil radikali (LOO):** Reaktif radikaller membran lipitlerinden bir hidrojen uzaklaştırarak lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Oluşan lipit radikal (L) oksijenle reaksiyona girerek LOO radikalini oluşturur (30).

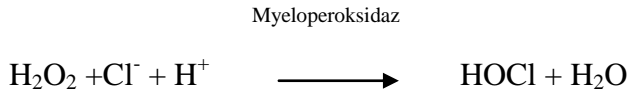


Oluşan LOO radikali de başka bir lipitten (LH) hidrojen atomunu uzaklaştırır ve lipit hidroperoksit (LOOH) ile başka bir L radikalini oluşturur. Bu zincirleme reaksiyonu nitrik oksidin (NO) LOO radikali ile etkileşerek önlediği gösterilmiştir (31).



f) **Nitrik Oksit (NO) ve Peroksinitrit (ONOO):** Nitrik oksit vücutta nörotransmitter, vasodilatör ve bakterisit etkileri olan bir moleküldür. O_2^{\cdot} varlığında toksik özellik kazanır (30,32). NO ile O_2^{\cdot} 'in reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten 2000 kat güçlü oksidan etkili ONOO oluşur. ONOO direkt etkisinin yanı sıra OH^{\cdot} ve nitrojen dioksite de dönüşebilir (33).

g) **Hipokloröz Asit (HOCl):** Nötrofillerdeki myeloperoksidaz enziminin etkisiyle H_2O_2 klorlanarak HOCl oluşur(22). Hipoklorit (hipokloröz asit) güçlü bakterisit etkisinden dolayı evlerde kullanılan temizlik maddelerinin içinde de yer alır (34).



h) **Singlet oksijen (1O_2):** Kuvvetli oksidan özellikleri olan bir serbest radikaldir. Membran lipitlerine etki ederek peroksitleri oluşturur (35).

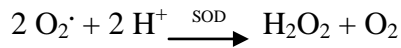
2.1.4.1.2. Antioksidan savunma sistemleri

Organizmada oksidan radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu olarak hücre içi enzimatik savunma sistemleri mevcuttur. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır (22). Antioksidan maddeler doğal ve farmakolojik olmak üzere ikiye ayrılır. Bunlar da fonksiyonel olarak enzim antioksidanlar, önleyici antioksidanlar, süpürücü yada zincir kıran antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar.

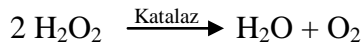
2.1.4.1.2.1. Enzim Antioksidanlar:

a) Doğal enzim antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutasyon peroksidaz hücre içinde mitokondri ve sitozolde bulunan doğal antioksidan enzim sistemleridir

Süperoksit dismutaz: O_2^\bullet radikalinin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizler. OH^\bullet radikali oluşturmak için ortamda H_2O_2 ile reaksiyona girecek olan O_2^\bullet radikalini ortadan kaldırır.



Katalaz: Metalloprotein yapısındadır. Hidrojen peroksitten su ve oksijen oluşumunu katalize eder (22).



Glutasyon peroksidaz: Sitozol ve mitokondri de SOD tarafından oluşturulan H_2O_2 'yi ortadan kaldıran başlıca enzimdir (31). Yapısında eser element olan selenyum bulunur.



b) Farmakolojik enzim antioksidanlar: Rekombinant sentezle oluşturulan SOD, konjuge katalaz ve bir sentetik GSH peroksidaz olan ebselen sayılabilir.

2.1.4.1.2.2. Önleyici Antioksidanlar:

a)Doğal önleyici antioksidanlar: Çoğunluğu hücre dışındadır. Yörüngelerinde eşlenmemiş elektronu bulunan ve serbest radikallerle reaksiyona girebilen demir ve bakır iyonlarını bağlayan laktoferrin, seruloplazmin ve albümin bu grupta yer alır.

b)Farmakolojik önleyici antioksidanlar: Bir demir şelatörü olan ve aşırı demir iyonunun indüklediği hidroksil radikali üzerinden gerçekleşen membran lipit peroksidasyonunu önleyen desferrioksamin bu grupta yer alır.

2.1.4.1.2.3. Süpürücü (Zincir Kıran) Antioksidanlar:

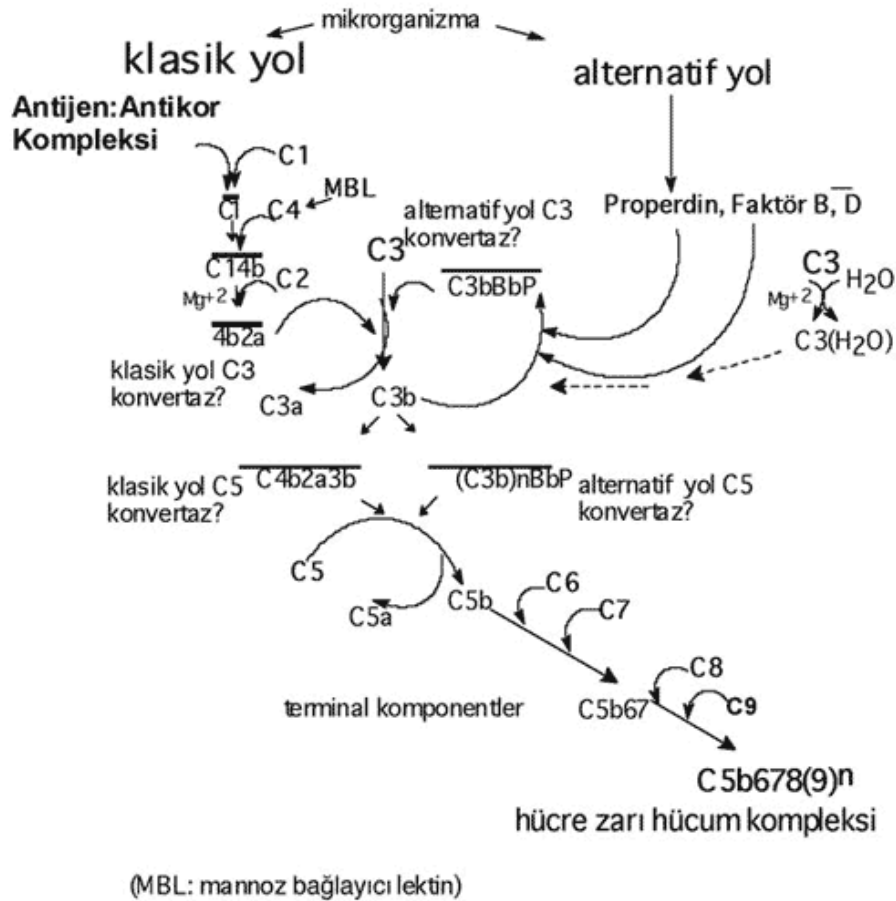
a) Doğal süpürücü (zincir kıran) antioksidanlar: Hem hücre içi hem de hücre dışında lokalize olmuşlardır. Askorbik asit, ürik asit, bilirubin, tiyoller, tokoferol, beta karoten, ubikinol, flavonoidler ve östrojenler bu grupta yer alır .

b) Farmakolojik süpürücü (zincir kıran) antioksidanlar: Demir iyonlarına bağlı lipit peroksidasyonunu önleyen salisilatlar, hidroksil radikali süpürücüleri olan mannitol, dimetil sülfoksit ve dimetiltiyöüre, reperfüzyon sırasında süperoksit radikali oluşturan ksantin oksidaz enzimini inhibe eden allopürinol ve oksipürinol bu grupta yer alır (22).

2.1.4.1.2.4. 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 ativasyonu 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, anafilaksi, vasodilatasyon ve vasküler permeabilite artışı (C3a,C4a,C5a) gerçekleşir (36).



Şekil 7: Kompleman Sistemi

IR kompleman sisteminin aktive olmasına neden olup bir yandan proinflamatuvar sitokinlerin salınması ile lokositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- α , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyarak inflamatuvar cevabı uyarır.

Miyokard iskemisini ve reperfüzyonunu 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 (37,38).

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

Ayrıca bazı kompleman faktörlerinin kagülasyon sistemi ve enflamatuar yanıtla ilişkili olduğu gösterilmiştir. C1s ve C2b komponentlerinin enzimatik aktivitesi koagülasyon sistemi, fibrinolitik sistem, kinin-kallikrein sistemi ve trombositleri aktive etmektedir. C5b6, C7, C8 ve C9'un karıştırılıp saflaştırılması ile elde edilen inaktif terminal kompleksin (iTCC) etkisine maruz kalmış endotel hücrelerinin proinflamatuar ve prokoagülan etki [doku faktörünün (TF) artışı ve FXa formasyonu] yarattığı gözlenmiştir (39). C5a tarafından endotel hücrelerinde TF indüklenmesi, inflamasyon ile koagülasyon arasındaki muhtemel ilişkiye örnek gösterilebilir (40).

2.1.4.1.2.5. 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 (41).

Normal endotel trombosit agregasyonunu ve koagülasyon aktivasyonunu inhibe eder. Fibrinolitik özellik gösterir. Bu sayede pıhtılaşmayı önleyici bir yüzey oluşturur. Buna karşın enflamasyon ve endotel hasarı oluşturan durumlarda prokoagülan davranır (42).

Antitrombosit etkisi ; endotel hücrelerinin ürettiği araşidonik asit metabolizma ürünü olan prostasiklin (PGI₂), NO ve yüzeylerinde eksprese ettikleri CD39'a bağlıdır. Bunlara bağlı

olarak trombosit adezyon, aktivasyon , agregasyonu ve lökositlerin endotele yapışması önlenir. Damar düz kasında gevşeme olur (43,44).

Antikoagülan etki ; bu 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 (43).

Vasküler tonusun düzenlenmesi de sağlıklı bir endotelin fonksiyonudur. Bu fonksiyon 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. Bu 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.

Pinsky ve arkadaşları, hipoksik endotel hasarı sonucu endotel hücrelerinin Wiebel-Palade cisimleri adı verilen sitoplazmik depolarını ortama bıraktığını gösterdiler (44). Wiebel-Palade cisimlerinde yer alan von Willebraund faktör (vWF) trombosit, nötrofil agregasyonuna ve mikrotromboz oluşumuna neden olmaktadır (45,46).

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

2.1.4.1.2.6. Lökositler:

IR'de en önemli katkıyı sağlayan hücrelerdir. Hem lokal hasardan hemde uzak organ hasarından sorumludurlar. Oluşturdukları hasar serbest oksijen radikalleri, sitokinler (IL-1,IL-6, TNF-Alfa) ve sitotoksik enzim salınımına bağlıdır. Sonuçta endotel hasarı ve kapiller tıkaçlar, kapiller geçirgenlikte artma, doku ödemi ve dokuda nekroz görülür (5,10).

Lökositlerin enotel 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 (47).

Tüm bu patolojik ve fizyolojik süreçlerde lökositlerin yapılarında bulunan granüller lökosit fonksiyonları için önemlidir. Lökositler iki tip granül içerirler. Bunlardan azurofilik granüller; asit hidrolazlar, myeloeroksidaz (MPO), elastaz, katepsin G, proteinaz 3 (PR3), defensinler ve alfa-1 antitripsin içerir. Spesifik granüllerde ise laktoferrin ve lizozim bulunur(48).

Azurofilik granüllerde bulunan MPO enzimi fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. MPO çeşitli bileşikleri (elektron yada 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 da hücre ölümüne yol açarlar (49).

Lökosit fonksiyonunun inhibisyonu yoluyla yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda reperfüzyon hasarının azaldığı gösterilmiştir. Lökosit metabolizmasını inhibe eden ATP-MgCl₂, iloprost ve adenosin gibi ilaçların IR'yi önlediği gösterilmiştir (50,51,52). Lökosit düzeyleri düşürülmüş, oksijenlenmiş kanla yapılan reperfüzyonun hasarı belirgin olarak azalttığı tespit edilmiştir (53,54). Nötropenik hale getirilmiş sıçanlarda reperfüzyon sonrası bozulan çizgili kas dinlenme potansiyeli ve kontraktıl fonksiyonu tamir olmuştur (55,56).

2.1.4.2. IR ‘nin klinik bulguları:

Aort cerrahisi ve özellikle alt ekstremite aterlerinin cerrahi işlemleri sırasında geçici süre ile uygulanan vasküler klemlere bağlı olarak alt ekstremitelerde IR ortaya çıkmaktadır. IR’de klinik bulgular iki kategoride incelenir. Bunlar lokal ve sistemik uzak organ bulgularıdır.

2.1.4.2.1. Lokal organ bulguları:

İskeminin lokalize olduğu doku alanında önce iskemik hasara bağlı bulgular gelişir. Bunlar dayanılmaz ağrı, ciddi iskemi, ekstremitede rijidite, rigor mortis ve ödemdir. Kas yıkımına bağlı olarak değişik derecelerde metabolik asidoz, oligüri, myoglobüri 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. Miyoglobüri ile birlikte oligüri ve anüri gözlenir. Renal shutdown gelişerek akut renal yetmezliğe gidiş gözlenir (57).

2.1.4.2.2. 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-alfa 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 bağlı olarak uzak organ kapiller endotellerinde başlayan ve endotel altı dokulara yayılan yıkım görülür. Sitokinlerin etkisiyle aktifleşen trombositlere bağlı olarak hasar gören kapiller endoteli 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 permeabiliteyi artırarak enflamasyonun yayılmasına ve doku ödemeine neden olur. Tüm bunların sonucunda organ fonksiyonları bozularak klinik bulgular gözlenir (58,59,60,61,62).

2.1.4.2.2.1. Akciğer hasarı:

Alt ekstremitte iskemisi sonrası uzak organ reperfüzyon hasarında akciğerler hedef organ konumundadır (63). Bu durum önemli derecede postoperatif mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Başlangıçta oluşan akut akciğer hasarının klinik bulguları olarak; hipoksemi, pulmoner hipertansiyon, azalmış akciğer kompliansı ve nonhidrostatik pulmoner ödem görülür. Oluşan hasar çoğunlukla subklinik seyrederek ve hastaların büyük bir kısmında geri dönüşümlüdür. Ancak enflamasyon 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 (62).

Akut alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonu sonucunda ortaya çıkan akciğer IR'nin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Plazmada ve dokuda artmış serbest oksijen radikalleri, sitokinler (IL-6, IL-8, TNF-alfa), 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 hasarı ve buna bağlı gelişen artmış pulmoner kapiller permeabiliteye sebep olmaktadır (61). Yaptıkları bir çalışmada Zimon ve arkadaşları, akut alt ekstremitte iskemisi gelişen ve cerrahi tedavi uygulanan 70 hastada erken postoperatif dönemde %64 oranında pulmoner komplikasyon bildirmişler. Bu komplikasyon oranı preoperatif iskemi süresi ile korelasyon göstermiş (6).

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 (64). Raijmakers ve arkadaşları aort cerrahisi sonrası hem akciğerlerde hem de deride mikrovasküler permeabilitede artış göstermişlerdir. Raijmakers ve arkadaşları vücutta IL-8 seviyelerinin arttığını ve bu artışın da akciğerdeki permeabilite değişikliklerinde önemli rol oynadığını göstermişlerdir (65).

2.1.4.2.2.1.1. Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS):

ARDS oksijen tedavisine cevap vermeyen, her iki akciğeri de içine alabilen nonkardiyojenik yaygın infiltrasyonla karakterize akut akciğer hasarının en ağır şeklidir. Bugüne kadar ‘ok akciğeri’, ‘transfüzyon akciğeri’ ‘reperfüzyon akciğeri’ ve ‘erişkin respiratuar distres sendromu’ şeklinde adlandırılmıştır.

Etyolojide pulmoner ve ekstrapulmoner sebepler rol alır. Pulmoner sebepler arasında aspirasyon pnömonisi, enfeksiyöz pnömoni, septik emboli ve 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.

1992’de yapılan Amerikan-Avrupa ARDS konsensus konferansında ‘Akut Respiratuar Distress Sendrom’ 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)

Tablo 1. ALI ve ARDS’nin A m e r i k a n-Avrupa A R D S konsensusuna göre tanımı

Solunum sıkıntısının akut 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 veya

PCWP < 18 mmHg (PEEP’den bağımsız)

ALI = akut akciğer zedelenmesi; ARDS = akut solunum sıkıntısı sendromu;

PCWP= pulmoner kapiller basınç; PEEP= pozitif ekspiryum sonu basınç

ARDS ister pulmoner olsun, ister ekstrapulmoner olsun, akciğerde oluşan değişiklikler hemen her zaman aynıdır. ARDS başladıktan sonraki ilk 24saat içinde gelişen eksudatif fazı, daha sonraki 7-10. günlerde fibroproliferatif faz takip eder (66).

Eksudatif faz klinik olarak 24-72. saatlerde tespit edilebilir. Pulmoner vasküler basıncın normal oluşuna rağmen alveolo-kapiller membrandaki bütünlüğün bozulmasına bağlı olarak artan geçirgenlik proteinden zengin sıvının, hücrelerin, koagülasyon faktörlerinin ve 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 , solunum işi ve yükü artar.

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 (67). İlerleyen günlerde akciğerlerde 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 (66).

Proliferatif faz olarak isimlendirilen fazda anormal kollajen ile doku istilası söz konusudur. Buna bağlı olarak interstisyel fibrosis gelişir. Ödemin yerini fibrozisin alması akciğer mekaniğinin bozulmasına ve brankospazma neden olur. Ölü boşluk artar (> %70-80), dakika ventilasyonu artar (> 15 L/dak) ve pulmoner hipertansiyon gelişir (66).

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 (65). Ekstrakorporeal yaşam tedavisi ise ARDS tedavisinde kullanılan seçenekler arasında olan ve akciğeri istirahate alarak toparlanma süresince oksijen alımının mebran oksijenasyonu ile sağlanmasına yardımcı olan diğer bir yöntemdir (68). Ayrıca likit ventisyonu ve sıvı rejimi tedavilerinin de ARDS vakalarına faydalı etkileri bulunmuştur (69). Farmakolojik tedaviler arasında ise surfaktan, nitrik oksit ve kortikosteroidlerin etkinliği kanıtlanmış olup seçilmiş vakalarda kullanılmaktadır (66,70).

2.1.4.2.2. Böbrek hasarı:

İskemik dokuların revaskülarizasyonu sonrası gelişen uzak organ reperfüzyon hasarında böbrekler de sıklıkla etkilenir. Aortik cerrahi sırasında IR'a sekonder olarak görülen renal disfonksiyon önemli morbidite ve mortaliteye neden olur. Postoperatif dönemde ortaya çıkan akut renal yetmezliğin neden olduğu kötü klinik prognoza, sepsis ve multipl organ yetmezliği gibi hayatı tehdit eden bir çok komplikasyon iştirak eder (71). Ayrıca sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, kardiak arrest ve renovasküler cerrahi durumlarında da böbreklerde reperfüzyon hasarı oluşabilir.

Renal hasar iskemi süresine bağlı olarak değişir. Belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tubuler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik bulgular görülebilir. İskemi ve sonrasında reperfüzyonun sebep olduğu renal yetmezlikte temel olay çok sayıda hücrenin kaybı veya ölümüne bağlı tübüler fonksiyon bozukluğudur. Renal IR renal kan akımında azalma, azalmış glomerüler filtrasyon, artmış natriürezis ve bozulmuş konsantrasyon yeteneği ile karakterizedir. Artmış vasküler tonus ile otoregülasyon kapasitesi bozular. Rekürren iskemilere daha duyarlı hale gelir. İskemiye uğramış böbrekte reperfüzyon sonrası rejenerasyona yönelik olarak epidermal büyüme faktörleri artar. Ancak aynı dönemde açığa çıkan radikal artışı daha baskın olduğundan bu rejenerasyon geri planda kalır (72).

Renal hasardan sorumlu temel patoloji; iskemik dokuların revaskülarizasyonu ile başlayan reperfüzyon sürecinde ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtla aktifleşen nötrofillerden ve renal vasküler yataktaki endotel hücrelerinden serbest oksijen radikalleri, sitokinler ve sitotoksik ürünlerin oluşması ve doku hasarı yapmasıdır (73).

Literatürde renal IR'nı azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyici ajanlar kullanılmıştır. Allopürinol, glutatyon, süperoksit dismutaz, alfatokoferol, deferoksamin ve trimetazidin bunlar arasında sayılabilir (72,74).

2.1.4.2.3. Karaciğer hasarı:

Karaciğer transplantasyonunu takiben gelişen karaciğer disfonksiyonu, patofizyolojik olarak IR'nın benzeridir. İskemi sonrası reperfüzyon döneminde diğer organ hücrelerinde olduğu gibi,

hepatositlerde de serbest oksijen radikalleri oluşur. Kupffer hücreleri aktivasyonu gözlenir. Sinuzoid lümenlerinde masif olarak serbest oksijen radikalleri yapımı olur. Endotelyal hücre harabiyeti, PMNL akümülyasyonu ve takibinde de kapiller tıkanıklık gözlenir. Karaciğer fonksiyon testlerinde bozulmalar gözlenir (75).

2.1.4.2.2.4. Kardiak hasar:

Revaskularizasyon sonrası reperfüzyonda oluşan sistemik inflamatuvar yanıtta kardiak hasar oluşabilir. Bu hasar klinikte; reperfüzyon aritmileri, mikrovasküler hasar, myokardial stunning ve hücre ölümü (enfarktüs) şeklinde karşımıza çıkar (76). Kardiak hasar patogenezinde iki faktör öne çıkmaktadır. Birincisi reperfüzyonda kalp endotel hücrelerinde serbest radikallerin ortaya çıkması, ikincisi ise bu fazda myokardial hücre içi Ca^{+2} artışıdır.

2.2. KOAGÜLASYON SİSTEMİ, FİBRİNOLİTİK VE ANTİFİBRİNOLİTİK YOL

2.2.1. Hemostaz:

Hemostaz, kanın dolaşımında sıvı halde kalmasını sağlayan fizyolojik mekanizmadır. Bu mekanizma kanın sıvı halde kalmasını sağladığı gibi, kan damarlarında herhangi bir travma sonucu oluşan kanamayı da durdurur. Daha sonra aynı damarın fonksiyonunu devam ettirmesi için damarın pıhtıdan temizlenerek açılması ise hemostaz ve fibrinolitik aktivitelerin bir denge içinde çalışması ile gerçekleşmektedir. Hemostaz mekanizmasının önemli öğeleri damar yapıları, trombositler, koagülasyon sistemi ve fibrinolitik sistemdir.

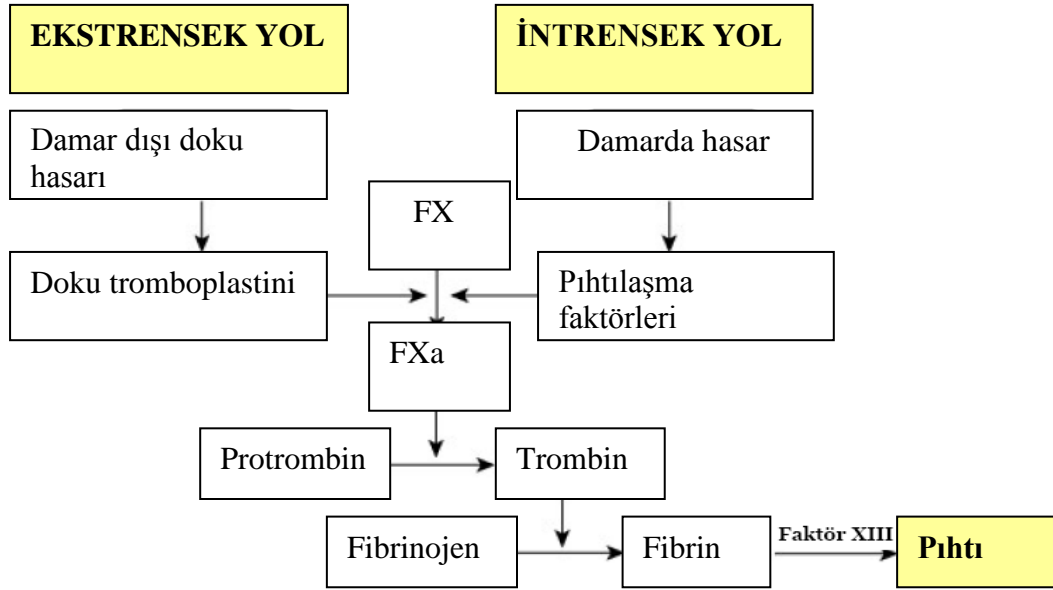
Travmadan sonraki 1-2 saniye içinde zedelene damarda oluşan refleks vazokonstriksiyon kan akımının yavaşlamasına neden olur. Dolaşımdaki trombositler zedelene bölgede von Willebraund Faktör (vWF) ile endotelyal kollajene yapışarak adezyon ve aktivasyonu gerçekleştirirler. Aktive olan trombositler granüllerini boşaltır, böylece yeni trombositler hasarlı bölgeye çekilerek onların da aktive olması sağlanır. Adezyon olayını diğer trombositlerin yapışarak agregasyonu takip eder. Zedelene bölgede trombositlerin adezyonu ve agregasyonu sonucunda trombosit tıkaçı oluşur. Bu olaya primer hemostaz denilmektedir. Sekonder hemostaz ise koagülasyon faktörlerinin görev aldığı bir mekanizmadır. Faaliyete geçtiğinde fibrinojen fibrine dönüşür ve fibrin polimerize olarak sekonder tıkaçı oluşturur (77).

2.2.2. Koagülasyon Kaskadı:

Kan pıhtılaşması, trombin enziminin oluşması ve bu enzimin solübl halde bulunan fibrinojeni parçalayarak katı haldeki fibrin pıhtısına çevirmesi şeklinde özetlenebilir. Normal koşullarda dolaşan kanda trombin yoktur. Kanda proenzim şeklinde Protrombin bulunur. Protrombinin trombine çevrilebilmesi için öncelikle Faktör X'un aktive edilmesi gerekir. Eskiden FX'un birbirlerinden bağımsız iki ayrı yolla aktive edildiği kabul edilirdi: ekstrensek ve intrinsek yollar. FXa'nın oluşmasından sonra, pıhtılaşma ortak yol' da ilerleyerek sonlanır. **Ekstrensek yol:** Damar duvarı zedelenmesi (endotel lezyonu) sonucu açığa çıkan doku faktörü (TF)' nün pıhtılaşmayı başlattığı yoldur. Pıhtılaşma testlerinden protrombin zamanı (PT) bu yolu ölçer. Bu yolda TF, FVII ve ortak yoldan FX, FV, FII (protrombin) ve FI (fibrinojen) yer alır.

İntrinsek yol: Doku faktörü işe karışmadan, negatif yüklü yabancı yüzeylerle (örn. pıhtılaşma tübünün cam yüzeyi ya da endotel altında bulunan kollajen lifleri) temas sonucu bazı faktörlerin aktivasyonu ile başlayan yoldur. Bu faktörlere (aktivasyon sırasına göre FXII, prekallikrein ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen) “temas faktörleri” adı verilir.

Bugünkü anlayışa göre koagülasyon kaskadı, hücre bütünlüğü bozulunca kanla temas eden TF'nin faktör VIIa ile kompleks oluşturmasıyla başlar. TF, faktör VII'yi hızla faktör VIIa'ya çevirir. TF/FVIIa kompleksi yaralanma bölgesinde faktör X'u faktör Xa'ya, faktör IX'u faktör IXa'ya çevirir. TF/FVIIa aracılığıyla oluşan faktör Xa trombosit membran yüzeyinde bulunan faktör Va ile protrombinaz kompleksini oluşturur ve protrombini trombine dönüştürür. Bu şekilde oluşan trombin ve onun etkisiyle fibrinojenden oluşan fibrin çok düşük düzeydedir. Trombin fibrinojen molekülünden önce fibrinopeptid A ve fibrinopeptid B parçalarını kopararak fibrin monomerlerini, daha sonra da monomerlerin bir araya gelmesi ile fibrin polimerlerini oluşturur. Arteriyel trombozda, trombin merkezi bir rol oynar. Trombin aynı zamanda faktör XIII'ü aktive ederek fibrin polimerlerinin çapraz bağlarının oluşmasını ve sağlam fibrin pıhtısının oluşmasını sağlamaktadır.



Şekil 8: Koagülasyon Yolağı

Endotel, pıhtı oluşumunun yalnızca hasarlı bölgede lokalize kalmasını sağlamakta , pıhtının büyümesini önlemekte ve kan akımının devamında önemli bir rol oynamaktadır. Bu görev sağlam endotel yüzeyine bağlı olan üç sistem tarafından gerçekleştirilmektedir: bunlar Antitrombin, protein C sistemi ve TFPI sistemleridir.

Trombin sağlam endotel yüzeyinde bulunan trombomoduline (TM) bağlanır. Trombin-TM kompleksi protein C'yi aktive eder. Aktive protein C, endotel hücre membranında protein S ile kompleks oluşturarak faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive eder. Böylelikle vasküler yapıda ilave trombin üretimi önlenmiş olur.

Antitrombin sistemi endotel yüzeyinde endojen heparan sülfatların varlığını gerektirmektedir. Antitrombin/heparin kompleksi faktör VIIa hariç tüm vitamin K bağımlı proteazları (FII, IX, X, XI) inhibe etmektedir. AT III, trombinin ve aktive olmuş diğer koagülasyon faktörlerinin en önemli fizyolojik inhibitörüdür. Karaciğerde sentezlenir. Trombin oluşumu antirombinle inhibe edilir . Oluşan bu komplekse TAT (trombin-antitrombin kompleksi) denir. TAT, trombin oluşumu için yararlı bir belirteçtir. Yüksek TAT düzeyleri hemostatik aktivasyonun göstergesi olarak kullanılmaktadır (78,79,80,81).

2.2.3. Fibrinolitik Sistem:

Fibrinolitik yol oluşmuş fibrin pıhtısının eritilmesi işlemi olup koagülasyon sisteminin regülasyonunda ve vasküler sistemin devamlılığında önemli bir rol oynamaktadır. Organizmada koagülasyonun regülasyonunda fibrinolitik yol son derece önemlidir. Koagülasyon ve fibrinolitik yol arasındaki denge bozulduğunda kanama ya da tromboza eğilimli patofizyolojik sonuçlar ortaya çıkar.

Bu sistemde inaktif olarak bulunan plazminojen, endotelden salınan doku plazminojen aktivatörü (tPA), ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) ve streptokinaz ile aktive edilerek plazmine dönüşür. Dolaşımdaki fibrinin çözünmesinde primer olarak tPA bağımlı plazminojen aktivasyonu rol oynar. Fibrinin plazminle yıkımı sunucunda fibrin yıkım ürünleri oluşmaktadır. D-Dimer; fibrinolitik etkiyle parçalanmış fibrinden oluşan spesifik bir yıkım ürünüdür (82). fibrinin oluştuğu her durumda artar. Plazma D-Dimer düzeyi protrombotik durumu gösterir. Düzeyi yükseldikçe tromboemboli riskini de beraberinde getirir. Klinik kullanımda koagülasyon aktivitesini gösteren önemli bir belirteçtir. Venöz tromboemboli, pulmoner emboli, periferik arteriyel emboli ve akut inme gibi fibrin oluşum ve yıkımını artıran her durumda D-Dimer düzeyi yükselir.

Fibrinolitik sistemin son yıllarda fibrin yıkımı yanında farklı fonksiyonları da olduğu vurgulanmaktadır. Plazmin fibrin yüzeye bağlanması yanında nötrofil, granülosit, monosit, lenfosit, trombosit ve endotel gibi çok çeşitli hücrelere de bağlanmaktadır. Buna bağlı olarak da farklı hücre fonksiyonlarına etki etmektedir. Hücreye bağlanan plazmin ekstrasellüler matriks yıkımı ve doku remodellinginde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca proteolitik özelliklerine bağlı olarak proenflamatuar yanıtı da indükleyebilmektedir. *In vitro* da; sitokin ve diğer inflammatuar mediatörlerin salınımını stimüle etmektedir. Hücre adezyonu ve göçünü de indüklemektedir. Endotel hücrelerinde migrasyonu stimüle eder, endotel hücre kaybına ve kapiller permeabilite artışına neden olur. Bu bulgular plazminin hücre inflammatuar yanıtta ve endotel aktivasyonunda mediatör olduğunu göstermektedir. Ancak sistemik inflammatuar yanıtta rolü bilinmemektedir (83).

2.2.4. Antifibrinolitik Sistem:

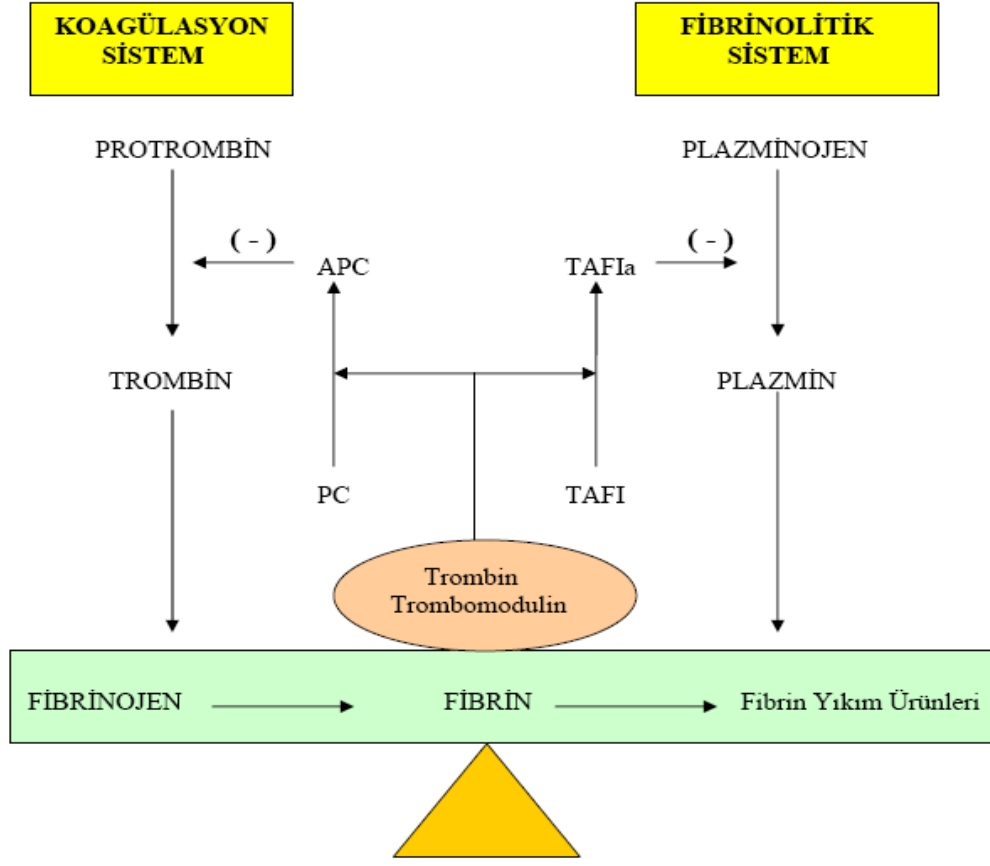
Fibrinoliz inhibitörlerinden plazminojen aktivator inhibitörleri (PAI-1, PAI-2) tPA'yı inhibe etmektedir. Asıl tPA inhibitörü PAI-1 olup PAI-2'nin konsantrasyonu gebelik süresince artmaktadır. Plazmin düzeyinde fibrinoliz inhibisyonu α 2-antiplazminle olmaktadır.

Diğer bir fibrinolizis inhibitörü ise TAFI (Trombinle Aktive Edilen Fibrinolizis İnhibitörü) dir. Bu inhibitör trombin ile aktive edildikten sonra fibrinolizi inhibe ettiği için TAFI olarak adlandırılmıştır. TAFI, metallokarboksipeptidaz ailesinin üyesi olan bir prokarboksipeptidazdır. Bu enzimler pankreas gibi bazı dokularda bulunmakta ve plazmada dolaşmaktadır (84). TAFI karaciğerde 423 aminoasitten oluşan bir prepropeptid olarak sentezlenir. Molekül ağırlığı 55 kDa olan bir glikoproteindir. Plazmadaki konsantrasyonu 4-15 μ g/ml'dir (85). TAFI'nin trombin ile aktive edilebilmesi için büyük miktarlarda trombine ihtiyaç vardır. Endotel hücre reseptörü olan TM trombine bağlandığında ise TAFI'nin trombin tarafından aktivasyonu 1250 kat artmaktadır (86). Fibrinolitik sistem fibrin oluşumundan sonra, plazminojen ve tPA'nın fibrin yüzeyine bağlanması ile başlar. Bu bağlanma plazminojen ve tPA'nın lizin bağlayan bölgeleri ile kısmi yıkılmış fibrinin C-terminal lizin artıklarının özel etkileşimi sonucu bir kompleks meydana gelmesiyle sonuçlanır. TAFIa fibrinolizi, fibrindeki bu karboksi terminal lizin rezidülerini ayırarak plazminojenin bağlanmasını ve dolayısıyla plazmin oluşumunu sınırlandırarak inhibe eder (87,88,89). TM, trombine bağlanarak trombinin fibrinojene olan substrat spesifitesini değiştirmekte ve protein C'yi aktive protein C'ye dönüştürmektedir. APC faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive ederek trombin oluşumunu inhibe etmekte ve TAFI'nin aktivitesini azaltmaktadır. Dolayısıyla protein C yolağı profibrinolitik etki göstermektedir. Böylece antikoagülan yol (TM-trombin-protein C) , antifibrinolitik yol (TM-trombin-TAFI) ve bu yollar arasındaki trombinin dağılımı, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki bağlantının sağlanmasında ve bu kaskadlar arasındaki hassas dengenin sürdürülmesinde anahtar bir rol oynayabilir (86,90). TAFI'nin trombin tarafından aktivasyonu, fibrinolizisin regülasyonunda koagülasyon sisteminin bir rolü olduğunu ve trombin oluşumundaki herhangi bir bozukluğun pıhtı lizisinde artışla sonuçlanacağını göstermektedir. Trombin oluşumunun artması ve fibrin yıkımının azalması trombotik bozukluklara yol açabilmektedir. Bu nedenle TAFI aktivasyonunun artması, fibrinolizin inhibisyonu ile protrombotik olayları alevlendirebilmektedir.

2.2.5. Traneksamik Asit

Traneksamik asit (TA) aminokaproik asidin siklobenzil analogu olup plazminojen üzerindeki lizin bağlanma bölgelerini bloke ederek fibrin degradasyonunu engelleyen sentetik bir lizin derivativesidir (91). TA, plazminojenle reversible kompleks meydana getirerek ve bu proenzimde şekil değişikliği oluşturarak etki gösterir. Lizin bağlı yerleri doyurarak plazminojenin fibrin ve hücre yüzeylerinden ayrılmasına yol açar. Bu da fibrinolizisin inhibisyonuna yol açar(83). Cerrahi veya travmayı takiben hiperfibrinolitik komplikasyonlara bağlı aşırı kanamaları tedavi etmek için kullanılan TA, aşırı fibrinolizis dahil bir çok hemorajik endikasyonda kullanılır (92,93,94).

Yapılan in vitro çalışmalarda TA'in çeşitli mekanizmalarla plazminin indüklediği proenflamatuar yanıtı da baskıladığı düşünülmektedir. Monositlerin yüzeyinde plazmin tarafından doku faktörü oluşturulmasını inhibe eder. Plazminin aktifleştirdiği nötrofil agregasyonunu ve nötrofillerin endotele adhezyonunu inhibe eder. Plazmin etkisiyle endotel hücrelerinden lökotrien B4 (LTB4) ve eikasonoidler gibi araşidonik asit ürünlerinin salınımını önler (83).



Şekil 9: Koagülasyon , Antifibrinolitik sistem ve TAFI'nin rolü

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra deney hayvanları araştırma laboratuvarında yapıldı. Çalışmada deney hayvanları laboratuvarında üretilen 23 adet sağlıklı, ağırlıkları 367-460 gram arasında değişen erkek Spraque-Dawley rat kullanıldı. Ratların barındırıldıkları ve çalışmanın yapıldığı ortamın ısı 20-26 santigrat derece arasında tutuldu. Çalışmadan 12 saat öncesinden itibaren ratlar aç bırakıldı.

3.1. Deney süreci:

3.1.1. Anestezi ve kateterizasyon aşaması: Deney laboratuvarına alınan ratlara intraperitoneal 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun-Bayer) ve 50 mg/kg Ketamine hydrochloride (Ketalar-Pfizer) yapılarak analjezi ve anestezi sağlandı. Elektronik terazide tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Batın orta hattında ve boyun ön bölgesindeki kıllar tıraş edildi. Mikroskop altında boynun ön bölgesi transvers insizyonla açıldı. Sol karotis arter ve sağ internal juguler ven eksplore edilerek 22 G intraketle kanüle edildiler. Arteriyel hat 3'lü musluk ve transducer seti ile monitöre (Nihon-Kohden 4113-K Model) bağlandı.

3.1.2. Laparotomi ve iskemi aşaması: Ratlar kateterize edilip monitöre bağlandıktan sonra abdomen orta hatta cilt, cilt altı ve kas dokuları disseksiyonu ile median laparotomi yapıldı. Retroperitoneal bölge açılarak abdominal aort eksplore edildi. Eksplozasyon sonrası bütün deneklere 70 Ü/kg Heparin (Nevparine 25000 Ü/5 ml) uygulanarak antikoagülasyon sağlandı. Heparin sonrası grup 2'deki deneklere 1 ml serum fizyolojik, grup 3 'deki deneklere 100 mg/kg TA (Transamin-Fako) santral venöz kateter yoluyla verildi. Ardından grup 2 ve grup 3'deki ratlarda abdominal aorta infrarenal düzeyden buldog klemp ile klemlenerek aortik iskemi oluşturuldu. Klemp konulması öncesine göre, klemp konulan bölgenin distalinde nabızın alınamaması ile iskemi tespit edildi. Nabızsızlık el dopleriyle de teyit edildi. Klemp konulması ile başlayan iskemi 60 dakika sürdürüldü.

3.1.3. Reperfüzyon aşaması: Aortik iskemi yapılan grup 2 ve grup 3 ratlarda 1 saatlik iskemi sonrası aort klempini alındı. Klemp süresince iskemik kalan beden alt yarısı tekrar kanlandırılarak

reperfüzyon başlatıldı. İskemik alanlarda reperfüzyonun sağlandığı, bilateral femoral arter nabızlarının elle ve el dopleri ile tekrar alınmaya başlamasıyla teyit edildi. İskemik kalan alanların 2 saat süreyle kanlanması sağlandı.

3.1.4. Deneyin sonlandırılması: Yaklaşık 4 saatlik deney sürecinden sonra ratların karotis arter kateterlerinden biyokimyasal parametrelerin çalışılması amacıyla arteryel kan alındı. Bunun sonucunda ötenazi gerçekleştirilmiş oldu.



Resim 1: Deney Aşaması

3.2. Deney grupları:

TA'in rat deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde akciğer hasarına etkisinin tespiti için üç ayrı deney grubu oluşturuldu.

1.Grup, Sham (kontrol) grubu (n=9): Laparotomi yapıp İskemi-reperfüzyon yapılmadan üçüncü saatin sonunda kan ve doku örnekleri alındı.

2.Grup, İskemi reperfüzyon (IR) grubu (n=7): Laparotomi yapılarak abdominal aort eksplore edildi. Klemp öncesi santral venöz kateterden 1 ml serum fizyolojik verildi. Aort infrarenal düzeyden klemlenerek bir saat aortik iskemi oluşturuldu. Sonrasında klemp açılarak iki saat reperfüzyon sağlandı. İki saatlik reperfüzyon süresi sonunda kan ve doku örnekleri alındı.

3.Grup, Traneksamik asit (TA) grubu (n=7): Loperotomi yapıldı. Aort eksplore edilerek döndü. Aort klemp öncesi santral venöz kateterden 100mg/kg TA verildikten 5 dakika sonra aort klemlenerek bir saat iskemi oluşturuldu. Bu sürenin sonunda klemp açılarak iki saat süreyle reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyon sürecinin sonunda kan ve doku örnekleri alındı.

3.3. Çalışılan materyaller:

Deney süreci tamamlandıktan sonra kandan çalışılacak olan biyokimyasal parametreler için karotis arter kataterinden kan gazı enjektörüne ve 10 ml'lik enjektöre kan alındı ve alınan kanlar biyokimya tüpü, EDTA'lı tüp ve sitratlü tüpe aktarıldı. Ardından median sternotomi yapılarak trakea, perikart ve kalp görüldü. Her iki plevra açılarak akciğerlere ulaşıldı. Sol akciğer ana bronşuna klemp konuldu. Boyun bölgesinde 18 G intraket ile trakeaya girildi. İntraketin ucu sağ ana bronş yoluyla sağ akciğere kadar ilerletildi. Bronko-alveoler lavaj (BAL) amacıyla intraketten 2 ml Phospat buffer salin (PBS) solusyonu sağ akciğere verildi. Verilen yıkama mayii enjektörle aspire edilip biyokimya tüpüne aktarıldı. Bu işlem bir defa daha tekrarlandı. Böylece 4ml PBS solusyonu ile sağ akciğere BAL yapıldı. Sol akciğer hilus bölgesinden rezeke edilerek çıkarıldı. Serum fizyolojik ile yıkanarak üzerindeki kan pıhtıları ve partiküller uzaklaştırıldı. Periferal kenar bölgelerinden biyokimyasal tetkik amacıyla doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri endorf tüpüne yerleştirilerek buz kabına konuldu. Sol akciğerin orta alanları histolojik incelemeler için alınarak %10'luk formaldehit içine konuldu.

Alınan kanlardan; kan gazı, ALT, LDH ve D-Dimer çalışıldı. Biyokimya tûpüne alınan BAL sıvısında LDH çalışıldı. Kan örneklerinden santrifûjle elde edilen serum ve plazmalar ependorf tûplerine konularak Biyokimya Araştırma Laboratuvarına getirildi. -80°C’de saklandı. Deney laboratuvarında alınarak ependorf tûplerin içine konulan akciğer dokuları da buz kabının içinde taşınarak ‘Biyokimya Araştırma Laboratuvarı’na getirildi. -80°C’de saklandı. Histopatolojik incelemeler için alınan ve %10’luk formaldehit içine konulan akciğer dokuları ‘Histoloji laboratuvarı’na getirildi.

3.4. Araştırılan parametreler:

Arteryal kan basıncı takibi; Transduser aracılığıyla monitöre bağı olan sol ana karotis arterindeki intraket aracılığıyla deney boyunca invaziv olarak yapıldı. Yapılan ölçümler deneyin tüm safhaları boyunca 10 dakika arayla kaydedildi.

Arteryal kangazı ölçümü; Rapidlab 1265 cihazında elektrokimyasal yöntem ile kendi orijinal solusyonları kullanılarak ölçüm yapıldı.

Serumda ALT ve LDH ölçümü; Enzimatik-kolorimetrik yöntem ile Roche moduler otoanalizöründe ticari Roche diagnostik kitleri kullanılarak yapıldı.

D-Dimer ölçümleri; İmmuno-turbidimetrik yöntem kullanılarak Diagnostica Stago Star cihazında kendi orijinal kitleri kullanılarak yapıldı.

BAL sıvısında LDH ölçümü; Enzimatik-kolorimetrik yöntem ile Roche moduler otoanalizöründe ticari Roche diagnostik kitleri kullanılarak ölçüm yapıldı.

Serumda İMA ölçümü; İMA seviyelerini belirlemek için albumin kobalt bağılama testinden faydalanıldı. Albumine kobaltın azalan bağılanma kapasitesi David Bar ve arkadaşları tarafından geliştirilen kolorimetrik yöntemle değerlendirildi (95,96). İMA’nın normal serum albümünine göre azalmış olan kobalt bağılama özelliğı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sonuçlar absorbans ünitesi (ABSU) cinsinden kaydedildi.

Kan ve Akciğer dokusunda MPO ölçümü; MPO düzeyi sandwich ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Örnekler rat MPO’suna spesifik antikorla kaplı miropklara eklenerek inkübe edildi. Daha sonra rat MPO’suna spesifik biyotinle konjuge edilmiş ikinci bir antikor plaklara eklendi. Streptavidin-peroksidaz konjugatı plaklara eklendi ve bu konjugat rat MPO’suna spesifik biyotinitle antikorlarla reaksiyona girdi. Tetrametil benzidin (TMB) eklendi ve renk değışikliğı örnekteki

rat MPO miktarına göre değişti. Enzim reaksiyonu 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Normal düzeyi 1.0-250 ng/mL olarak kabul edildi. Rat MPO düzeyinin akciğer dokusunda belirlenmesi için doku homojenat örnekleri lizis tamponu ile inkübe edildi ve sonra sanrifüj edilerek aynı yöntemle çalışıldı.

Plazma ve Akciğer dokusunda MDA ölçümü; Rat plazma örneklerinde MDA miktarı 1984 yılında Yagi tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak ölçüldü (97). Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk 532 nm dalga boylu ışıpta spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçüm sonucunda plazma MDA miktarları nmol/ml olarak hesaplandı.

Akciğer dokularında MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama'nın 1978 yılında geliştirdikleri tiyobarbitürik asit metoduyla çalışıldı (98). Metodun prensibi; tiobarbitürik asit ile doku homojenatındaki MDA'nın reaksiyona girerek oluşturdukları renkli kompleksin 532 nm dalga boylundaki 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.

Plazmada TAT ölçümü; TAT ölçümü ELISA yöntemiyle çalışıldı. Plazma örnekleri TAT kompleksine spesifik antikor ile kaplı mikropatlara eklendi. Örnekler daha sonra TAT'a spesifik biyotinle konjuge poliklonal antikorlar üzerine eklendi. Daha sonra avidinle konjuge Horseradish peroksidaz (HRP) konjugat poliklonal antikor üzerine eklendi. TMB solusyonu her plağa eklenerek TAT ihtiva eden plaplarda renk değişikliği gözlemlendi. Enzim substrat reaksiyonu sülfürik asit ilavesiyle değişti ve renk değişikliği 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Normal aralığı 0.156 -10 ng/mL olarak kabul edildi.

TAFI (Trombinle aktive edilen fibrinolizis inhibitörü) ölçümü; TAFI(a) düzeyleri ölçümü için -80°C'de saklanmış olan plazmalar çıkarılarak oda ısısına gelmesi beklendi ve daha sonra ELISA yöntemiyle çalışıldı. Plazma örnekleri, insan TAFI'sine spesifik murin monoklonal antikor ile kaplı mikropatlara eklendi. 2 saat 37°C 'de inkübe edildi. Bir sonraki basamakta yıkama solusyonu ile yıkandı. Anti-Human TAFI poliklonal antikor üzerine Horseradish peroksidaz (HRP) konjugat eklendi. Tekrar bir yıkama işlemi uygulandı. Daha sonra peroksidaz substrat Tetrametilbenzidin (TMB), H₂O₂ (hidrojen peroksit) varlığında plaplara eklendi ve reaksiyon sonunda mavi renkli solüsyon meydana geldi. Oda ısısında (18-25°C'de) 5 dakika

inkübe edildi. En son basamakta 0.45 M'lik H₂SO₄ (sülfirik asit) eklenerek reaksiyon durduruldu ve reaksiyondaki solüsyon sarı renge dönüştü. Rengin stabilize olması için 10 dakika beklendi ve daha sonra solüsyonun absorbansı 450 nm'de ölçüldü. Bu absorbans direkt olarak numunedeki TAFI(a) konsatrasyonunu yüzde (%) olarak verdi. Normal aralığı % 40-250 olarak kabul edildi.

3.5. Histopatolojik inceleme

Deneyin sonlandırılmasını takiben tüm ratların (deney ve kontrol gruplarına ait) akciğerlerinin yaklaşık aynı kısımlarından alınan doku örnekleri histopatolojik değerlendirme yapılması için %10 luk formaldehit içinde 48 saat fiske edildi. Doku parçaları dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi ve ksilen solüsyonundan geçirilerek şeffaflaştırıldı. Dokuların parafin blokları hazırlandı. Doku bloklarından tam otomatik mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler deparafinizasyon işleminden sonra hematoksilin-eozin ile boyandı. 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.

Tablo 2: Akciğer hasarının mikroskopik skorlama kriterleri (99)

Grade	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

Verilerin Biyoistatistiksel Analizi:

Biyokimyasal ve histolojik verilerin analizinde sayısal değerler kruskal wallis varyans analizi (post hoc olarak Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) ile değerlendirildi. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

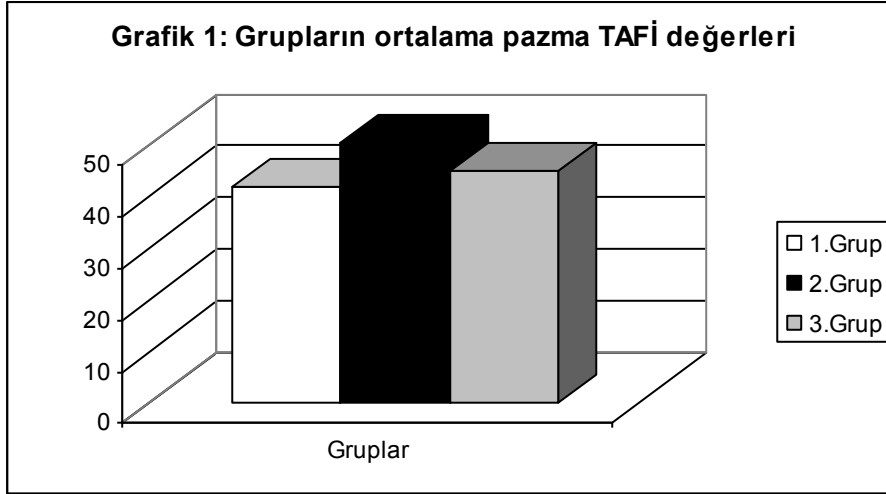
4. BULGULAR

Deney sürecinden sonra alınan materyallerde yapılan biyokimyasal, hematolojik ve histolojik incelemelerin sonuçları deney gruplarında aşağıdaki gibi bulundu (Tablo 3).

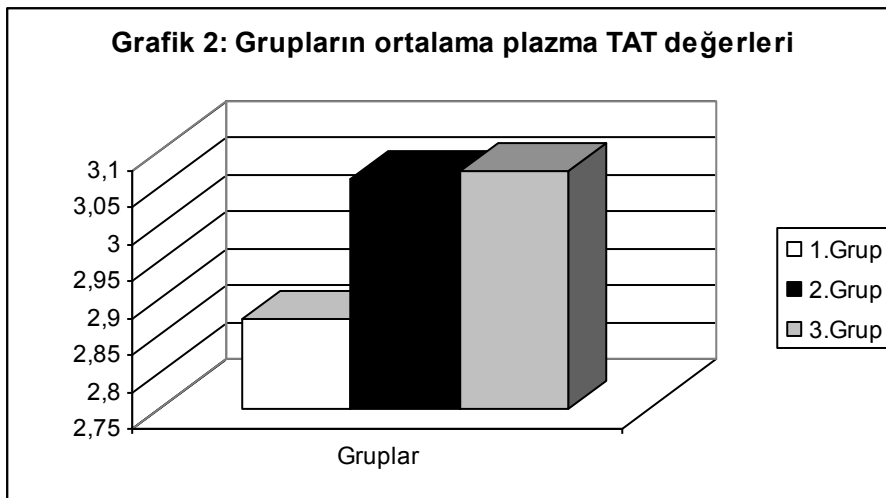
Tablo 3: Grupların biyokimyasal, hematolojik ve histolojik analiz sonuçları.

	1.Grup	2.Grup	3.Grup
Plazma TAFİ	41.56±27.46	50±22.82	44.55±10.31
Plazma TAT	2.87±0.14	3.06 ±0.25	3.07±0.22
D-Dimer	0.23±0.04	0.27±0.07	0.27±0.04
Plazma MPO	1690.52±332.34	2795.87±374.96	2551.23±476.90
Doku MPO	3533.76±219.32	3981.59±164.44	4068.98±233,62
Plazma MDA	0.31±0.04	0.43±0.04	0.46±0.04
Doku MDA	4.52±0.13	5.66±0.48	4.85±0,58
Serum İMA	0.44±0.03	0.51±0.03	0.42±0.04
Serum ALT	70.66±21.23	99.14±49.71	61.57±11.85
Serum LDH	882±521.22	933.42±441.73	770.28±344.26
BAL LDH	657.55±424.39	676.85±401.52	801.42±310.81
pH	7.22±0.14	7.18±0.14	7.30±0.03
PO ₂	105.68±24.25	79.38±24.84	105.38±30.39
PCO ₂	51.43±14.55	70.62±27.57	45.30±11.81
HCO ₃ ⁻	21.12±3.05	20.21±3.13	20.08±2.97
BE	-5.50±5.17	-5.31±3.02	-4.84±3.70
SaO ₂	94.40±6.42	84.82±20.41	95.50±2.98
Histolojik skor	1.22±1.09	2.85±0.69	2.71±0.75

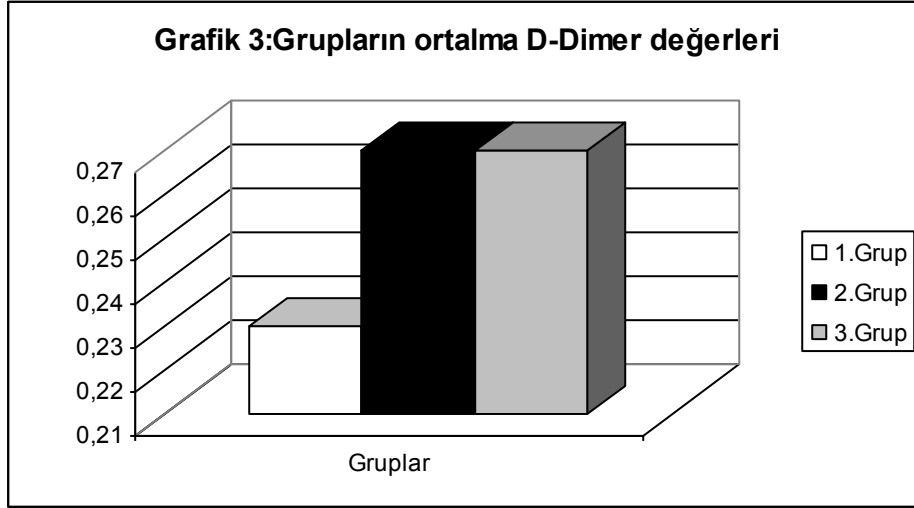
1. TAFİ değerleri: Alınan plazma örneklerinden çalışılan TAFİ değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 41.56 ± 27.46 , 2. grupta 50 ± 22.82 ve 3. grupta 44.55 ± 10.31 idi. Bu grupların TAFİ için yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



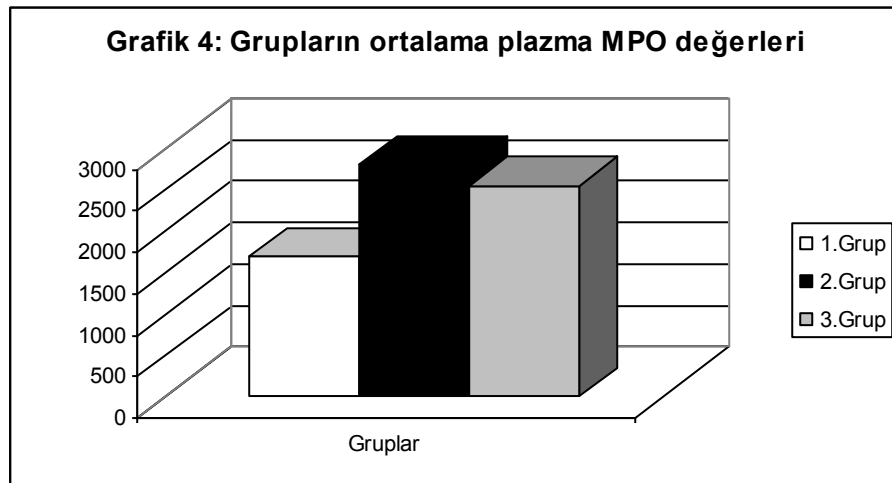
2. TAT değerleri: Alınan plazma örneklerinden çalışılan TAT değerlerinin ortalama ve standart sapması 1. grupta 2.87 ± 0.14 , 2. grupta 3.06 ± 0.25 , ve 3. grupta 3.07 ± 0.22 idi. Bu grupların TAT için yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



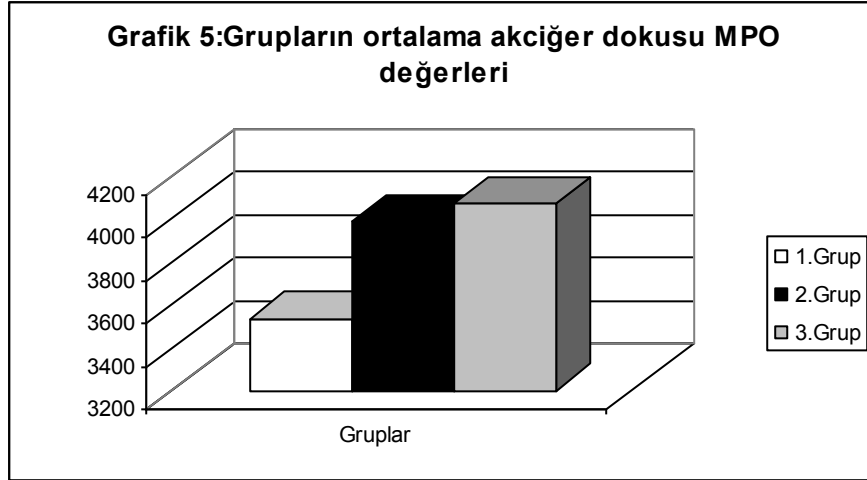
3. D-Dimer değerleri: Alınan sitratlı kan örneklerinden çalışılan D-Dimer değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 0.23 ± 0.04 , 2. grupta 0.27 ± 0.07 ve 3. grupta 0.27 ± 0.04 idi. Bu grupların D-Dimer için yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi .



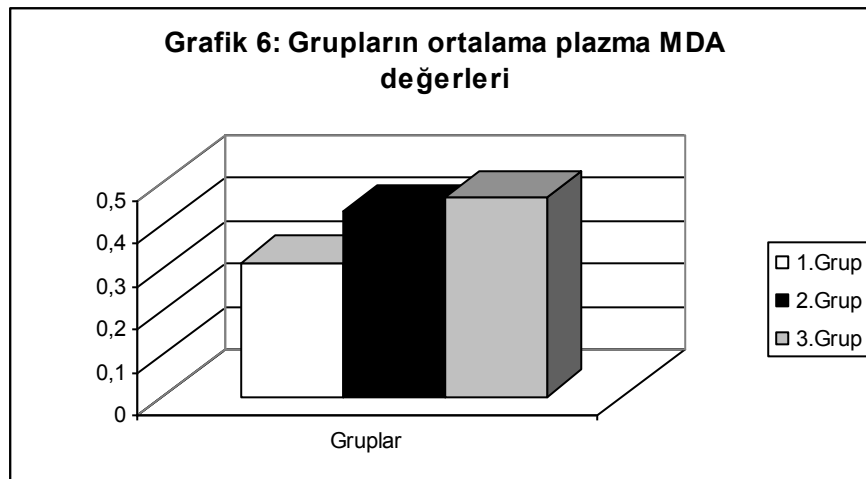
4. Plazma MPO değerleri: Alınan plazma örneklerinden çalışılan MPO değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 1690.52 ± 332.34 , 2. grupta 2795.87 ± 374.96 , ve 3. grupta 2551.23 ± 476.90 idi. Yapılan istatistiksel analizde 1.ve 2. grup arasına anlamlı fark tespit edildi ($p=0,0001$). 1. ve 3. grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.001$). Ancak 2. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



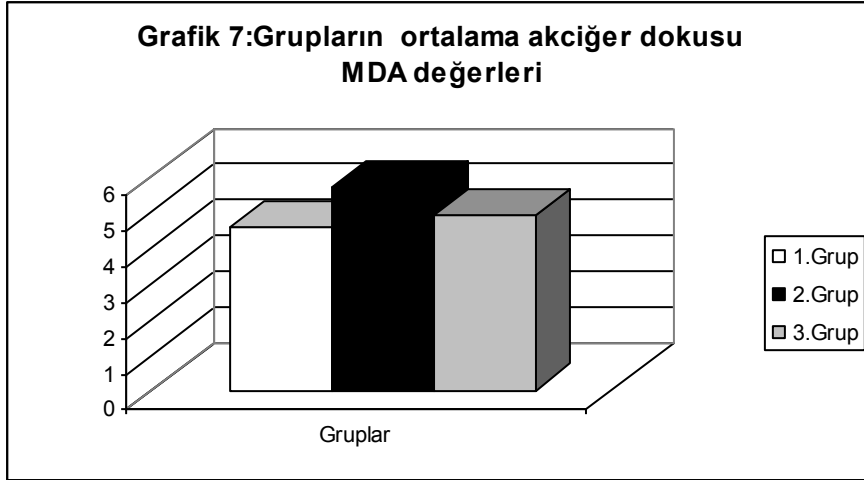
5. Akciğer Dokusunda MPO değerleri: İncelenen akciğer dokusu homojenatlarında MPO değerlerinin ortalama ve standart sapması 1. grupta 3533.76 ± 219.32 , 2. grupta 3981.59 ± 164.44 ve 3. grupta 4068.98 ± 233.62 idi. Yapılan istatistiksel analizde 1.ve 2. grup arasında anlamlı fark tespit edildi ($p=0,001$). 1. ve 3.grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.0001$). Ancak 2. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



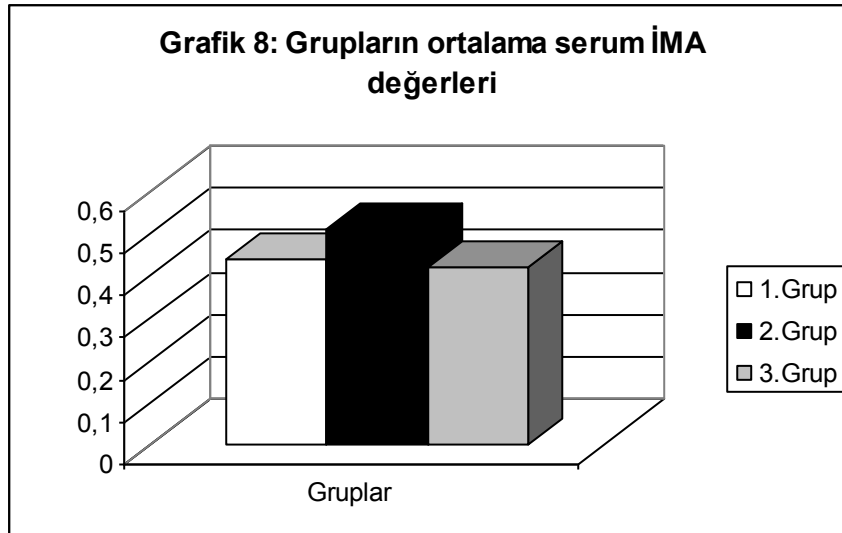
6. Plazma MDA değerleri: Alınan plazma örneklerinden çalışılan MDA değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 0.31 ± 0.04 , 2. grupta 0.43 ± 0.04 ve 3. grupta 0.46 ± 0.04 idi. Yapılan istatistiksel analizde 1.ve 2. grup arasında anlamlı fark tespit edildi ($p=0,0001$). 1. ve 3.grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.0001$). Ancak 2. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



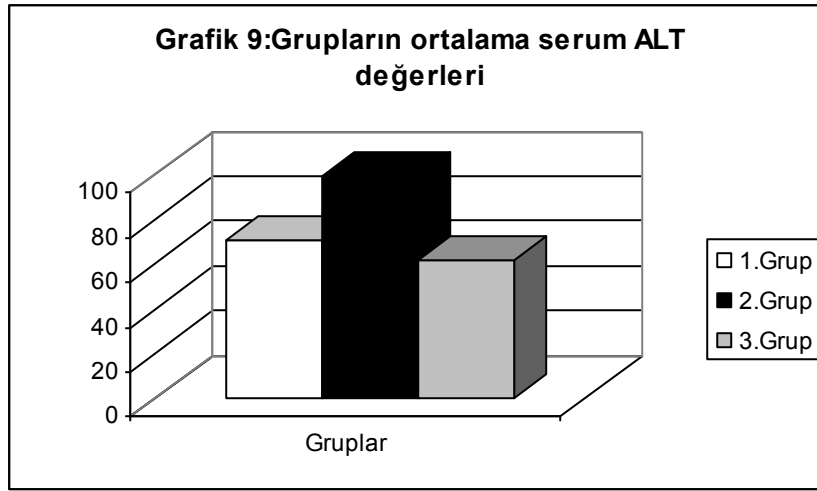
7. Akciğer Dokusunda MDA değerleri: İncelenen akciğer dokusu homojenatlarında MDA değerlerinin ortalama ve standart sapması 1. grupta 4.52 ± 0.13 , 2. grupta 5.66 ± 0.48 ve 3. grupta $4.85 \pm 0,58$ idi. Yapılan istatistiksel analizde 1.ve 2. grup arasına anlamlı fark tespit edildi ($p=0,0001$). 2. ve 3.grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.006$). Ancak 1. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



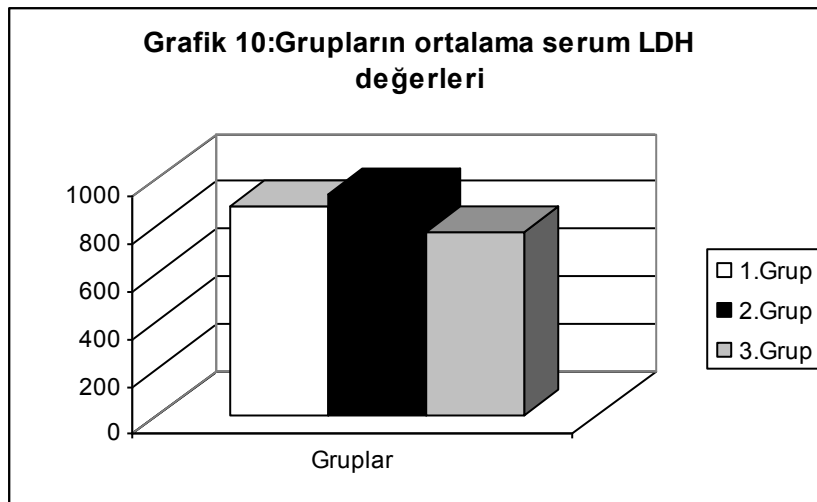
8. Serum İMA değerleri: Alınan serum örneklerinden çalışılan İMA değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 0.44 ± 0.03 , 2. grupta 0.51 ± 0.03 , ve 3. grupta 0.42 ± 0.04 idi. Yapılan istatistiksel analizde 1.ve 2. grup arasına anlamlı fark tespit edildi. ($p=0,007$). 2. ve 3.grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.001$). Ancak 1. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



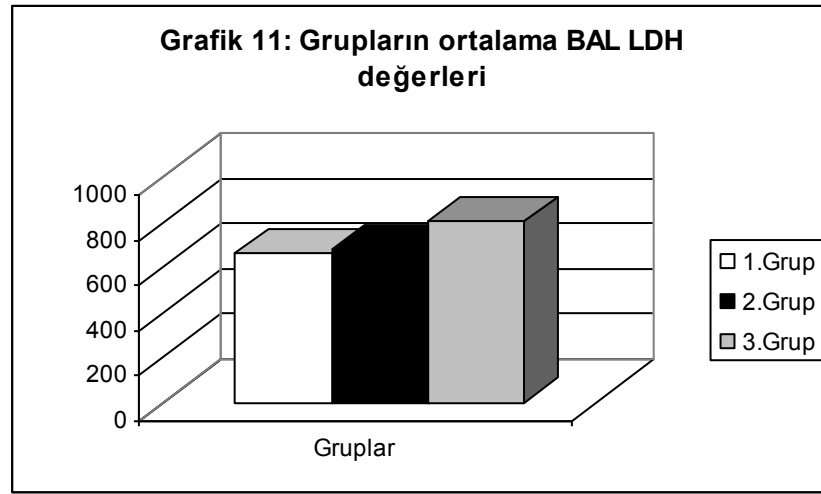
9. Serum ALT değerleri: Alınan serum örneklerinden çalışılan ALT değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 70.66 ± 21.23 , 2.grupta 99.14 ± 49.71 ve 3.grupta 61.57 ± 11.85 idi. Bu grupların serum ALT için yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



10. Serum LDH değerleri: Alınan serum örneklerinden çalışılan LDH değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 882 ± 521.22 ,2. grupta 933.42 ± 441.73 ve 3.grupta 770.28 ± 344.26 idi. Bu grupların serum LDH için yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi .



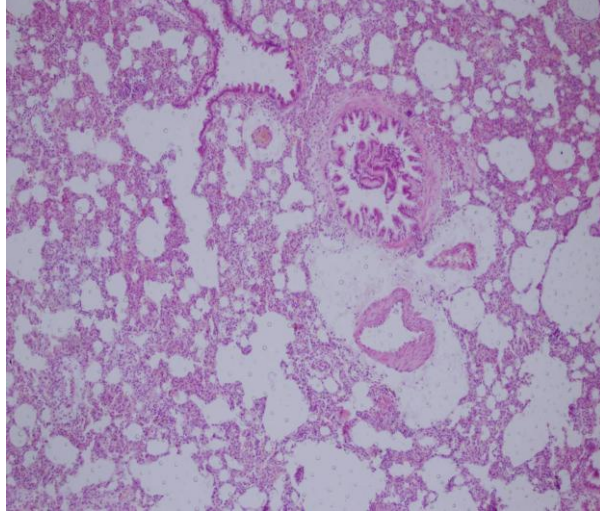
11. BAL sıvısında LDH değerleri: Alınan BAL sıvısı örneklerinden çalışılan LDH değerlerinin ortalama ve standart sapması 1.grupta 657.55 ± 424.39 , 2.grupta 676.85 ± 401.52 , 3.grupta 801.42 ± 310.81 idi. Bu grupların BAL LDH için yapılan istatistikel analizinde anlamlı fark tespit edilmedi.



12. Arteryal kangazı değerleri: Alınan arteryal kan örneklerinden çalışılan PH, PO₂, PCO₂, HCO₃, BE ve SaO₂ gibi kangazı parametrelerinin sonuçlarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

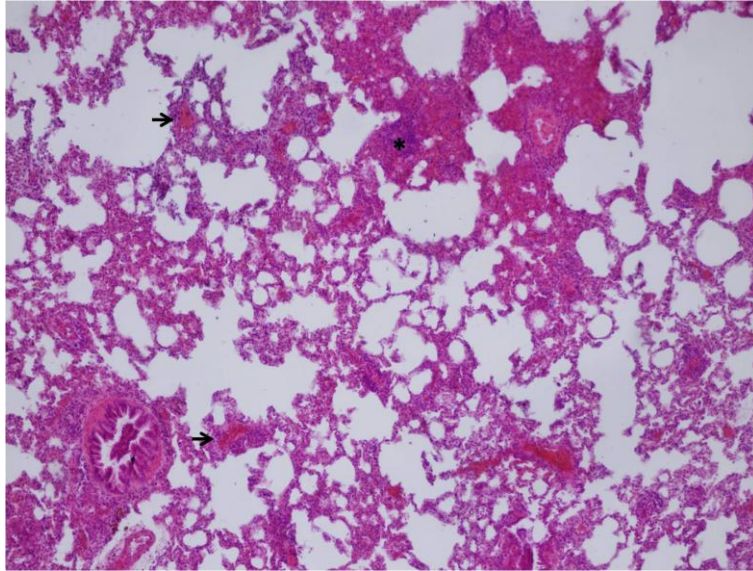
13. Doku histolojisi sonuçları: Işık mikroskobunda bakılan Hematoksilen- Eosin ile boyanmış akciğer dokusu örneklerinde;

1.Grup: Histolojik olarak normal akciğer yapısı gözlemlendi.

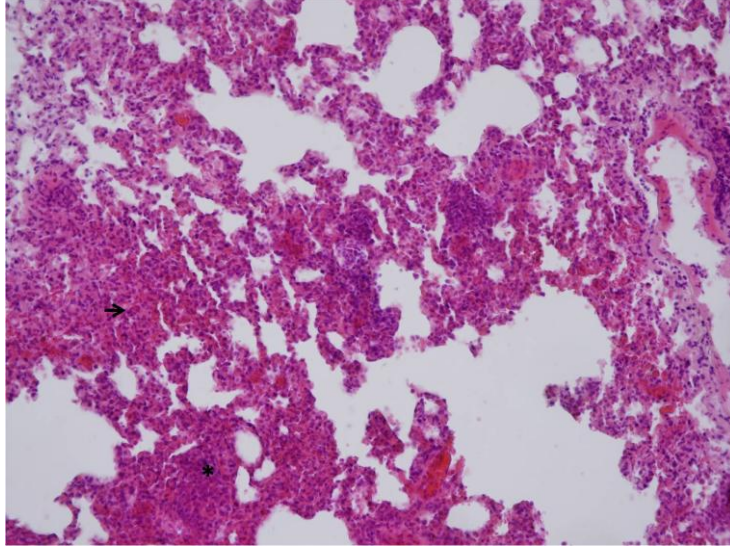


Resim 2: 1.Gruba ait normal akciğer yapısı izlenmektedir (H.E.x 100).

2.Grup: Yaygın lökosit infiltrasyonu(*) ve arteriollerde trombüs (→) izlendi (Resim 2). Ayrıca alveoler yapıda belirgin dejenerasyon (*) ve interalveoler hemoraji (→) mevcut idi (Resim 3).

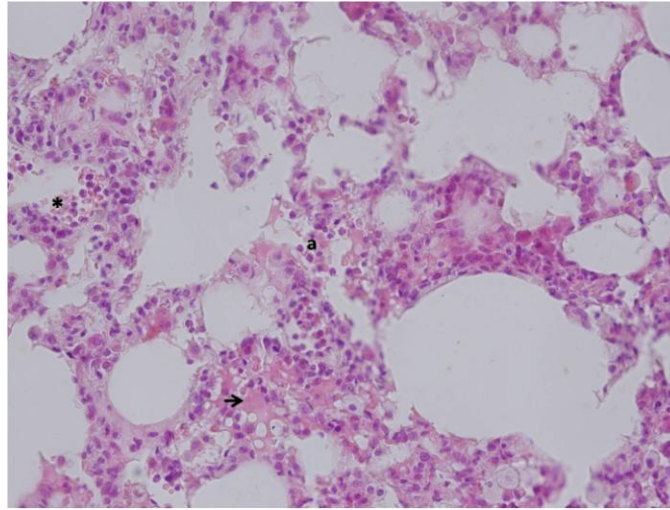


Resim 3: 2.Grubu ait akciğer dokusunda yaygın lökosit infiltrasyonu(*) ve arteriollerde trombüs (→) izlenmektedir (H.E.x 100).



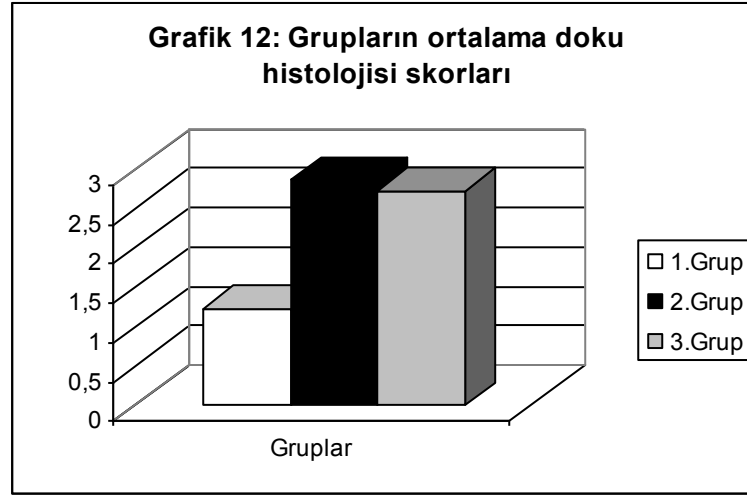
Resim 4: 2.Gruba ait akciğer dokusunda alveoler yapıda belirgin dejenerasyon (*), interalveoler hemoraji (→) izlenmektedir.(H.E.x200)

3.Grup: Lökosit infiltrasyonu olmakla beraber 2.gruba göre daha az idi. Arteriollerde trombüs izlenmedi. İnteralveoler hemoraji (*) 2.gruba göre azalmıştı. Yaygın interstisiyel ödem(→) izlendi. Alveoler yapıdaki hasar (a) 2.gruba göre azalmıştı.



Resim 5: 3.Gruba ait akciğer dokusunda 2. gruba göre daha az interalveoler hemoraji (*) ve alveoler yapıda hasar (a) izlendi. Ayrıca yaygın interstisiyel ödem(→) izlenmektedir (H.E.x 200).

Hematoksilen–Eosin ile boyalı akciğer dokusu preparatlarında yapılan histolojik değerlendirmeler doku histoloji skoru şeklinde sayısal değerlere dönüştürüldü. Oluşturulan doku histoloji skorlarının ortalama ve standart sapması; 1. grupta 1.22 ± 1.09 , 2.grupta 2.85 ± 0.69 , 3.grupta 2.71 ± 0.75 idi. Yapılan istatistiksel analizde 1. ve 2. grup arasında anlamlı fark tespit edildi ($p=0.008$). 1.ve 3. grup arasında da anlamlı fark tespit edildi ($p=0.012$). 2. ve 3. grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi.



5. TARTIŞMA

Reperfüzyon hasarı iskemik doku ve organların tekrar kanlandırıldığı çeşitli klinik durumlarda oluşabilmektedir. Bu durumlar arasında torakal aort cerrahisi, abdominal aort cerrahisi, alt ekstremitte arterlerine yönelik cerrahi girişimler, ortopedik cerrahi işlemlerde kullanılan turnikeler ve organ transplantasyonu sayılabilir (7,16).

Doku ve organ iskemisi oluşturan bu uygulamaların reperfüzyon fazında iskeminin hedef organında lokal hasar oluşabileceği gibi bu hedef organın dışındaki bazı organlarda da uzak organ hasarı oluşabilir (3). Bu uzak organlar arasında en sık akciğerler etkilenir (3,5,6,10). Oluşan akciğer hasarı mortalite ve morbiditeyi artırır (4,6). Böbrekler, kalp, beyin ve karaciğer etkilenen diğer uzak organlardır (3,5,8). Etkilenen organlara bağlı olarak klinikte ARDS, ABY, kardiyomiyopati, ensefalopati ve karaciğer hasarı bulguları görülebilir. Klinik uygulamalarda reperfüzyon hasarı olarak kastedilen reperfüzyon süresince oluşan lokal hasardan ziyade uzak organ hasarına bağlı klinik bulgulardır.

Oluşan reperfüzyon hasarının patogenezinde çeşitli faktörler sayılmasına rağmen esas etken iskemi sonrası tekrar kanlandırılan dokularda açığa çıkan serbest radikallerdir. Oluşan serbest radikaller başta hücre membranının lipid yapısında peroksidasyon olmak üzere hücrenin sitoplazmik ve nükleer elemanlarında da hasar oluşturarak nekroza neden olur. Reperfüzyon hasarından sorumlu tutulan serbest radikallerin ana kaynağı da bu süreçte aktifleşen nötrofillerdir (5).

Lokal hasar bölgesinde reperfüzyon fazında aktifleşen nötrofiller hem lokal hemde uzak organ hasarında rol alır. Bu nötrofiller IL-2, IL-6 , IL-8 ve TNF-alfa gibi çeşitli mediatörler salgılayarak dolaşımdaki diğer nötrofil ve inflamatuvar hücrelerin de aktifleşmesini sağlarlar. Bunun sonucunda aktifleşen dolaşımdaki nötrofiller sistemik inflamatuvar yanıt oluşturarak uzak organ kapiller endotellerine saldırır. Uzak organlardaki bu nötrofilik enflamasyon klinik bulguları oluşturan doku ödemi ve yıkımına neden olur (7,16). Lokal ve uzak organlarda oluşan hasarda nötrofillerden salınan serbest oksijen radikalleri ve proteazlar rol alır (6,10).

Ayrıca iskemi süresince dokuda oluşan metabolik artıklar, fibrin yıkım ürünleri ve mikroemboliler reperfüzyonun getirdiği kan akımıyla sistemik dolaşıma katılarak uzak organ hasarının oluşmasına neden olur (4). Oluşan fibrin yıkım ürünlerinin sistemik dolaşımda ilk

tutulduğu organ akciğerlerdir. Fibrin yıkım ürünleriyle akciğer kapillerlerinin tıkanması doku iskemisine ve enflamatuar yanıtı neden olur. Aynı mekanizmayla diğer uzak organlarda da fibrin yıkım ürünlerine bağlı doku hasarı oluşabilir. Idell, alveoler fibrin birikimlerinin akut akciğer hasarının bir özelliği olduğunu ve dokuda yaygın intravasküler trombozların görülebileceğini belirtti. Oluşan fibrin birikimlerinin enflamatuar özelliği olması yanında ayrıca alveoler epitelden pazminojen aktivatörlerinin de salınımına neden olurlar. Böylece plazmin aktifleşerek akciğer disfonksiyonu ve enflamatuar yanıtın şiddetinde artışa neden olur. Bunun sonucunda uzun dönemde oluşan remodelingle dokuda fibrozis gelişir (100).

Bizim çalışmamızdaki temel mantık; iskemik dokuda staz ve endotel hasarı nedeniyle oluşan ve oluşuktan sonra fibrinolitik sistem aktivitesi ile fibrin yıkım ürünlerine dönüşen mikrotrombüslerin stabil kalmasını sağlamaktır. Böylece antifibrinolitik etki ile mikrotrombüsler yıkılmayacak ve fibrin yıkım ürünleri oluşmayacaktır. Sonuçta fibrin yıkım ürünlerinin proenflamatuar etkisi ve akciğer kapillerlerini tıkanması önlenecektir. Bu mantık Idell'in düşüncesiyle örtüşüyordu.

Fibrinolitik etki plazminin oluşmuş olan trombüsdeki fibrine bağlanmasıyla başlar. Fibrinin fibrin yıkım ürünlerine dönüşmesiyle sonuçlanır. Plazminin fibrine bağlanması plazmin üzerindeki spesifik bölgelerin fibrin yapısındaki lizin derivelerini bağlamasıyla gerçekleşir. Plazmin fibrin yüzeye bağlanarak fibrinolitik etki oluşturmanın yanında, nötrofil, monosit, lenfosit, trombosit ve endotel hücrelere de bağlanabilir. Bu bağlanma hücrelerde adezyon, migrasyon ve çeşitli inflammatuar sitokinlerin salınmasına neden olur. Sonuçta enflamasyon, ekstrasellüler matriks hasarı ve doku remodelingi oluşur (83).

Örneğin aprotininin antifibrinolitik etkili bir serin proteaz inhibitörüdür. Literatürde reperfüzyon hasarının önlenmesi amacıyla deneysel iskemi-reperfüzyon çalışmalarında kullanılmıştır (7,16). Şirin ve arkadaşlarının tavşanlarda oluşturduğu alt ekstremite iskemi-reperfüzyon modelinde aprotinin verilen grupta akciğer histolojisinde patolojik bulguya rastlanmamış, ilacın reperfüzyon hasarını azalttığı sonucuna varılmıştır (7). Köksal ve arkadaşları da ratlarda oluşturdukları iskemi-reperfüzyon modelinde aprotininin alfa-tokoferol'e göre daha güçlü bir antiinflammatuar etki ile reperfüzyon hasarını azalttığını göstermişlerdir (16).

Farklı bir antifibrinolitik ajan olan TA, plazmin üzerindeki spesifik lizin bağlama bölgelerine bağlanarak plazminin fibrine bağlanmasını önler. Bu sayede fibrinin parçalanması önlenir. Antifibrinolizis gerçekleşmiş olur. TA'nın reperfüzyon hasarına etkisi ile ilgili çalışmalar

aprotinine göre daha sınırlı sayıdadır ve etki mekanizması tam olarak açıklanmamıştır. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada TA'ı antifibrinolitik ve antienflamatuar özellikleri nedeniyle kullandık. Aortik iskemi sonrasında akciğerlerde oluşan reperfüzyon hasarının patogenezinde fibrinolitik sistemin rolü ve TA ile antifibrinolitik tedavi sonrası hasar bulgularının değişimini inceledik. Jimenez ve arkadaşları kardiyopulmoner by-pass (KPB) sırasında oluşan aşırı kanamalarda ve IR'de hiperfibrinolizisin önemli rol oynadığını ve plazmin aktivitesinin baskılanması ile KPB sırasında ve sonrasında IL-6 aracılıklı proenflamatuar yanıtı etki edebileceğini belirttiler. KPB sonrasındaki aşırı kanamalarla IR'nin ilişkili olduğunu, bu nedenle TA verilerek fibrinolizisin baskılanmasının KPB sırasında enflamatuar yanıtı düzenleyeceğini rapor ettiler. Yaptıkları çalışmada, KPB esnasında bir grup hastaya plasebo diğer gruba ise TA verdiler. Plasebo grubunda IR'nin %42, TA grubunda ise %17 olduğunu ve TA'in IR'da anlamlı azalma sağladığını bildirdiler (101).

Yapmış olduğumuz deneysel çalışmada 1. grupta (sham) laparotomi ve abdominal aort eksplorasyonu, 2. grupta aortik iskemi-reperfüzyon ve 3. grupta ilaç (TA) verilerek aortik iskemi-reperfüzyon oluşturduk. Reperfüzyon aşamasında oluşan sistemik enflamatuar yanıtı plazmada MPO ve MDA, serumda ALT, LDH ve İMA çalışarak gösterdik. Plazma MPO değeri sistemik lökosit aktivitesinin göstergesidir. Bu değer 2.grupta 1.gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0001$). Bu yükseklik 2. grupta lökosit aktivitesi ile sistemik enflamatuar yanıt oluştuğunun göstergesidir. 3. grupta ise plazma MPO değeri 2.gruptan düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuç ilacın 3.grupta sistemik enflamatuar yanıtı yeterli azaltmadığını gösterdi. Mocatta ve arkadaşları MPO'nun nötrofil ve monosit kaynaklı bir enzim olduğunu, IR ve kardiovasküler hastalıklarda rolü olduğunu belirttiler. Yaptıkları çalışmada akut MI sonrasında plazma MPO düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiğini ve yüksek MPO değerinin akut MI sonrasında survey için belirleyici olduğunu gösterdiler (102). Plazma MDA değeri oksidatif strese bağlı serbest radikal aracılıklı lipit peroksidasyonunun göstergesidir. Bu değer 2. grupta 1. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0001$). Bu yükseklik 2.grupta sistemik olarak aktifleşen lökositlerin serbest radikal ürettiğini ve hücrelerin lipit yapılarını hasara uğrattığını gösterdi. Plazma MDA değeri 3.grupta ise 2. gruba göre yüksek olmakla beraber bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuç ilacın 3.grupta serbest radikal aracılıklı lipit peroksidasyonunu etkilemediğini gösterdi. Saçar ve arkadaşları C vitamini ve iloprost kullanarak oluşturdukları deneysel alt

ekstremitte iskemi-reperfüzyon modelinde IR grubunda plazma ve kas dokusunda MDA'nın yükseldiğini gösterdiler. Doku hasarının MDA'daki yükseklikle ilişkili olduğunu belirttiler (103).

Serum İMA değeri son yıllarda kullanılmaya başlayan yeni bir markır olup iskemi sonrasında oluşan oksidatif stresin gösterilmesinde kullanılır. Serum İMA değeri 2.grupta 1.gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.007$). Bu yükseklik 2. grupta iskemi ve reperfüzyon aşamalarında oksidatif stres oluştuğunu gösterdi. Bu grupta yükselen plazma MDA değeri de oksidatif stresi desteklemektedir. Serum İMA değeri 3. grupta 2.gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p=0.001$). Bu sonuç ilaca bağlı olarak 3.grupta oksidatif strete azalma olduğunu gösterdi. Ancak bu azalmaya plazma MDA değeri eşlik etmedi. Türedi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada acil serviste kardiyak arrest nedeniyle CPR yapılan hastalarda serum İMA ve MDA değerlerinin arttığı görüldü. Serum İMA değerindeki artışın CPR sonrasında erken prognozla ilişkili olduğu vurgulandı. Ayrıca bu çalışmada serum İMA değerinin oksidatif stresin göstergesi olarak IR nedeniyle artacağı belirtildi (21). Başka bir çalışmada Sinha ve arkadaşları İMA'nın akut koroner sendromlu hastalarda iskemisinin yeni bir markırı olduğunu ve erken tanı da sensitivitesinin EKG ve Troponin T değişiminden yüksek olduğunu gösterdiler (95).

Serum ALT değeri hücrel hasarın nonspesifik göstergesidir. Bu değer 2.grupta 1. gruptan daha yüksekti. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamsızdı. 3. grupta ise 2.gruptan düşüktü. Bu düşüklükte istatistiksel olarak anlamsızdı. Serum LDH değeri de hücrel hasarın diğer bir nonspesifik göstergesidir. Bu değer 2.grupta 1.gruptan yüksekti ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamsızdı. 3.grupta ise 2.gruptan daha düşüktü . Ancak bu düşüklük de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ertürk ve arkadaşları artroskopik diz cerrahisinde kullanılan pnömotik turnikelere bağlı oluşan sistemik reperfüzyon yanıtının propofol ve NAC kullanılan gruplarda azaldığını gösterdiler. Yaptıkları çalışmada bu gruplarda plazma MDA, İMA ve laktat değerlerinde anlamlı azalma mevcuttu. İMA ve MDA değerlerindeki artışın IR bulgusu olduğunu vurgulayarak azalmış olmalarını reperfüzyon yanıtında azalma olarak yorumladılar (104). Bu literatür çalışmaları sonucunda ; 2.grupta artan plazma MPO değeri sistemik lökosit aktivitesini gösterdi. Aynı şekilde 2. gruptaki serum İMA yüksekliği reperfüzyon nedeniyle oksidatif stres oluştuğunu gösterdi. Oksidatif stres süresince oluşan serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu plazma MDA değerini artırdı. Bu grupta artmış olan plazma MDA değeri artmış olan serum İMA değeriyle birlikte oluşan oksidatif hasarı göstermektedir. Bulduğumuz bu

sonuçlar literatürlerle uyumludur. İlaç verdiğimiz 3.grupta plazma MPO ve MDA değerlerinde azalma olmaması ve serum İMA değerinde anlamlı azalma olması sistemik inflamatuvar yanıtın azalmadığını sadece oksidatif stresin azaldığını düşündürdü.

Çalışmamızda reperperfüzyona bağlı akciğer hasarının değerlendirilmesi amacıyla dokuda MPO ve MDA, doku histolojisi , arterial kan gazları ve BAL LDH alışıldı. Doku MPO değeri 2. grupta 1.gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.001$). Bu yükseklik 2.grupta dokuda lökosit aktivitesi ile inflamasyon olduğunu gösterdi. Doku MPO değeri ilaç verilen 3.grupta anlamsız düzeyde artış gösterdi. Bu sonuç ilaca bağlı olarak dokuda lökosit aktivitesinin azalmadığını gösterdi. AYTEKİN ve arkadaşları oluşturdukları deneysel modelde pankreatite bağlı gelişen akciğer hasarında dokuda MPO değerinin arttığını gösterdiler. Akciğer dokusunda artan MPO değerini dokudaki artmış lökosit aktivitesinin indirekt göstergesi olarak sundular (105). Doku MDA değeri 2.grupta 1.gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0001$). Bu yükseklik dokuda oluşan enflamasyonun lipit peroksidasyonuna neden olduğunu gösterdi. Bu grupta artmış olan serum İMA değeride bu sonucu desteklemektedir. Doku MDA değeri 3.grupta 2.gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p=0.006$). Bu düşüklük ilacın lökosit infiltrasyonuna bağlı lipit peroksidasyonunu azalttığını gösterdi. Bu grupta serum İMA değerinin de azalmış olması bu sonucu desteklemektedir. Doku histolojik değişiklikleri incelendiğinde 1. grupta akciğer dokusu normal bulundu. 2. grupta 1.gruba göre dokuda yaygın lökosit infiltrasyonu , alveoler yapıda belirgin dejenerasyon, interalveoler hemoraji ve arteriollerde trombüs mevcuttu. Bu bulgularla uyumlu olarak oluşturulan doku histolojisi skoru 2. grupta 1. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.008$). Bu bulgular ile 2. grubun akciğer dokusunda reperfüzyon hasarı histolojik olarak gösterilmiş oldu . Dokuda çalışılmış olan MPO ve MDA değerlerinin yüksekliği de histolojik bulgulardaki değişimi desteklemektedir. 3.grubun doku histolojisinde ise 2.gruba göre lökosit infiltrasyonu, arteriollerde trombüs, interalveolar hemoraji ve alveolar hasar bulguları azalmıştı. Ancak yaygın interstisyel ödem mevcuttu. Histolojik bulgulardaki iyileşmenin sonucu olarak oluşturulan doku histolojisi skoru 2. gruptan düşüktü. Ancak bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi . Sonuçta azalmış olmakla beraber akciğer dokusunda reperfüzyon hasarı devam etmişti. BERKAN ve arkadaşlarının askorbik asit kullanarak oluşturdukları deneysel alt ekstremite iskemi-reperfüzyon çalışmasında iskemi-reperfüzyon grubunun akciğer dokusunda PMNL, ödem ve konjesyon saptandı (10). Bu değişiklikler bizim

iskemi-reperfüzyon grubundaki değişikliklerle benzerlik gösteriyordu. Tekinbaş ve arkadaşları da torasik cerrahi sırasında oluşan akciğer hasarını postoperatif mortalite nedeni olarak gösterdiler. Bu akciğer hasarını oluşan serbest radikallere bağladılar. Serbest radikal oluşumunun nedeni olarak da tek akciğer ventilasyonunun reperfüzyon aşamasını gösterdiler. Deneysel modelde tek akciğer ventilasyonu sırasındaki histolojik ve biyokimyasal değişiklikleri incelediler. Oluşan hasarı histolojik olarak ; intraalveoler ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal hemoraji alanları ve alveoler destrüksiyon bulgularına göre derecelendirdiler. Reperfüzyon hasarının biyokimyasal göstergeleri olarak da dokuda MPO ve MDA değerlerini çalıştılar. Artmış doku MPO değerlerini lökosit infiltrasyonu sonucu oluşan yıkıma, artmış doku MDA değerlerini ise dokuda oluşan lipid peroksidasyonuna bağladılar (99). Yapmış olduğumuz çalışmada kullandığımız doku biyokimyasal markırları ve doku histolojisinin değerlendirilmesi de bu literatürle uyumludur. Akciğer alveollerinde oluşan hücresel hasarın göstergesi olarak BAL LDH değerini çalıştık . Bu değer 2.grupta 1.gruptan ve 3.grupta da 2. gruptan yüksekti. Bu yüksek BAL LDH değerleri istatistiksel olarak anlamlı değildi. 2. ve 3. gruptardaki bu anlamsız BAL LDH yüksekliklerinin sebebi de lökosit infiltrasyonu ve MPO aktivitesi sonucu oluşan alveoler hücre hasarıdır . Tekeli ve arkadaşlarının oluşturduğu deneysel modelde iskemi-reperfüzyon grubunda yükselen MDA değerleri FK506 verilen grupta belirgin olarak azalmıştır. Bu azalma ilacın nötrofil infiltrasyonunu ve serbest radikal oluşumunu azaltması olarak yorumlanmıştır (5) Bizim çalışmamızda da 2. grubun akciğer dokusunda yükselen MDA değeri ve doku histolojisindeki lökosit infiltrasyonu bu literatürle uyumluydu. Bu uyum oluşan reperfüzyon hasarının göstergesidir. Dokuda yükselmiş olan MDA değeri oluşan doku hasarında serbest radikal aracılıklı lipid peroksidasyonunun da etkili olduğunu gösterdi. Serbest radikallerin ana kaynağı da dokuda histolojik olarak gösterilen lökositlerdir. TA verilen 3. grupta doku MDA'sındaki azalma dokudaki lökosit infiltrasyonundaki azalmayla ilişkilidir. Doku MDA'sındaki azalma lökosit infiltrasyonunda azalma sonucunda oksidatif stresin ve serbest radikal aracılıklı lipid peroksidasyonunun azaldığının göstergesidir. Eş zamanlı olarak serum İMA değerinin de düşmüş olması bu bulguyu desteklemektedir. Dokudaki lökosit infiltrasyonunun azalmasıyla serum İMA ve doku MDA değerlerinde azalma olduğu gözönünde bulundurulursa takipte doku MPO değerinde de azalma beklenebilir.

Çalıştığımız arteriyel kangazı parametrelerinden pH değeri 2. grupta 1.gruba göre daha düşüktü. Bu bulgu 2. grupta oluşan doku hasarı, katabolizma ve hipoksinin göstergesi olmakla

birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi . pH değeri 3.grupta ise 2.gruba göre yüksek olmakla birlikte bu yükseklik de istatistiksel olarak anlamlı değildi. PO_2 ve SaO_2 değerleri 2.grupta 1.gruba göre daha düşüktü. Bunun sebebi 2. grupta lökosit infiltrasyonu sonucu oluşan ödem ve parankim dejenerasyonudur. Ayrıca alveoler kapillerlerde oluşan trombozlar da bunda etkilidir. Ancak bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu değerler 3.grupta 2.gruba göre yüksekti. Bu yüksekliğin muhtemel sebebi ilaca bağlı olarak dokudaki enflamasyonun ve kapiller trombüslerin azalmış olmasıdır. Ancak bu yükseklik de istatistiksel olarak anlamlı değildi. PCO_2 değeri ise 2.grupta 1. gruba göre yüksekti. Bunun muhtemel sebebi de yine ödem, parankim dejenerasyonu ve kapiller trombozlardır. Yapılan istatistiksel analizde 2. gruptaki PCO_2 yüksekliği de anlamlı bulunmadı. 3.grubun PCO_2 değeri ise 2. gruptan düşüktü. Bu düşüklüğün muhtemel sebebi de ilaca bağlı olarak dokuda enflamasyon ve kapiller tromboz bulgularında olan azalmadır. 3.grubun PCO_2 değerindeki bu azalma da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca HCO_3^- ve BE değerlerindeki değişimlerde de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bu bulgularla TA'in 3. grupta akciğer fonksiyonlarında anlamlı bir iyileşme oluşturmadığını düşündük.

Reperfüzyon sürecinde fibrinolitik aktivitenin nasıl etkilendiği ve oluşan reperfüzyon hasarında fibrin yıkım ürünlerinin tespiti için alınan plazma örneklerinde TAT ve D-Dimer çalışıldı. TAT trombüs oluşumu sırasında ortamda artan trombinin antitrombin III ile oluşturduğu bir kompleks yapıdır. Bu kompleks ortamda fazla miktarda trombin bulunduğunda oluşur. TAT oluşumu koagülasyon kaskadının trombüs oluşumu yönünde ilerlediğini, bir başka deyişle tromboza eğilim olduğunu gösterir. D-Dimer ise fibrinolitik aktivite ile plazmin tarafından yıkılan fibrinden oluşan spesifik bir yıkım ürünüdür. Trombüs oluşumuna yanıt olarak fibrinolitik aktivite oluştuğu için TAT ve D-Dimer düzeyleri oluşan fibrinolitik aktivite hakkında bilgi vericidir. Çalışmış olduğumuz plazma TAT değerleri 2.grupta 1.gruptan yüksek ve 3. grup ile yaklaşık olarak aynıydı. Grupların bu TAT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. D-Dimer değerleri de 2.grupta 1.gruptan yüksek ve yaklaşık olarak 3.grupla aynıydı. Grupların D-Dimer değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Sonuçta gruplar arasında TAT ve D-Dimer değerlerinde anlamlı fark oluşmaması koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerin aktifleşmediğini gösterdi. Sassa ve arkadaşları da akut DVT'li hastalarda yaptıkları bir çalışmada fibrinolitik aktivitenin gösterilmesi için TAT ve D-Dimer değerlerini ölçtüler. Akut DVT tanısı konulmuş olan hasta grubunda TAT ve D-Dimer değerlerinin DVT'si olmayan

kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiğini gösterdiler. Bu yükselmenin akut DVT’de artan koagülasyon ve fibrinolitik aktivitelerin sonucu olduğunu belirtirler (106). Tromboz durumlarında aktifleşen fibrinolitik sistem antifibrinolitik sistem ile dengelenmeye çalışılır. Antifibrinolitik bir ajan olan TA kullanarak yaptığımız bu çalışmada antifibrinolitik aktivitenin nasıl değiştiğini göstermek için alınan plazma örneklerinde TAFİ düzeyi çalışıldı. TAFİ trombin tarafından aktiflenen endojen bir antifibrinolitik markıdır. TAFİ fibrinin plazmine bağlanmasını sağlayan lizin derivelerini fibrinden ayırır. Lizin derivelerinin fibrinden ayrılması plazminin fibrine bağlanmasını önler. Böylece plazminin fibrinolitik etkisi önlenmiş olur. Çalışmış olduğumuz plazma TAFİ değerleri 2.grupta 1.gruptan daha yüksekti. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Plazma TAFİ değeri 3. grupta 2. gruptan düşüktü. Ancak bu düşüklük de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sonuç olarak oluşan patogeneze esnasında anlamlı fibrinolitik aktivite değişimi olmadığından dolayı anlamlı antifibrinolitik aktivite değişimi de oluşmadı. Ware ve arkadaşları fare, rat ve insanlarda akut akciğer hasarının patogenezinde koagülasyon sistemi ve fibrinolitik sistemin majör sebep olduğunu vurgulamışlardı (107). Ancak bizim reperfüzyon hasarı oluşturduğumuz 2. grupta fibrinolitik ve antifibrinolitik aktivite değerlerinin istatistiksel olarak anlamsızlığı sistemik olarak ortaya çıkan reperfüzyon hasarının fibrinolitik etkiden bağımsız olduğunu düşündürdü. Plazmada çalışılan hematolojik parametrelerin reperfüzyonun oluşturduğu sistemik yanıtı açıklayamaması dokuda oluşan reperfüzyon hasarında da fibrinolitik etkinin başlangıç noktası olmayabileceğini düşündürdü.

Bu bulguların sonucunda dokuda oluşan reperfüzyon hasarını iki aşamada açıklayabiliriz; birinci aşamada dokuda lökosit aktivitesi sonrası reperfüzyon hasarı oluştu. Oluşan hasar sistemik enflamatuar yanıtta olduğu gibi fibrinolitik etkiden bağımsız gelişmiş olabilir. Hasar oluşan bölgelerde dokudaki dejenerasyon sonrasında hemoraji alanları oluştu. Ayrıca hasar sonrasında zedelenen kapiller endoteli bölgelerinde koagülasyonun aktifleşmesi sonucunda kapiller trombüsler oluştu. 2. grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan fibrinolitik ve antifibrinolitik aktivite artışlarının muhtemel sebebi de bu kapiller trombüsler olabilir. İkinci aşamada oluşan hemoraji ve kapiller trombüsler muhtemelen bu alanlarda fibrinolitik sistemi aktifleştirdi. Bu lokalize doku alanlarında aktifleşen fibrinolitik sistemin temel enzimi olan plazmin tarafından enflamatuar hücre aktivasyonu, endotelyal hasar, ekstrasellüler matriks dejenerasyonu ve doku remodelingi oluşturuldu. Endotelyal hasar oluşan bölgelerde yeni trombüslerin oluşması kısır döngü halinde fibrinolitik aktiviteyi daha da artırdı. Bu şekilde

akciğer dokusunda giderek artan fibrinolitik yıkım oluştu. Oluşan yıkımı doku histolojisinde gördük. Şirin ve arkadaşlarının tavşanlarda oluşturduğu alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon modelinde iskemi-reperfüzyon grubunda akciğer dokusunda hafif, orta derecede patolojik değişiklikler oluşurken aprotinin verilen grupta akciğer dokusunda patolojik bulguya rastlanmamıştır. Bu bulgu ile antifibrinolitik tedavinin reperfüzyon hasarını azalttığı sonucuna varılmıştır (7). Köksal ve arkadaşlarının ratlarda oluşturdukları iskemi-reperfüzyon modelinde aprotinin verilen grupta kas dokusu hasar skoru kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Bu bulgu ile aprotininin reperfüzyona bağlı kas hasarını azalttığı sonucuna varıldı (16).

Yapılan bu deneysel çalışmalarda aprotininin reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisi antifibrinolitik ve antienflamatuar özelliklerine bağlandı. Bizim TA kullanmamızdaki amaç da TA'in antifibrinolitik ve antienflamatuar özellikleriyle reperfüzyon hasarını azaltacağı düşüncesiydi. Bu düşüncemizi yapılmış olan önceki çalışmalar desteklemekteydi. Benzer olarak Renckens ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bakteriyal lipopolisakkaritlerin oluşturduğu endotoksemide enflamatuar yanıtı plazmin aktivitesini baskılayarak önlemek istediler. Plazminin bu enflamatuar yanıtta rolü olduğu hipotezinden yola çıktılar. Bu amaçla plazminin proenflamatuar etkisini inhibe eden TA'i kullandılar. Lipopolisakkaritlerin oluşturduğu fibrinolitik aktiviteyi plazma D-Dimer ve plazmin-antiplazmin kompleksinin artışıyla gösterdiler. Çalışmada TA'in lipopolisakkaritlerin artırdığı plazmini azalttığı görüldü. Ancak plazmindeki azalmanın koagülasyon aktivasyonu, granülosit aktivasyonu ve endotel aktivasyonunu etkilemediği görüldü (83). Bu nedenle 3. grupta TA'in sistemik enflamatuar yanıtı baskılamaması bu sonuçla uyumludur. Ancak bu uyumun muhtemel sebebi oluşan sistemik enflamatuar yanıtın fibrinolitik etkiden bağımsız oluşudur.

Edagawa ve arkadaşları ise fibrinolitik aktivitenin IR'nin başlangıç noktası olduğunu düşünüyorlardı. Buna göre artmış plazminin etkisiyle damarlarda endotel hücre hasarı ve vasküler permeabilite artışı oluşuyor, kinin-kallikrein sistemi ve kompleman sistemi aktifleşiyordu. Oluşan fibrin yıkım ürünlerinin artışı da vasküler permeabiliteyi artırıyordu. Bu nedenlerle antifibrinolitik etkinin bu patolojik bulguları düzeltereğini düşündüler. Bu düşünceyle TA'i kullanarak tavşan akciğerinde iskemi-reperfüzyon modeli oluşturdular. Çalışma sonucunda antifibrinolitik aktivite ile reperfüzyon hasarının azaldığı ortaya çıktı (9). Bu çalışmada TA'in reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisinin antifibrinolitik ve antienflamatuar etkilerinden kaynaklandığını bildirdiler. Bizim çalışmamızda gruplar arasında plazma fibrinolitik ve

antifibrinolitik aktivite markırlarında değişim gözlenmedi. Fibrinolitik aktivite gözlenmediği için doğal olarak TA'e bağlı antifibrinolitik aktivite de oluşmadı.

TA kullandığımız 3. grupta doku histolojisinde görülen azalmış lökosit infiltrasyonu ve azalmış parankim dejenerasyonunun muhtemel sebebi ise ilacın antienflamatuar etkisidir. Akciğer dokusunda oluşan hemoraji ve kapiller trombüsler nedeniyle artan plazmin aktivitesinin ilaç tarafından baskılanması antienflamatuar etkinin nedenidir. Azalma olmayan doku ve plazma MPO değerlerinde, takipte dokudaki lökosit infiltrasyonunun azalmasına sekonder azalma beklenebilir . Antienflamatuar etkiyle akciğer dokusunda hasarı azaltan TA'in aynı etkiyle sistemik enflamatuar cevabı azaltmamasının nedeni ise sistemik yanıtta fibrinolitik aktivitenin oluşmamış olmasıdır. Fibrinolitik aktivite oluşmadığı durumlarda TA'in antienflamatuar etkisi görülmez . Çünkü TA antienflamatuar etkiyi plazmin varlığında gerçekleştirir.

Oksidatif strese bağlı serbest radikal üretiminin göstergeleri olan doku MDA ve serum İMA değerleri 3. grupta anlamı olarak azaldı. Plazma MDA değerinde azalma olmadı. Serbest radikallerin ana kaynağının lökositler olduğu düşünülürse doku MDA ve serum İMA değerlerindeki azalmanın da ilacın antienflamatuar etkisinden kaynaklandığı söylenebilir. Doku MDA'sındaki azalma dokudaki lökosit infiltrasyonunun azalmasının bir sonucudur. Takipte doku MDA'sındaki azalmaya paralel olarak plazma MDA'sında da azalma beklenebilir.

TA kullanılan 3. grupta doku histolojisindeki interalveoler hemoraji ve intrakapiller trombüslerin 2. gruba göre azalmış olmasının muhtemel sebebi ilacın antifibrinolitik etkisinden ziyade antienflamatuar etkisidir. Şayet bu etki, antifibrinolitik aktivite ile oluşsaydı 3. grupta kapiller trombüs ve hemoraji alanları azalmayacaktı. Bu durumda ilacın antienflamatuar etkisi ile reperfüzyon fazında oluşan kapiller endotelial hasarı azalttığı ve azalmış hasar bölgelerinde daha az trombüs oluştuğu sonucunu çıkarabiliriz.

Çalışmamızda bu bulguların ışığında varılan sonuç; 2. ve 3. grupta akciğer dokusunda reperfüzyon nedeniyle endotelial hasar oluştu. Oluşan hasar dokuda hemoraji ve kapiller endotellerinde trombüs oluşturdu. Bunun sonucunda aktifleşen fibrinolitik sistem plazminin etkisiyle reperfüzyon hasarını daha da artırarak dokuda dejenerasyon yaptı. Bu sonuç akciğer dokusundaki değişikliklerde fibrinolitik aktivitenin rolü olduğunu gösterir . Ancak bu rol reperfüzyon hasarından sonra dokudaki hemoraji ve kapiller trombüslere sekonder gelişmişti. Oluşan bu muhtemel patogenetik mekanizma Idell'in yazdıkları ile örtüşüyordu (100).

TA dozu ile ilgili 20-300mg/kg gibi geniş bir doz aralığı ile yapılmış çeşitli çalışmalar vardır. Biz çalışmamızda 100 mg/kg gibi ortalama bir doz kullandık. Edagawa ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada 200mg/ kg olarak kullanmışlardır(9). İnsanlarda önerilen antifibrinolitik doz hakkında da kesinlik olmamakla birlikte klinik duruma ve endikasyona göre 30-150 mg/kg olarak değişmektedir.

TA'in plazmin tarafından oluşturulan proenflamatuar etkiyi önleyerek antienflamatuar etki gösterdiğini düşünürsek çalışmanın sonuçlarını daha iyi anlayabiliriz. Şöyle ki; 2. grupta plazma da fibrinolitik aktivite oluşmadığından plazmin oluşmamıştır. Bu nedenle plazmada oluşan sistemik reperfüzyon yanıtında plazminin etkisi yoktur. Plazmin oluşmadığı için TA verdiğimiz 3. grupta ilacın antienflamatuar etkisi oluşmamış ve sistemik enflamatuar yanıt azalmamıştır. Oysa 2.grupta akciğer dokusunda reperfüzyon hasarının devamında interalveoler hemoraji ve intrakapiller trombüsler oluştu. Bu hemoraji ve trombüsler nedeniyle lokalize hasar alanlarında fibrinolitik sistem aktifleşmiş ve plazmin oluşmuştur. Oluşan plazmin enflamasyonu şiddetlendirerek doku yıkımını artırmıştır. TA verdiğimiz 3. grupta ilaç plazminin proenflamatuar etkilerini ortadan kaldırarak plazminin oluşturduğu hasarı önlemiştir.

Plazmada oluşan sistemik yanıt sırasında fibrinolitik aktivite gözlenmemesinin nedeni abdominal aortaya klemp konulmadan önce ratlara heparin vermiş olmamızdır. Bu uygulama vasküler cerrahide klemp konulabilmesi için gereklidir. Fibrinolitik aktivite oluşmadığından olayı TA plazmada antifibrinolitik ve antienflamatuar etki oluşturamadı. Bu nedenle sistemik yanıt gerilemedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ratlarda deneysel iskemi-reperfüzyon sendromuna bağlı akciğer hasarını azaltmada TA'in etkinliği plazma ve akciğer dokularındaki bazı biyokimyasal ve histolojik parametrelerle incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Plazma MDA değerlerinde 2. grupta 1. gruba göre anlamlı yükseklik mevcuttu ($p=0.0001$), 3. grupta ise 2. gruba göre anlamlı farklılık yoktu. Bu bulgu 2. grupta sistemik olarak lökosit aktivasyonuna bağlı lipid peroksidasyonunun olduğunu ancak 3. grupta bu aktivasyonların baskılanmadığını gösterdi.
2. Plazma MPO değerleri 2. grupta 1. gruba göre anlamlı derecede yükselmişti ($p=0.0001$). 3. grupta ise azalmış olmakla beraber 2. gruba göre anlamlı fark yoktu. Bu bulgu 2. grupta 1. gruba göre sistemik lökosit aktivasyonu olduğunu, 3. grupta bu aktivasyonun yeterli düzeyde azalmamış olduğunu gösterdi.
3. Serum İMA değerleri 2. grupta 1. gruba göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0007$). 3. grupta ise 2. gruba göre anlamlı derecede düşük ve 1. gruba yakın bulunmuştu ($p=0.001$). Bu bulgu 2. grupta oksidatif strese yol açan sistemik lökosit aktivasyonunun olduğunu ve 3. grupta TA ile oksidatif stresin anlamlı derecede azalmış olduğunu gösterdi.
4. Plazma TAT ve D-Dimer değerinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. D-Dimer değerlerinin gruplar arasında değişmemesi çapraz bağlı fibrinin oluşmadığını gösterirken, TAT düzeylerinin belirgin artmaması kullanılan heparin ile ilişkilendirildi.
5. Plazma TAFI değerlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Bu bulgu endojen antifibrinolitik aktivitede değişiklik olmadığını gösterdi. Sonuçta sistemik fibrinolitik aktivite oluşmadığı için endojen antifibrinolitik aktivite de oluşmadı..
6. Serum ALT ve LDH değerleri 2.grupta 1.gruba göre yükselmiş olmakla beraber bu yükselme anlamlı derecede değildi. Bu değerler 3. grupta TA nedeniyle düşmüş olmakla beraber bu düşüş de anlamlı değildi.
7. BAL sıvısında LDH değeri 1. ve 2. gruplarda yaklaşık olarak aynı, 3. grupta ise 1. ve 2. gruptan yüksekti. Ancak gruplar arasında BAL LDH değeri açısından anlamlı fark yoktu.

8. Arteriyel kan gazı grup değerleri arasında anlamlı fark yoktu. Bu bulgu akciğer fonksiyonlarının IR grubunda ölçülebilir derecede bozulmamış olduğunu göstermektedir. İskemi ve reperfüzyon süreleri artırıldığında akciğer fonksiyonları daha belirgin olarak bozulabilir.

9. Akciğer dokusu MDA değeri 2.grupta 1.gruptan anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0001$). 3.grupta ise 2. gruba göre anlamlı derecede düşmüştü ($p=0.006$). Bu bulgu 2. grupta dokuda lökosit infiltrasyonuna bağlı olarak lipid peroksidasyonu olduğunu gösterdi. 3. grupta ise TA'e bağlı olarak bu bulguda azalma oluştu.

10. Akciğer dokusu MPO değeri 2. grupta 1. gruba göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.001$). 2. ve 3. gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Bu bulgu akciğer dokusunda IR'a bağlı olarak lökosit infiltrasyonu oluştuğunu ancak TA verilmesiyle bu infiltrasyonun azaltılmadığını gösterdi. Ancak MDA azalması mevcut lökositlerin inflamatuvar prosesinin azaldığını göstermekteydi.

11. Histopatolojik incelemede akciğer doku hasarı 2. grupta 1. gruba göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0.008$). 3. grupta TA ile doku hasarı bir miktar azalmakla birlikte farklılık anlamlı değildi. Ayrıca 3. grupta alveol kapillerlerinde trombüs ve interalveoler hemoraji alanlarında 2. gruba göre azalma mevcuttu. Sistemik fibrinolitik ve antifibrinolitik aktivitelerde değişiklik olmadığı için bu bulgular TA'ın sistemik değil lokal antienflamatuvar etkisiyle açıklanabilir.

12. Sistemik heparinizasyondan dolayı sistemik fibrinolizis oluşmamış; bu nedenle TA, sistemik olarak antifibrinolitik ve antienflamatuvar etki göstermemiştir.

Akciğer dokusunda ise kapiller trombüslerden dolayı lokalize olarak TA etkisi ile enflamasyon azalmıştır. Bu etki lokal plazmin oluşumu nedeniyle olabilir. Enflamasyonun azalması antifibrinolitik etkiyle olsaydı TA grubunda kapiller trombüsler ve hemoraji alanları azalmayacaktı.

13. Sonuç olarak sistemik heparinizasyon altında oluşturulan deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde akciğer hasarı oluşmuş, TA bu hasarı azaltmıştır. TA bu etkiyi sistemik antifibrinolitik olarak değil, sistemik oksidatif stresi azaltarak ve Akciğer dokusunda lipid peroksidasyonunu azaltan lokal antienflamatuvar etkide bulunarak göstermiştir.

14. Yapmış olduğumuz çalışma literatürde TA'in kullanıldığı sınırlı sayıdaki reperfüzyon çalışmalarının bir devamı niteliğindedir. Bulduğumuz sonuçların literatürdeki sonuçlarla ortak yönleri mevcuttur. Bu nedenle TA'in değişik iskemi-reperfüzyon modelleriyle ve farklı ilaç dozlarıyla çalışılması faydalı olacaktır.

7. ÖZET

RATLARDA GEÇİCİ ABDOMİNAL AORT OKLÜZYONU SONRASINDA OLUŞAN AKCİĞER HASARININ AZALTIKILMASINDA TRANEKSAMİK ASİDİN ROLÜ

İskemi ve reperfüzyon hasarının azaltılması için çeşitli ilaçlar, reperfüzyon modelleri ve teknikleri kullanılmıştır. Bunlardan en sık kullanılanları nötrofil aktivasyonunu ve serbest radikal oluşumunu önleyici maddelerdir. Bu çalışmanın amacı; ratlarda aortik iskemi-reperfüzyon modeli kullanılarak oluşturulan uzak organ hasarı üzerine bir antifibrinolitik ajan olarak kullanılan traneksamik asid (TA)'in etkisinin araştırılması, varsa bu etkinin lökosit proteinazları inhibisyonuyla mı yoksa antifibrinolitik sistem üzerinden mi olduğunun belirlenmesidir.

Çalışmada ratlarda aortik iskemi-reperfüzyon modeli kullanıldı. Çalışmada 23 adet Spraque Dawley cinsi erkek rat kullanıldı ve denekler 3 gruba ayrılarak 1. gruba sadece laparotomi ve aort eksplorasyonu, 2. ve 3. gruplara infrarenal aort klempini koyularak 1 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulandı. Aortik klempleme öncesinde 2. gruptaki deneklere intravenöz yolla 1 ml serum fizyolojik, 3. gruptaki deneklere intravenöz yolla 100mg/kg TA verildi. Üç gruba da laparotomi sonrasında 70 U/kg Heparin iv verildi. Deneylerin bitiminde biyokimyasal parametreler için kan alındı. Sternotomi yapıldı ve sol akciğer histopatolojik incelemeler için klemplenerek çıkarıldı, sağ tarafa bronkoalveolar lavaj yapıldı.

Plazma MPO, MDA, TAT, TAFİ, BAL LDH ve ALT değerlerinde 2. Grupta belirgin yükselme varken TA verilen 3. grupta anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Serum IMA değeri TA grubunda anlamlı decede düşüktü ($p=0.001$). Akciğer dokusunda MDA 3. grupta anlamlı derecede düşüktü ($p=0.006$). Histopatolojik incelemede 3. grupta alveol kapillerlerinde trombüs ve interalveolar hemoraji alanlarında 2. gruba göre azalma mevcuttu.

Sonuç olarak sistemik heparinizasyon altında oluşturulan deneysel iskemi reperfüzyon modelinde akciğer hasarı oluşmuş, TA bu hasarı azaltmıştır. TA bu etkiyi sistemik antifibrinolitik olarak değil, sistemik oksidatif stresi azaltarak ve akciğer dokusunda lipid peroksidasyonunu azaltan lokal antienflamatuar etkide bulunarak göstermiştir. Sistemik fibrinolitik ve antifibrinolitik aktivitelerde değişiklik olmadığı için bu bulgular TA'in sistemik değil lokal antienflamatuar etkisiyle açıklanabilir.

8. SUMMARY

THE ROLE OF THE TRANEXAMIC ACID ON REDUCING OF PULMONARY INJURY DUE TO TRANSIENT ABDOMINAL AORTIC OCCLUSION IN RATS

Several drugs, reperfusion models and techniques have been used to reduce the damage of ischemia and reperfusion. The substances that prevent neutrophil activation and free radical formation are the ones that most commonly used. The aim of this study is to research the effect of an antifibrinolytic agent, tranexamic acid (TA), on the injury of distant organs by using the aortic ischemia reperfusion model in rats, and if an effect exists to determine whether this is mediated by inhibition of leucocyte proteinases or an antifibrinolytic system.

In the study, a model of aortic ischemia reperfusion in rats was used. Twenty-one male Sprague-Dawley type rats were used and subjects were divided into three groups; first group only received laparotomy and aort exploration, in second and third groups 1 hour of ischemia and 2 hours of reperfusion was administered following infrarenal aortic clamp placement. In second group before clamp placement the rats received 1 ml of IV saline while the second group received IV 100mg/kg TA. Following laparotomy IV 70 U/kg heparine was administered to all groups. To study biochemical parameters blood samples were taken at the end of the tests. Sternotomy was performed and left lung was extracted by clamping for histopathological examination, bronchoalveolar lavage was applied to the right lung.

While there was a significant rise in plasma MPO, MDA, TAT, TAFI, BAL LDH and ALT values in the 2nd group, no significant difference was observed in the 3rd group. Serum IMA value was significantly low in TA group ($p=0.001$). MDA levels in the lung tissue of 3rd group was significantly lower ($p=0.006$). In histopathological evaluation thrombosis of alveolar capillaries and in interalveolar haemorrhage was also lower in the 3rd. group compared to the 2nd. group.

As a result, lung injury was developed by the model of experimental ischemia reperfusion under systemic heparinization which was reduced by TA administration. TA showed this effect by acting not only as an antifibrinolytic, but also reducing systemic oxidative stress and acting as a local effect that decreased lipid peroxidation in lung tissue. Since there was not any change in

the fibrinolytic and antifibrinolytic activities, these findings can be explained by not systemic but the local anti inflammatory effects of TA.

9. KAYNAKLAR

- 1- Kandilci H.B, Gümüsel B: Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 25 (1):5-49, 2005
- 2- Aktan A.Ö, Yalçın A.S: Ischemia-Reperfusion Injury, Reactive Oxygen Metabolites, and the Surgeon. Turk J Med Sci, 28(1): 1-6, 1998
- 3- Ekim H, Erdoğan H.B, Kutay V, Başel H, et al: Abdominal Aortaya Kros Klemp Konmasının Neden Olduğu İskemi/Reperfüzyon Hasarının Akciğerlere Etkisi. Van Tıp Derg, 12 (3):175-178, 2005
- 4- Gökşin İ, Akbulut M, Baltalarlı A, Saçar M, et al: Normovolemik hemodilüsyonun alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonu sonrası oluşan akciğer hasarı üzerine olan etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg, 14(1):54-58, 2006
- 5- Tekeli A, Akgün S, Civelek A, Üçbir S, et al: Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyonu sonucunda Gelişen Akciğer Hasarının Önlenmesinde Farklı Bir Ajan: FK 506 (Takrolimus). Turkish J Thorac Cardiovasc Surg, 9:242-246, 2001
- 6- İşbir S, Akgün S, Ak K, Zeybek Ü, et al: Akut Alt Ekstremitte iskemi/Reperfüzyon Hasarının Akciğer Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Olan Etkisi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg, 8:2, 629-31, 2000
- 7- Şirin H, Sarıbülbül O, Cerraoglu M., Baltlarlı A, et al: Alt Ekstremitte iskemi Reperfüzyonunun Yol Açtığı Pulmoner Hasarda Aprotinin'in Koruyucu Etkinliği. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg, 9:233-237, 2001
- 8- Nwose P.E, Regueira F.M, Sierra A, Diez-Caballero A, et al: Effect of Treatment with Tranexamic Acid on Complement Activation and İschemia Reperfusion in Liver Transplantation

in Pigs. Ischemia–reperfusion injury; postoperative liver function. Transplantation Proceedings, 31(6), 2431-2432, 1999

9- Edagawa M, Yoshida E, Matsuzaki Y, Shibuya K, et al: Reduction of post-ischemic lung reperfusion injury by fibrinolytic activity suppression. Transplantation 67(7):944-949, 1999

10- Berkan Ö, Katracıoğlu N, Günay İ, Yıldız E: Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyona Bağlı Gelişen Akciğer Hasarında Askorbik Asidin Etkisi. Turkish J Thorac Cardiovasc Surg, 9:238-241, 2001

11- Kiriş İ, Okutan H, Savaş Ç, Yönden Z, et al: Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Renal Hasara Gadolinium Klorürün Etkisi. Turkish Journal Vasc. Surgery, 14 (2):13-18, 2005

12- Bostancı K, Toker A, Bayrak Y, Toker G: Akciğerin iskemi-Reperfüzyon Hasarını Engellemede Teofilinin Yeri ve Uygun Dozu. Toraks Dergisi, 3(2):126-131, 2002

13- Baltalarlı A, Çolakoğlu N, Önem G, Gökşin İ, et al: İskemik Preconditioning, Sıçanlarda Bilateral Alt Ekstremitte İskemi/Reperfüzyonuna Bağlı Gelişen Akciğer Hasarını Artırır. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg, 8:1, 537-9:2000

14- Kabay B, Teke Z, Aytekin F Ö, Yenisey Ç: Pyrrolidine Dithiocarbamate Reduces Lung Injury Caused by Mesenteric Ischemia/Reperfusion in a Rat Model. World Journal of Surgery, 31:1707-1715, 2007

15- R Pararajasingam., Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML, et al: Endogenous Renal Nitric Oxide Metabolism Following Experimental İnfrarenal Aortic Cross-Clamp-İnduced İschaemia-Reperfusion İnjury. British Journal of Surgery, 86:795-799, 1999

16-Köksal C, Bozkurt AK, Sirin G, Konukoglu D, et al: Aprotinin Ameliorates İschemia/Reperfusion İnjury in a Rat Hind Limb Model. *Vascular Pharmacology*, 41(4-5), 125-129, 2004

17- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL: *Cell İnjury and Adaptation. Basic Pathology USA*, W.B. Saunders Company, 5-9, 1992

18- Ege T: Kalp ve Damar Hastalıklarında İskemi-Reperfüzyon Hasarı. *Duran Kalp Damar Cerrahisi. I.Baskı.Çapa Tıp Kitabevi.* 197-215 , 2004

19- Li C, Jackson RM: Reactive Species Mechanism of Cellular Hypoxia-Reoxygenation İnjury. *Am J physiol Cell Physiol*, 82:227-241, 2002

20- Augoff K, Grabowski K: Significance of Lactate Dehydrogenase Measurements in Diagnosis of Malignancies. *Pol Merkuriusz Lek*, 17(102):644-7, 2004

21-Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Dasdibi B, et al: Investigation of the Possibility of Using İschemia-Modified Albumin as a Novel and Early Prognostic Marker in Cardiac Arrest Patients after Cardiopulmonary Resuscitation. *Resuscitation*, 80(9):994-999, 2009

22-Günaydın B, Çelebi H: Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller ve Antioksidanlarla İlişkisi. *Anestezi dergisi*, 11(2):87-98, 2003

23- Kim Yh, Koh Jy. The role of NADPH Oxidase and Neuronal Nitric oxide Synthase in Zinc-57THOD induced Poly (ADP-Ribose) Polymerase Activation and Cell Death in Cortical Culture. *Exp Neurol*, 177:407-18, 2002

24- Reilly PM, Schiller J, Bulkley GB: Pharmacological Approach to Tissue İnjury Mediated Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. *Am J Surg*, 161: 488-503, 1991

- 25- Canoruç N, Çiçek R, Atamer A, Dursun M, et al: Protective Effects of Vitamin E Selenium and Allopurinol Against Stres-induced Ulcer Formation in Rats. Turk J med Sci, 31:199-203, 2001
- 26-Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW: Fizyolojik öneme sahip lipidler.Harper's Biyokimya, 24. baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 1996
- 27- Değer S, Değer Y, Ertekin A, Gül A, et al: Dictyocaulus viviparus ile enfete sığırlarda Lipit Peroksidasyon ve Antioksidan durumunun saptanması. Türkiye Parazitoloji Derg, 32(3): 234-237, 2008
- 28- Rio DD, Stewart AJ, Pellegrini N: A Review of Recent Studies on Malondialdehyde as Toxic Molecule and Biological Marker of Oxidative Stress. Nutrition, Metabolism & Cardiovasc Disease, 15:316-328, 2005
- 29- El-Yassin HD, Hasso NMA, Al-Rubayi HA: Lipid Profile and Lipid Peroxidation Pattern Pre and Post Exercise in Coronary Artery Disease. Turk J Med Sci, 35:223-228, 2005
- 30- Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S: Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by Nitric oxide. Potential role in Atherogenesis. Federation of European Biochemical Societies Letters (FEBS Lett), 334:170-4, 1993
- 31- Demiryürek AT, Kennedy S, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA: Influence of Nitric Oxide on Luminol-Enhanced Chemiluminescence Measured from Porcine-Stimulated Leukocytes. J Cardiovasc Pharmacol 30, 332-7, 1997
- 32- Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB: Nitric oxide, an endothelial cell relaxant factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. J Clin Invest 90, 1116-1121, 1992

- 33- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, et al: Apparent Hydroxyl Radical Production by Peroxynitrite. Implications for Endothelial Injury from Nitric Oxide and Superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87:1620-1624, 1990
- 34- Bernovky C: Nucleotide Chloramines and Neutrophil Mediated Cytotoxicity. *FASEB J* 5:295-300, 1991
- 35- Chakraborty N, Tripathy BC : Involvement of Singlet Oxygen in 5-Aminolevulinic Acid-induced Photodynamic Damage of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Chloroplasts'. *Plant Physiol.* 98, 7-11 ,1992
- 36- Roos A, Bouwman LH, Munoz J, et al: Functional Characterization of the Lectin Pathway of Complement in Human Serum. *Mol Immunol*, 39: 655-658, 2003
- 37- Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML: The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 53: 31-47, 2002
- 38- Robert-Offerman SR, Leers MP, Van Suylen RJ, Nap M et al: Evaluation of the Membrane Attack Complex of Complement for the Detection of a Recent Myocardial Infarction in Man. *J Pathol*, 191:48-53, 2000
- 39- Tedesco F, Pausa M, Nardon E, Introna M: The Cytolytically Inactive Terminal Complement Complex Activates Endothelial Cells to Express Adhesion Molecules and Tissue Factor Procoagulant Activity. *J Exp Med*, 185: 1619-27, 1997
- 40- Ikeda K, Nagasawa K, Horiuchi T, Tsuru T et al: C5a Induces Tissue Factor Activity on Endothelial Cells. *Thromb Haemost*, 77:394-398, 1997
- 41- Gautam N, Olofsson AM, Hervald H, et al: Heparinbinding Protein (HBP/CAP37): A Missing Link in Neutrophil-Evoked Alteration of Vascular Permeability. *Nat Med*, 7(10):1123-1127, 2001

- 42- Bombeli T, Mueller M, Haeberli A: Anticoagulant Properties of the Vascular Endothelium. *Thromb Haemost*, 77(3): 408-423, 1997
- 43- Wu KK, Thiagarajan P: Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med*, 47:315-331, 1996
- 44- Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, et al: The endothelial Cell ecto-ADPase Responsible for İnhibition of Platelet Function is CD39. *J Clin Invest*, 15;99(6):1351-1360, 1997
- 45- Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC, et al: Hypoxia-İnduced 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
- 46- Seccombe JF, Schaff HV: Coronary Artery Endothelial Function after Myocardial İschemia and Reperfusion. *Ann Thorac Surg*, 60(3):778-788, 1995
- 47-Yörüker S, Akkuş M: Selektinler. *Dicle Tıp Dergisi (Journal of Medical School)*, 27(2), 171-179, 2000
- 48- Özkaya N, Tumer N, Yalçınkaya F, Ekim M: Renal Hastalıklarda Antinötrofil Sitoplazmik Antikorlar. *Türk Nefroloji Dializ ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association*, 1:1-4, 1998
- 49- Develioğlu AH, Taner İL: Myeloperoksidaz'ın Özellikleri ve Periodontal Hastalıklardaki Önemi. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 1(1), 24-27, 1998
- 50- Belkin M, Wright JG, Hobson RW: Iloprost İnfüsion Decreases Skeletal Muscle İscheamia-Reperfusion İnjury, *J Vasc Surg* 11:77-83, 1990

51- Hayes G, Liauw S, Smith A et al: Exogenous Magnesium Chloride-adenosine Triphosphate administration During Reperfusion Reduces the Extent of Necrosis in Previously Ischemic Skeletal Muscle. *J Vasc Surg*, 11: 441-448, 1990

52-Harada N, Okajima K, Murakami K, Usune S et al: Adenosine and Selective A_{2A}Receptor Agonists Reduce Ischemia/Reperfusion Injury of Rat Liver Mainly by inhibiting Leukocyte Activation . *JPET* 294:1034-1042, 2000

53- Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ: Neutrophil Mediated Microvascular Dysfunction in Posts ischemic Canine Skeletal Muscle. *Circ Res*, 66:1436-1444, 1990

54- Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN: Leukocyte Depletion Attenuates Vascular Injury in Posts ischemic Skeletal Muscle. *Am J Physiol*, 254:823-827, 1988

55- Walden DL, McCutchan HJ, Enquist EG: Neutrophils Accumulate and Contribute to Skeletal Muscle Dysfunction after Ischemia-Reperfusion. *Am J Physiol* 259:1809-1812, 1990

56- Yokata J, Minei JP, Fantini GA et al: Role of Leukocytes in Reperfusion Injury of Skeletal Muscle after Partial Ischemia. *Am J Physiol*, 257:1068-1075, 1989

57-Haimovici H: Metabolic Complications of Acute Arterial Occlusions and Skeletal Muscle Ischemia: Myonephropathic-Metabolic Syndrome. Haimovici *Vascular Surgery*, Fourth edition ,pp.509-530, 1996

58- Groeneveld AB, Raijmakers PG, Rauwerda JA, Hack CE: The Inflammatory Response to Vascular Surgery Associated Ischemia and Reperfusion in Man: Effect of Postoperative Pulmonary Function. *Eur J Endovasc Surg*, 14: 351-359, 1997

59- Gaines GC, Welborn MB, Moldawer LL, Huber TS, et al: Attenuation of skeletal muscle ischemia-reperfusion by tumor necrosis factor. *J Vasc Surg*, 29:370-376, 1999

- 60- Bengisun U, Köksoy C, Bengisun JS, Bayraktaroglu G, et al: Ischemia and Reperfusion of Pulmonary Hypertension and Leukosequestration Following Lower Limb Ischemia. *Prost Leuko Essen Fatty Acids*, 56:117-20, 1997
- 61- İsbir CS, Akgün S, Ak K, Zeybek Ü: Akut alt ekstremitte İskemi/Reperfüzyon Hasarının Akciğer Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine olan Etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 8:629-31, 2000
- 62- Rocker MG: Ischemia/Reperfusion, İnflammatory Responses and Acute Lung İnjury. *Thorax* 52:841-842, 1997
- 63- Fantini GA, Conte MS: Pulmonary Failure Following Lower Torso Ischemia: Clinical Evidence For a Remote Effect of Reperfusion İnjury. *Am J Surg*, 61:316-9, 1995
- 64- Rocker GM, Wieseman MS, Pearson D, Shak DJ: Diagnostic Criteria for Adult Respiratory Distress Syndrome: Time for reappraisal. *Lancet* 1:120-3, 1989
- 65- Raijmakers PGHM, Groeneveld ABJ, Rauwerda JA, Teule GJJ, et al: Acute Lung İnjury After Aortic Surger. The Relation Between Lung and Leg Microvascular Permeability to İndium-Labelled Transferrin and Circulating Mediators. *Thorax* 52:866-871, 1997
- 66- Özyurt Y, Erkal H, Demirhan R, Arıkan Z: Akut Respiratuar Distres Sendromu. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg*, 10:126-130, 2002
- 67- Desai SR: Acute Respiratory Distress Syndrome. Imaging of the İnjured Lung. *Clin Radiol* 57:8-17, 2002
- 68- Hill JD, OÖ Brien TG, Murray JJ, et al: Prolonged Extracorporeal Oxygenation for Acute Post-Traumatic Respiratory Failure (shock-lung syndrome). Use of the Bramson Membrane lung. *N Engl J Med*, 286:629-634,1972

- 69- Shoemaker WC, Appel PL, Waxmann K, et al: Clinical Trial of Survivors Cardio respiratory Patterns as Therapeutic Goals in Critically İll Postoperative patients. Crit Care Med, 10:398-403, 1982
- 70- Ogura H, Cioffi WG, Offner PJ, et al: Effect of inhaled NO on Pulmonary Function Following Sepsis in a Swine Model. Surgery, 116:313-21, 1994
- 71- Berkan Ö, Yıldız E, Ayan S, Gökçe G: Ratlarda Geçici Abdominal Aort Oklüzyonu Sonrasında Oluşan Renal Hasarın Azaltılmasında Askorbik Asidin Rolü. Damar Cerrahisi Derg, (1)17-20, 2002
- 72-Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atila K, et al: Sıçandaki Renal İskemi-Reperfüzyon hasarında L-karnitinin Koruyucu Etkisi. Ulusal Travma Derg, 10(3) 160-167, 2004
- 73- Pararajasingam R, Weight SC, Bell PRF et al: Prevention of Renal İmpairment Following Aortic Cross-Clamping by Manipulation of the Endogenous Renal Nitric Oxide Response. Eur J Vasc Endovasc Surg, 19:396-399. 2000
- 74- Ergun O, Ulman C, Kilicalp AS, Ulman I: Carnitine as a Preventive Agent in Experimental Renal İschemia-Reperfusion İnjury. Urol Res, 29:186-189 2001
- 75- Nakano H, Boudjema K, Jaeck D, Alexandre E, et al: Amelioration of Hepetocellular İntegrity and İnhibition of Sinusoidal Oxidative Stress by N-acetylcysteine Pretreatment in cold İschemia-Reperfusion İnjury of rat Liver. Eur Surg Res, 28: 245-255, 1996
- 76-Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N: Status of Myocardial Antioxidants in İschemia-Reperfusion İnjury (Review), Carsdiovascular Research, 47: 446-456, 2000
- 77- Roberts HR, Monroe DM, Hoffman M: Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis: Williams Hematology. 6th Edition. New York, McGraw-Hill, pp. 1409-1435, 2001

- 78- Shafer JA, Higgins DL: Human Fibrinogen. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*, 26:1-5, 1998
- 79- Esmon CT: Regulation of Blood Coagulation. *Biochim Biophys Acta*, 1477:349-360, 2000
- 80- Walker FJ, Fay PJ: Regulation of Blood Coagulation by the Protein C System. *Faseb J*, 6:2561-2567, 1992
- 81- Bajzar L, Nesheim M: The Effect of Activated Protein C on Fibrinolysis in Cell-Free Plasma can be Attributed Specifically to Attenuation of Prothrombin Activation. *J Biol Chem*, 268:8608-8610, 1993
- 82- Dobrovolsky AB, Titeeva EV: The fibrinolysis system: Regulation of Activity and Physiologic Functions of its Main Components. *Biochemistry*, 67:99-108, 2002
- 83- Renckens R, Weijer S, De Vos AF, Pater JM et al: Inhibition of Plasmin Activity by Tranexamic Acid Does Not Influence Inflammatory Pathways During Human Endotoxemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24; 483-488, 2004
- 84- Bouma BN, Marx PF, Mosnier LO, Meijers JC: Thrombin-activatable Fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U). *Thromb Res*, 101(5): 329-354, 2001
- 85- Bajzar L, Nesheim ME, Tracy PB: The profibrinolytic effect of activated protein C in clots formed from plasma is TAFI-dependent. *Blood*, 15;88(6):2093-2100, 1996
- 86- Bajzar L, Morser J, Nesheim M: TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the Coagulation and Fibrinolytic Cascades through the Thrombin-Thrombomodulin Complex. *J Biol Chem*, 12; 271(28): 1603-1608, 1996

87- Bouma BN, Mosnier LO: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) at the Interface between Coagulation and Fibrinolysis. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 33:375-381, 2004

88- Bajzar L, Jain N, Wang P, Walker JB: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor: Not just an Inhibitor of Fbrinolysis. *Crit Care Med*, 32 (5): 320-324, 2004

89- Nesheim ME: TAFI. *Fibrinolysis & Proteolysis*, 13 (2): 72-77, 1999

90-Bajzar L: Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor and an Antifibrinolytic Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20(12): 2511-2518, 2000

91- Wellington K, Wagstaff AJ: Tranexamic acid: a Review of its use in the Management of Menorrhagia. *Drugs*, 63(13):1417-33, 2003

92-Parsson H, Holmberg A, Siegbahn A, Bergqvist D: Activation of Coagulation and Fibrinolytic Systems in Patients with CLI is not Normalized after Surgical Revascularisation. *Eur j Vasc Endovasc Surg*, 27:186-192, 2004

93- Masao E, Etsuo Y, Yasunori M, Kohji S: Reduction of Post-Ischemic Lung Reperfusion Injury by Fibrinolytic Activity Suppression. *Transplantation*, 67(7):944-949, 1999

94- Haithcock BE, Shepard AD, Raman SB, Conrad MF, et al: Activation of Fibrinolytic Pathways is Associated with Duration of Supraceliac Aortic Cross-Clamping. *J Vasc Surg*, 40(2):325-333, 2004

95- M K Sinha, D Roy, D C Gaze, P O Collinson, et al: Role of “Ischemia Modified Albumin”, a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes *Emerg Med J*, 21:29-34, 2004

96- Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, et al: Characterization of the Co²⁺ and Ni²⁺ binding amino acid residues of the N-terminus of human albumin. *Eur J Biochem*, 268:42-47, 2001

97-Yagi K: Assay of Blood Plasma or Serum Methods in Enzymology. *Methods Enzymol* 105:328-331, 1984

98-Mihara M, Uchiyama M: Determination of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test. *Analytical Biochemistry*, 86(1):271-278, 1978

99- Tekinbaş C, H.Ulusoy, E. Yulug, A.Alver, et al: One- lung Ventilation: For How Long. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 134(2), 405-10, 2007

100- Idell S, Coagulation, Fibrinolysis, and Fibrin Deposition in Acute Lung Injury. *Crit Care Med*, 31(4):213-221, 2003

101- Jimenez JJ, Iribarren JL, Lorente L, Rodriguez JM, et al: Tranexamic Acid Attenuates Inflammatory Response in Cardiopulmonary Bypass Surgery Through Blockade of Fibrinolysis: a Case Control Study Followed by a Randomized Double- Blind Controlled trial. *Critical Care* 11:117, 2007

102- Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, et al: Plasma Concentrations of Myeloperoxidase Predict Mortality After Myocardial Infarction. *JACC* 49(20):1993-2000, 2007

103-Saçar M, Özcan V, Aybek H, Önem G. et al: Vitamin C and İloprost Attenuate Skeletal Muscle Injury Caused by İschemia-Reperfusion of the Lower Extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 13(4):374-378, 2005

104-Erturk E, Cekic B, Geze S, Kosucu M, et al: Comparison of the effect of propofol and N-Acetyl Cysteine İnpreventing İschaemia-Reperfusion Injury. *European J of Anaesthesiology* 26:279-284, 2009

105-Aytekin FÖ, Tekin K, Kabay B, Tekin M, et al: Deneysel Akut Pankreatit Modelinde Gelişen Akciğer Hasarına Antitrombin III'ün etkisi. *ADÜ Tıp Fakültesi Derg* 5(2):11-14, 2004

106- Sassa H, Sone T, Tsuboi H, Kondo J, et al: Diagnostic Significance of Thrombin-Antithrombin III Complex (TAT) and D-Dimer in Patients With Deep Venous Thrombosis. *Jpn Circ J*, 60:201-206, 1996

107- Ware LB, Camerer E, Welty-Wolf K, Schultz M.J, et al: Bench to Bedside: Targeting Coagulation and Fibrinolysis in Acute lung Injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 291: 307-311, 2006