

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İLOPROST VE N-ASETİLSİSTEİNİN AKUT AORTİK
İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE İSKELET KASI
HASARINA ETKİSİ

Dr. Kamuran ERKOÇ

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İLOPROST VE N-ASETİLSİSTEİNİN AKUT AORTİK
İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE İSKELET KASI
HASARINA ETKİSİ

Dr. Kamuran ERKOÇ

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Bülent TÜNERİR

ESKİŞEHİR
2012

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Kamuran ERKOÇ' a ait "İloprost ve N-asetilsisteinin akut aortik iskemi reperfüzyon modelinde iskelet kası hasarına etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 06.02.2012

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Bülent TÜNERİR Kalp ve Damar Cer. A.D.
Üye	Prof. Dr. Behçet SEVİN Kalp ve Damar Cer. A.D.
Üye	Prof. Dr. Sadettin DERNEK Kalp ve Damar Cer. A.D.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
..... Tarih ve Sayılı Kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özkan ALATAŞ
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve bu tezin başından sonuna kadar desteklerini esirgemeyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Bülent TÜNERİR' e , biyokimyasal çalışmalardaki desteğinden dolayı Prof. Dr. Ömer ÇOLAK' a, histopatolojik değerlendirmemizi yapan Yrd. Doç. Dr. Onur UYSAL' a, istatistiksel değerlendirmemizi yapan Doç. Dr. Canan BAYDEMİR' e teşekkür eder, sonsuz sevgi ve Őükranlarımı sunarım.

ÖZET

Erkoç, K. İloprost ve N-asetilsisteinin Akut Aortik İskemi Reperfüzyon Modelinde İskelet Kası Hasarına Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012. Bu çalışmanın amacı, ratların infrarenal abdominal aortasına uygulanan oklüzyon-reperfüzyon sonrası alt ekstremitte iskelet kasında oluşan iskemi reperfüzyon hasarına, iloprost ve n-asetilsisteinin etkilerini araştırmak ve karşılaştırmaktır. 40 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat (300-350 gr) randomize olarak, eşit sayıda (n=10) dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (Grup 1) laparotomi ve infrarenal abdominal aorta (İAA) diseksiyonu yapıldı ancak iskemi uygulanmadı. İskemi reperfüzyon (İR) grubunda(Grup 2), İAA'ya kros klemp konularak 60 dakika iskemi, ardından klemp kaldırılarak 120 dakika reperfüzyon sağlandı. İR+İloprost grubunda(Grup 3) iskemik periyodun 50.dakikasında, İloprost 2 mcg/kg/h dozunda internal juguler venden infüzyon şeklinde başlandı ve reperfüzyon süresince infüzyona devam edildi.İR+N-asetilsistein(NAC) grubunda(Grup 4) iskemik sürecin 50. dakikasında 20 mg/kg n-asetilsistein internal juguler venden yükleme dozu amacıyla verildi ve 20 mg/kg/h dozunda infüzyona başlandı. İşlem sonunda sağ ventrikülden kan ve gastroknemius kasından doku örnekleri alındı. Histopatolojik incelemede Grup 1 ile Grup 2 arasında anlamlı patolojik değişiklik tesbit edildi. Hemoraji, Ödem, Çizgilenmede kayıp, Nekroz, Fibrozis ve PMNL infiltrasyonu açısından, Grup 3 ve Grup 4 arasında fark görülmedi. Biyokimyasal incelemede, TAS, TOS, CK ve LDH değerleri açısından Grup 3 ve Grup 4 Grup 2' den daha üstün saptandı. TAS değerlerinde Grup 3 ve Grup 4 arasında fark görülmedi. Grup 4' ün TOS, CK ve LDH değerlerini ise Grup 3' den daha fazla arttırdığı saptandı. Sonuç olarak İloprost ve NAC' ın, kas dokusunu iskemi-reperfüzyon hasarından korumada etkili olduğu saptandı. İloprost'un koruyucu etkisinin n-asetilsisteinden yüksek olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: iskemi-reperfüzyon, ödem, TAS, iloprost, n-asetilsistein.

ABSTRACT

Erkoc, K. The Effect of Iloprost and N-acetylcysteine on Skeleton Muscle Injury in a Model of Acute Aortic Ischemia Reperfusion. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Cardiovascular Surgery, Eskisehir, 2012. The purpose of this study is to investigate and confirm the effect of iloprost and NAC on ischemia-reperfusion injury at rats lower limb skeleton muscle after occlusion-reperfusion of infrarenal abdominal aorta (IAA). Forty Sprague-Dawley male rats were randomized to four groups in equal number (n=10). Laparotomy and IAA dissection were applied to the control group (Group 1) without ischemia. Followed by 60 minutes of ischemia by clamping IAA, 120 minutes of reperfusion was provided by removing the clamp in the ischemia-reperfusion group (Group 2). In IR+Iloprost group (Group 3), iloprost infusion was started at a dose of 2 mcg/kg/h from internal jugular vein at the fiftieth minute of ischemia and infusion was continued for the duration of reperfusion. In IR+NAC group (Group 4), 20 mg/kg NAC was given for loading dose at the fiftieth minute of ischemic period and infusion was continued at a dose of 20 mg/kg/h. Tissue samples from gastrocnemius muscle and blood from right ventricle were taken at the end of procedure. Significant pathological changes were detected between Group 1 and Group 2 at the histopathological analysis. Hemorrhage, edema, loss of streaking, necrosis, fibrosis and infiltration of PMNL did not differ between Group 3 and Group 4. TAS, TOS, CK and LDH levels in Group 3 and Group 4 were found superior than Group 2 at the biochemical analysis. TAS values did not differ between Group 4 and Group 3. Group 4 was found to increase TOS, CK and LDH values more than Group 3. As a result, iloprost and NAC is effective in protecting muscle tissue from ischemia-reperfusion injury. We conclude that protecting effect of iloprost is higher than n-acetylcystein.

Key Words: ischemia-reperfusion, edema, TAS, iloprost, n- acetylcystein.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İskemi	3
2.2. Reperfüzyon Hasarı	6
2.3. Serbest Radikaller	8
2.3.1. Serbest Radikallerin Hücresel Etkileri	10
2.3.2. Serbest Radikallerin Toksik Etkileri	11
2.3.3. Serbest Radikal Temizleyici Antioksidanlar	12
2.4. Sodyum-Hidrojen Değişiricisinin Aktivasyonu	13
2.5. Lökosit ve Endotel Etkileşimi	14
2.6. Mikrodolaşım (No-reflow fenomeni)	16
2.7. Nitrik Oksit	16
2.8. İskemi Reperfüzyon Sonrası Oluşan İskelet Kası Hasarı	17
2.8.1. Tarihçe	17
2.8.2. Ekstremitte İskemi Reperfüzyonunun Fiziopatolojisi	18
2.9. İskemi Reperfüzyona Bağlı Oluşan Uzak Organ Hasarı (SIRS)	20
2.10. İskemi Reperfüzyon Hasarını Önlemek İçin Tedavi Stratejileri	21
2.11. İloprost	23
2.12. N-asetilsistein (NAC)	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Deneklerin Hazırlanması ve Operasyon Tekniği	29
3.2. Deney Grupları	30

	Sayfa
3.3. Biyokimyasal İşlemler	31
3.3.1. Total Antioksidan Seviye	31
3.3.2 Total Oksidan Seviye	32
3.4. Kas Dokularının Histopatolojik İncelenmesi	33
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	33
4. BULGULAR	34
4.1. Biyokimyasal Bulgular	34
4.2. Histopatolojik Bulgular	36
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	Adenozin di fosfat
ANP	Atrial natriüretik peptit
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin tri fosfat
BNP	Beyin natriüretik peptit
Ca ⁺	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CK	Kreatin kinaz
C _{5a}	Kompleman faktör 5 a
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
ELAM-1	Endotel lökosit adezyon molekülü
GSH	Glutasyon
GSH-px	Glutasyon Peroksidaz
H	Hidrojen
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
ICAM ₁	İntersellüler hücre adezyon molekülü
IL ₁ β	İnterlökin 1 beta
IL -8	İnterlökin - 8
İAA	İnfrarenal abdominal aorta
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
İR	İskemi-reperfüzyon
K ⁺	Potasyum
KPB	Kardiyopulmoner by-pass
LDH	Laktat dehidrogenaz
LT B ₄	Lökotrien B 4
Na ⁺	Sodyum
NAC	N-asetilsistein
NaCl	Sodyum klorür
NAD	Nikotinamid dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen

NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
OH ⁻	Hidroksil radikali
PAF	Platelet aktive edici faktör
PARS	Poli-ADP-Riboz Sentaz
Pgl ₂	Prostoglandin I 2
PMNL	Polimorfonükleerlökosit
SF	Serum fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
SR	Serbest radikaller
TAS	Total antioksidan seviye
TNF α	Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	Total oksidan seviye
TXA ₂	Trombaksan A ₂
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülü

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları	4
2.2. İskemide membran hasarının mekanizmaları	7
2.3. Serbest oksijen radikallerine bağlı hücre hasarı	8
2.4. İskemi reperfüzyon hasarında lökosit-endotel etkileşimi	15
2.5. NAC' ın moleküler yapısı	27
4.1. Kontrol grubu gastroknemius kasında normal görünüm. H&E.	39
4.2. Kontrol grubu gastroknemius kasında normal görünüm. H&E.	39
4.3. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem ve fibrozis (ok başı) görülmekte. H&E, Bar 100 µm.	40
4.4. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz, kas fibrilleri arasında ödem (ok), lökosit infiltrasyonu ve fibrozis, kapillerlerde konjesyon (ok başı).	41
4.5. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem, lökosit infiltrasyonu ve fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon. H&E, Bar 20 µm.	41
4.6. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem (ok başı), monosit ve makrofaj infiltrasyonu (ok), fibrozis, kapillerlerde konjesyon. H&E, Bar 10 µm.	42
4.7. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında ödem (ok başı), lökosit infiltrasyonu (ok), kapillerlerde konjesyon ve hemoraji (yıldız). H&E, Bar 200 µm.	42
4.8. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok), kapillerlerde konjesyon (yıldız).	43
4.9. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (ok başı), kas fibrilleri arasında ödem (yıldız), lökosit infiltrasyonu, fibrozis, kapillerlerde konjesyon	43

	Sayfa
4.10. I-R grubu gastroknemius kasında kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücrel şişme ve nekroz, kas fibrilleri arasında ödem, lökosit infiltrasyonu (ok başı), fibrozis (yıldız), kapillerlerde konjesyon (ok). H&E, Bar 50 µm.	44
4.11. İloprost grubu gastroknemius kasında kapillerlerde konjesyon (ok) ve kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok başı). Ödem ve fibroziste azalma (yıldız). H&E, Bar 100 µm.	45
4.12. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücrel şişme ve nekroz (yıldız).	45
4.13. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücrel şişme, nekroz (ok başı), kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (yıldız).	46
4.14. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücrel şişme, nekroz, kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (yıldız), kapillerlerde konjesyon (ok başı). H&E, Bar 50 µm.	46
4.15. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon (yıldız). H&E, Bar 10 µm.	47
4.16. NAC grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, nekroz (yıldız), ve fibrozis (ok). H&E.	48
4.17. NAC grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, nekroz, fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon (yıldız) ve lökosit infiltrasyonu (ok). H&E, Bar 20µm.	48
4.18. NAC grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp (yıldız), hücrel şişme, nekroz, kapillerlerde konjesyon (ok başı) ve lökosit infiltrasyonu (ok). H&E, Bar 20 µm.	49
4.19. NAC grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında fibrozis (ok başı) ve kapillerlerde konjesyon (yıldız). H&E.	49

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Antioksidanlar	13
4.1. Biyokimyasal veriler	34
4.2. Biyokimyasal verilerin varyans analizi	35
4.3. Biyokimyasal verilerin kendi aralarında karşılaştırılması	36
4.4. Kontrol grubu (Grup 1) histolojik bulguları	37
4.5. İskemi-reperfüzyon (sham) grubu (Grup 2) histolojik bulguları	37
4.6. İskemi-reperfüzyon+iloprost grubu (Grup 3) histolojik bulguları	37
4.7. İskemi-reperfüzyon+NAC grubu (Grup 4) histolojik bulguları	38
4.8. Tüm grupların genel histolojik bulguları	38
4.9. Histopatolojik verilerin karşılaştırılması	51

1. GİRİŞ

Günümüzdeki modern kardiyovasküler cerrahi yöntem ve tekniklerinin sunduğu gelişmiş imkanlara rağmen aortik girişimler sonrasında gelişen iskemi reperfüzyon postoperatif morbidite ve mortaliteyi etkileyen ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Tüm gelişmelere rağmen dolaşım sistemini ilgilendiren ve organ iskemisi temelinde oluşan hastalıklar tüm dünyada ve ülkemizde en önemli ölüm nedenleri arasında önceliğini korumaktadırlar. İskelet kası akut iskemisi klinikte sık karşılaşılan bir sorundur. Özellikle aort cerrahisinde aortaya kros klemp konması sonucu oluşabilmektedir. Akut ekstremite iskemisi ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan klinik bir problemdir. Akut iskemik duruma yol açan neden ortadan kaldırılıp reperfüzyon sağlandığında da morbidite ve mortalite riski devam etmektedir. Hatta iskeminin uzaması riski artırır. Ekstremitte perfüzyonu tam olarak sağlansa bile ekstremite kaybına akut böbrek ve solunum yetmezliğine diğer dokularda fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Bu "reperfüzyon hasarı" veya Haimovici'nin önerdiği şekliyle "myonefropatik metabolik sendrom" olarak adlandırılan olaylar özellikle geç girişim yapılmış akut olgularda morbidite ve mortalitenin esas nedenidir (1).

İskemi tablosu; dokuların ya da bir organın damar yatağında bulunan arterlerden bir veya birkaçının kan akımının kısmen veya tamamen kesilmesi sonucu oluşur. Bu süreçte dokunun ihtiyacı olan oksijen ve diğer metabolitler sağlanamaz. Dolayısıyla oluşan artık maddeler dolaşım tarafından uzaklaştırılmaz, doku veya organda birikir. İskemik bölgedeki hücreler daha önceden sürdürdükleri aerobik metabolizmayı idame ettiremedikleri için anaerobik metabolizma yoluyla enerji sağlamaya çalışırlar. İskemi, iskemi-reperfüzyon hasarının ilk kısmını oluşturmakta olup metabolizmanın anaerobik tarafa kayması ile karakterizedir.

İskemik dokuda irreversible hücre hasarının önlenmesi ve toksik metabolitlerin temizlenmesi için dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekir. Bu olaya reperfüzyon denilir. Reperfüzyonun gerçekleştirilmesi hücre içine moleküler oksijen sunulması ile birlikte dokuya toksik etki yapan serbest oksijen radikallerini hızla ortaya çıkarmakta ve iskemik dokuda iskeminin

oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara sebep olmaktadır (2). Oluşan serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile hücre zarı yapısını bozar ve hücre zarı transport sisteminin çalışmasını engeller. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu ile hücresel enzimlerin işlevlerini kaybetmesine neden olur. DNA üzerinde oluşturdukları hasar ile hücresel ATP üretimini engelleyerek enerji üretiminin bozulmasına sebep olur. Enerji üretiminin azalması sonucu, hücre membranının ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonu bozulur ve hücre içindeki fazla sodyumu (Na^+) dışarı çıkarmak için Na-Ca antiporter sistemi çalışır ve hücre içi kalsiyum (Ca^+) artar. Sitoplazma ve mitokondride aşırı miktarda Ca^+ birikmekte ve Ca^+ un toksik etki göstermesine neden olmaktadır. Artan Ca^+ düzeyleri fosfolipazları, proteazları active ederek serbest radikal ve yağ asidi oluşumunu artırır. Bu da hücreyi ölüme sürükleyebilir (3).

Kardiyovasküler cerrahide aort ya da periferik artere klemp uygulaması, tromboembolik olay sonrası sağlanan reperfüzyon, arter greftleme operasyonları sonrası ortaya çıkan tablo iskemi reperfüzyon hasarı ile karakterizedir Akut iskemi gelişen bir ekstremiteye, kan akımı yeniden sağlandığı zaman, iskemik periyotta oluşandan daha fazla iskelet kası nekrozu meydana gelebilir. Bu durum etkilenen ekstremitelerde ödem, metabolik asidoz, mikroskobik myoglobinüri ile kendini gösterir. Cerrahi işlemler sırasında dokuların iskemisi ve sıklıkla bunu takip eden bir reperfüzyon periyodu vardır.

Günümüzde iskemi reperfüzyon hasarını önlemeye ve azaltmaya yönelik pek çok tedavi stratejileri geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam etmektedir. Tüm protokollere rağmen iskemi reperfüzyon, sonuçta mortalite ve morbiditeye neden olabilmektedir. Lokal ve uzak etkileri ile hastanede kalış süresini uzatabilmektedir. En uygun stratejinin ne olduğu halen tartışma konusudur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi

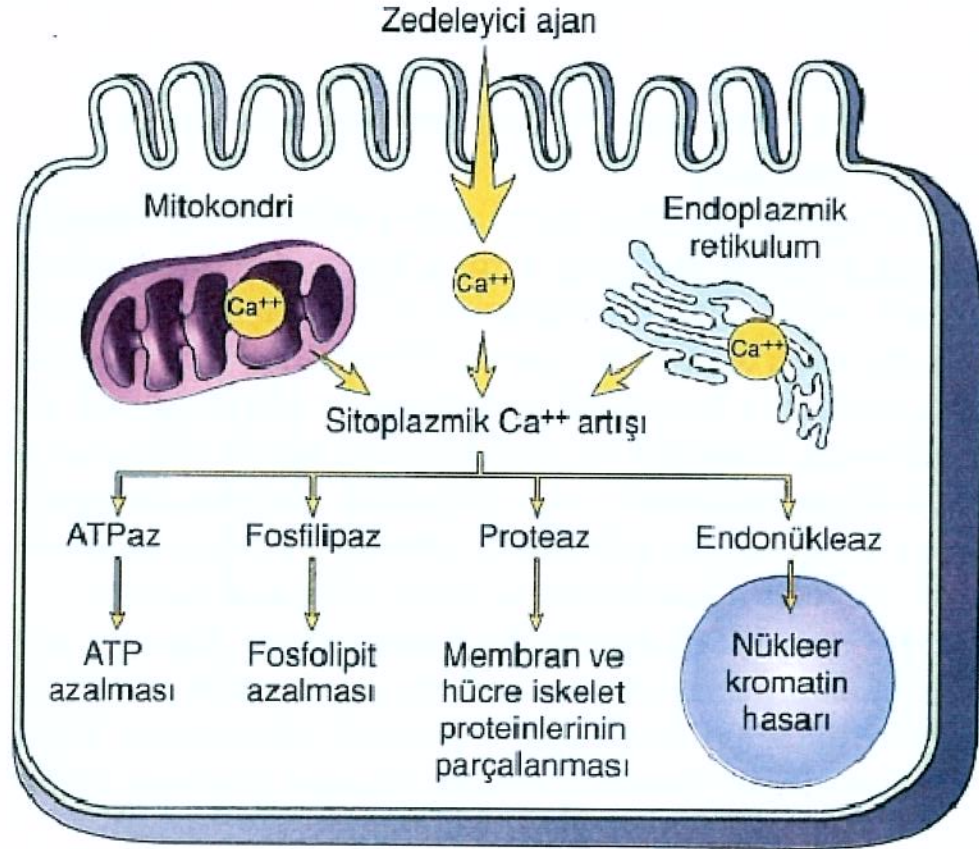
İskemi tanım olarak dolaşım tarafından dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılmamasıdır. İskemiye bağlı doku hasarında hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne neden olur (4). İskemi aerobik oksidatif solunumu etkileyen son derece önemli ve genel bir hücre zedelenmesi ve ölüm nedenidir. Hipoksik durumun şiddetine bağlı olarak hücreler adapte olabilir, zedelenebilir, ya da ölür (5).

İskemi hücre zedelenmesinin en sık görülen tipidir. Hipoksi ise dokuya yetersiz oksijen sunumu şeklinde tarif edilebilir. Her iki durumda iskemi-reperfüzyon hasarının ilk kısmını oluşturmakta ve metabolizmanın anaerobik tarafa kaymasıyla karakterizedir (6). Oksijen homeostazı insan fizyolojisinde hayati önem taşır. Oksidatif fosforilasyon sırasında ATP sentezi için kullanılan oksijen aynı zamanda hücresel lipid, nükleik asit ve proteinlerdeki oksidatif hasar mekanizmalarında da rol oynar. Dolayısıyla, protein sentezi ve aktivitesini kontrol eden kısa ve uzun dönem mekanizmalarla hücresel ve sistemik oksijen konsantrasyonlarının dengelenmesi oksijen biyoyararlanımı açısından önemlidir (7). İskemi akut veya kronik olabilir. İskemiye bağlı hasarın şiddeti, hipoperfüzyonun süresi ve miktarı ile orantılı olup, hücrenin tipi, yaralanmaya karşı hassasiyeti, diferansiyasyonu, kan ihtiyacı ve metabolizmasına göre farklılık gösterir. İskemiye bazı dokular dirençli iken (kemik, deri), bazı dokular hassastır (iskelet kası, böbrek).

Sonuç olarak, uzun süreli iskemilerde; hücresel şişme, asidoz, hücre içi kalsiyum /sodyum oranında artış, ATP/fosfokreatin seviyesi azalması, hipoksantin seviye artması, membran potansiyel değişiklikleri, iskelet bütünlüğü kaybı, nükleotid hidrolizi gibi hücre metabolizması ve iskelet yapısını ilgilendiren birçok değişim meydana gelir (8).

İskemik dokularda anaerobik enerji üretimi de yeterli maddelerin tükenmesi veya normalde kan akımı ile temizlenen metabolitlerin birikimiyle glikolizin engellenmesinden sonra durur. İskemi, dokuları hipoksinin

zedelediğinden daha çabuk zedeler. Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyonu üzerinedir. Oksijen basıncının azalması sonucu hücre içi ATP üretimi belirgin olarak azalır. ATP azalmasının hücre içindeki birçok sistemler üzerinde etkisi olur. Yukarıda tanımlandığı gibi sitoplazmik serbest Ca^{++} da bir artış vardır (şekil 2.1). Ayrıca plazma membranının ATP enerjili sodyum pompasının aktivitesi azalır. Bunu sodyumun hücre içinde birikimi ve potasyumun hücre dışına çıkışı izler. Sodyum eriyiğinin net artışı, suyun izoozmotik artışı ile birlikte olup akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme inorganik fosfatlar, laktik asit ve purin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan ozmotik yükü daha da artar (9).



Şekil 2.1. Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları

Hücresel ATP de azalma ile birlikte adenozin monofosfatta artma da fosfofruktokinaz enzimini uyararak glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır. Sonuç olarak glikojen hızla tükenir. Bu durum histolojik olarak karbonhidratların boyanmasının azalması ile gösterilebilir. Artan glikolizde fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH'nın düşmesine yol açar (9). Sonraki olay ribozomların granüllü endoplazmik retikülumdan ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinin azalmasıdır. Hipoksi düzelmez ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. Ozmotik regülasyon kaybından dolayı tüm hücreler şişmiş gibi görünür. Eğer oksijen eski haline dönerse yukardaki tüm bozukluklar reverzibldir. Bununla beraber iskemi devam ederse irreverzibl zedelenme gelişir. Morfolojik olarak irreverzibl zedelenmeye mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz ve Ca^{+} dan zengin yoğunlukların birikimi, plazma membranlarının geniş hasarı ve lizozomların şişmesi eşlik eder (9).

Membran hasarının birçok potansiyel nedeni vardır (şekil 2.2.).

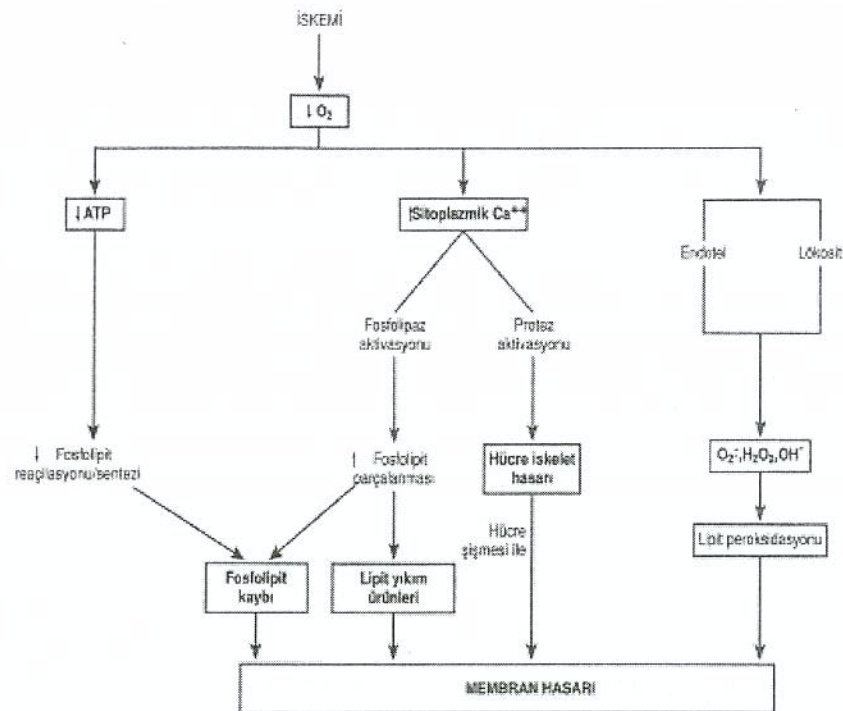
1- Membran fosfolipitlerinin ilerleyici kaybı: iskemiye bağlı Ca^{+} artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonu artan parçalanmaya yol açabilir.

2- Hücre iskelet anormallikleri: Hücre içi Ca^{+} artması ile aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilirler. Hücre şişmesinde, bazı zedeleyiciler hücre membranının hücre iskeletinden ayrılmasına neden olarak membranı gerilmeye ve yırtılmaya hassas kılabilir.

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

4- Lipid yıkım ürünleri: Fosfolipit parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu katabolik ürünler membranlar üzerinde yıkıcı etki yapar.

Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç, yukarıda tanımlanan olaylarla Ca^{++} 'nın bol miktarda hücre içine girmesidir (şekil 2.1.). Hücre içi Ca^{++} 'un artması hücreye potansiyel zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimi aktif hale getirir. Ca^{++} 'un aktive ettiği enzimler fosfolipazlar (membran hasarına yol açar), proteazlar (membran ve sitoskeletal proteinleri parçalar), ATP'azlar (ATP tüketilmesini hızlandırır) ve endonükleazlardır (kromatin parçalanması yapar) (9).



Şekil 2.2. İskemide membran hasarının mekanizmaları

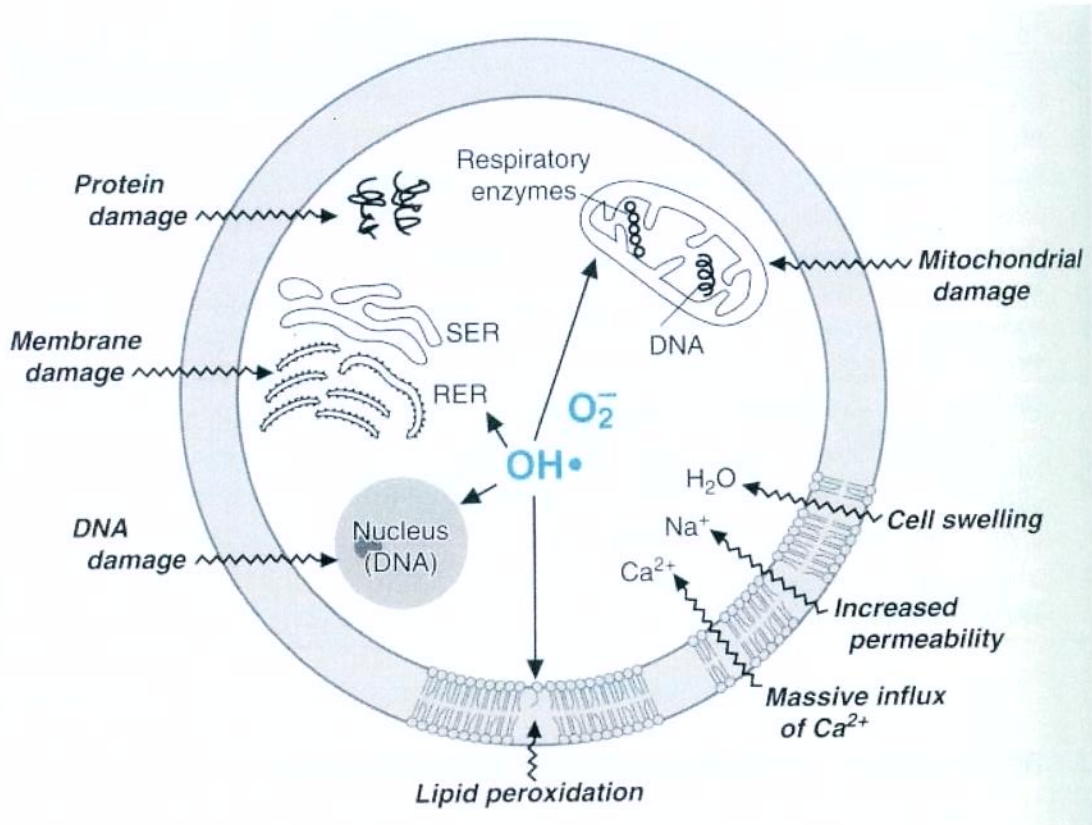
2.2.Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyonun ana amacı, o doku veya organın korunması ve yeniden fonksiyonlarını kazanması için tamir edilmesidir. Reperfüzyonla birlikte oluşan hasarın büyüklüğü iskemi süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Kısa süreli iskemilerde reperfüzyon hasarının şiddeti hafif olurken, iskeminin süresinin uzadığı ve irreversible hasarın olduğu durumlarda reperfüzyonla birlikte hücrelerin kurtarılması mümkün olmayabilir. İskemiyeye maruz kalmış bir dokunun reperfüze edilmesiyle iskemik hasarın azalacağı beklenir; ancak belli durumlarda bu mümkün olmaz ve aksine hasarın arttığı tespit edilir. Bu fenomeni açıklamaya yönelik bir takım hipotezler geliştirilmiştir. İskemi

sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri ileri sürülmüştür. Duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlar endotel ve parankimal hücrelerden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi, protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler (şekil 2.3.). Bunun dışında reperfüzyon esnasında hücre içine kalsiyum akümülyasyonunun masif bir hal aldığı ve ardından kalsiyumun özellikle mitokondrilere alınmasının reperfüzyon hasarının belkemiğini oluşturduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. İskemi sırasında dokuda oluşan metabolitler sirkülyasyon olmadığından dokuda birikir (10). Kan akımının normale dönmesiyle (reperfüzyon) oluşan metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler dolaşıma karışır ve kan yolu ile tüm vücuda yayılarak uzak organ hasarından sorumlu olurlar. Reperfüzyon, iskemi sonrası iskeminin bıraktığı hasarı artıran bir potansiyele sahiptir. Reperfüzyon hasarı endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon, sellüler nekroz ve apoptozis ile karakterizedir. Reperfüzyon hasarına yol açan mekanizmalar, etkileyici bir düzen içindedirler (10).

İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar (11). İskemik dokuya gelen ve yerleşen polimorfonükleer lökositler birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu yok ederler. Lökositler endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), L-Selectin gibi adezyon molekülüne tutunarak iskemik dokuya yerleşir (12). Reperfüzyon sonrası iskemik dokuya olan sürekli lökosit göçü, iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı doku hasarının devamını ve genişlemesini sağlar. Lökositler proteolitik enzim (elastaz) ve serbest oksijen radikalleri sentezi ve kapiller seviyede mikrodolaşım tıkanıklığı ile hasara katkıda bulunur (6, 13). Bu patolojik olayın ortaya çıkmasından sorumlu tutulan mekanizmalar olarak serbest oksijen radikalleri

(SOR), proinflatuvar mediatörlerin artması, lökosit infiltrasyonu, kalsiyum yüklenmesi, fosfolipid peroksidasyonu ve azalması, bozulmuş nitrik oksit metabolizması ve azalmış ATP sentezi ileri sürülmüştür (14).



Şekil 2.3. Serbest oksijen radikallerine bağlı hücre hasarı

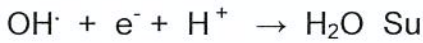
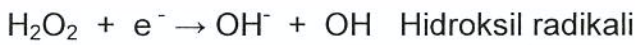
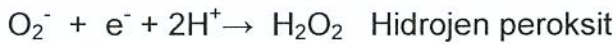
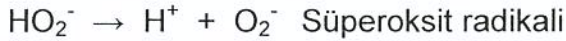
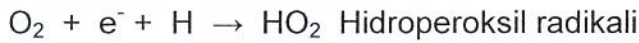
2.3. Serbest Radikaller

Oksijen; sekiz atom numaralı, doğada dioksijen (O₂) olarak bulunan kararsız bir elementtir ve kararsız durumu enerji düzeylerinde bulunan elektronların yapısına bağlıdır. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönlerde döndüğünde 'singlet oksijen' (O₂) oluşur. Orbitalden birine ters dönüşlü bir elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron gelirse 'oksijen radikali' elde edilir.

SR'ler organizmada hem metabolizma sırasında endojen olarak sürekli oluşurlar, hemde radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasallar gibi

etkenlere bağlı eksojen olarak ortaya çıkabilirler. Aerobik organizmalarda yaşamın sürdürülebilmesi için oksijene mutlak gereksinim vardır. Solunan oksijenin % 95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık % 5'ide oldukça toksik SR'lere dönüşmektedir (4). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile O_2^- radikali, iki elektron alarak indirgenmesi ile H_2O_2 olur. nc elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif OH^- radikali oluşur. Dördüncü elektron ilavesi ile de su oluşmaktadır .

Serbest radikallerin olusumu:



Memelilerde serbest radikaller başlıca anaerobik metabolizma sırasında üretilir (15,16,17). Fakat O_2 kaynaklı serbest radikallerden farklı olarak karbon ve kükürt bazlı radikaller de oluşabilmektedir. Hücre içinde oksijenin varlığı, toksik oksijen türlerinin uygunsuz oluşumuna neden olabilir. Bunlardan de en önemlileri; hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) iyonlarıdır. Hücrenin bir çok yerinde (rneğin: plazma membranı, mitokondri, sitozol, lizozom ve peroksizom) oksidatif enzim aktivitesi sonucu meydana gelebilirler.

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

yavaştır. Bu yüzden ancak oluştuğu yerde veya yakınında etki gösterir. Buna karşın H_2O_2 çok az potent olmasına rağmen plazma membranını, mitokondrial ve peroksisomal membranları rahatlıkla geçerek uzak etki gösterebilirler (18,19).

Fizyolojik ve patolojik durumlarda, organizma yüksek oranda oksidanlarla ve serbest radikallerle karşı karşıya gelebilir. Bu radikallerin önemli bir kısmı enzimatik sistemler tarafından etkisiz hale getirilirler. Oksidan maddelerin oluşumu ile savunma mekanizmalarının işleyisi arasında bir denge vardır ve bu dengenin oksidan baskı yönünde artması hücre hasarı ile sonuçlanır. Oksidan etki sonucunda oluşan hasarın büyüklüğü, hasarın oluşma hızı ve oksidatif hasarı önleyen koruyucu mekanizmalar arasındaki dengeye bağlıdır (19,20,21,22).

Serbest radikaller, hücrenin tüm organellerinde oluşabilirler. Hücre zarına bağlı yada serbest olarak bulunan bir çok enzimin etkisi ile de serbest radikaller oluşmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin ve kslenobiyotiklerin oksidasyonunda rol oynayan hücre organeli endoplazmik retikulumdur ve bu sistem sitokrom P-450 ve sitokrom b5 içermektedir. Detoksifikasyon sırasında serbest radikaller meydana gelir. Dokuda bulunan peroksizomlar yüksek düzeyde oksidaz (örneğin; D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, açıl koenzim-A oksidaz) içerdiklerinden dolayı güçlü bir hidrojen peroksit kaynağıdır (23). Oksidazlar, hidrojen akseptörü olarak oksijeni kullanarak substrattan hidrojen ayrılmasını katalize ederler. Plazma membranında bulunan lipoksijenaz ve siklooksijenaz, radikal üretime yol açan reaksiyonlardan sorumludur. Bu enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienler meydana gelir.

2.3.1. Serbest Radikallerin Hücresel Etkileri

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

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

oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali, alkoksil radikali, lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir (4).

Hücre zarlarında lipid peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi etkilenmekte, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi Ca^{+} konsantrasyonu artmakta ve Ca^{+} bağımlı proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında önemli role sahiptir. Nitekim hücrede aşırı Ca^{+} birikmesinin sitotoksik olduğu gösterilmiştir (4). Öte yandan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik özelliğe sahiptirler.

Proteinlerin oksidatif modifikasyonu: SR' ler aminoasit yan zincirlerinin oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein ana zincirini okside ederek protein parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel öneme sahip enzimlerde bozulmalar ortaya çıkmaktadır. (4).

DNA hasarı: SR'ler, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Bu durumda DNA onarım mekanizmasının uyarılması ile poli ADP-riboz sentaz (PARS) enzimi aktive olur (4). PARS nükleusta bulunan, protein modifikasyonu ve nükleotid polimerizasyonu yapan bir enzimdir. Fizyolojik rolü tam bilinmemekle birlikte gen ekspresyonu, gen amplifikasyonu, hücrel farklılaşma, malign transformasyon, hücre bölünmesi ve DNA replikasyonunda rolü olduğuna dair veriler vardır. PARS'ın aktivasyonu sonucu bu enzimin substratı olan nikotinamid dinükleotid (NAD) düzeyi düşer. NAD ise glikoliz ve trikarboksilik asit sikluslarında kofaktör olduğundan bu sikluslar durur ve böylece ATP oluşumu azalır. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tip hücre ölümü olur (4).

2.3.2. Serbest Radikallerin Toksik Etkileri

Serbest oksijen radikalleri hücrede aerobik metabolizma sırasında üretilir ve hücredeki tüm moleküller ile reaksiyona girebilirler ve en çok lipitler saldırıya uğrar (24). Üretim miktarı metabolizma hızına bağlı olarak artar (25). Normal şartlarda metabolik reaksiyonlarda kullanılan oksijenin sadece

%5-10 'u kuvvetli toksik ürünlere dönüşür. Aerob organizmalar intrasellüler ve ekstrasellüler antioksidan savunma sistemleri ile bu toksik metabolitleri etkisiz hale getirerek kendilerini korur ve zararı minimum seviyede tutarlar. Antioksidan defans sisteminin gücünün zayıfladığı yada SR üretiminin bu savunma sisteminin gücünü aştığı hallerde hücreler zarar görür (26). Oksijen radikalleri çok kısa süreli oluştukları halde bu süre içinde etkin olarak detoksifiye edilmezlerse nükleik asitler, proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve glikoproteinleri içine alan bütün biyolojik materyal ile reaksiyona girerek reversibl yada irreversibl değişikliklere yol açarlar (25).

SR' lerin hücredeki başlıca zararlı etkileri; proteinlerin zarar görmesi, enzimlerin inaktivasyonu, membran ve serum lipitlerinde peroksidasyon, hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik, Na-K-ATPaz, Ca-ATPaz gibi hücre iyon transport proteinlerinin tahrip olması, DNA'nın zarar görmesi, bağ dokusu harabiyeti, ekstrasellüler etkiler olarak bildirilmektedir (24, 26).

Bir kısım O_2^- vücutta nötrofil, monosit, makrofaj, eozinofil gibi inflamatuvar hücrelerden, hücrelerin yüzeylerinde bulunan redükte NADPH oksidaz sistemi ile kasten yapılmaktadır. Bu büyük miktardaki O_2^- yapımının amacı yabancı mikroorganizmaların öldürülmesidir. Kronik inflamasyonda bu normal koruyucu mekanizma hasara neden olabilir. Solunum yolu ile almış olduğumuz oksijenin yaklaşık %1-3 'ü O_2^- yapımı için kullanılır (27).

2.3.3. Serbest Radikal Temizleyici Antioksidanlar

Antioksidanlar, SR oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterirler. Antioksidan sistem grubuna giren enzimler; SOD, CAT, GSH-px, glutatyon redüktaz, glutatyon transferazdır (Tablo 2.1.). Suda çözünen radikal tutucular; GSH, vitamin C, ürik asit, glikoz ve sisteindir. Yağda çözünen radikal tutucular; vitamin E, β -karoten, bilirubin, ubikinol ve flavanoidlerdir (4). Hem suda hem yağda çözünebilir; Melatonin. Metal iyonlarını bağlayan proteinler; ferritin, transferin, haptoglobin, seruloplazmin ve albumindir (4). Ayrıca n-asetilsistein, propranolol, kalsiyum kanal

blokerleri, kaptopril ve lipoksigenaz inhibitörü olan nafazotromunda deneysel olarak değişik sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (28).

Tablo 2.1. Antioksidanlar.

Antioksidanlar		
Endojen		Eksojen
Enzim olanlar	Enzim olmayanlar	
1) Süperoksit dismutaz 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST) 4) Katalaz (CAT) 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi 6) Hidroperoksidaz	1) Melatonin 2) Seruloplazmin 3) Transferrin 2) 4) Myoglobin 5) Hemoglobin 6) Ferritin – 7) Bilirubin 8) Glutasyon 9) Sistein 10) Metiyonin 11) Ürat 12) Laktoferrin 13) Albümin	1) Vitaminler * α - tokoferol (Vit E) * β -karoten(Pro-vit A) * Askorbik asit (Vit C) * Folik asit (folat) 2) İlaçlar * Ksantin oksidaz inhibitörleri -Allopürinol -Oksipürinol NADPH oksidaz inhibitörleri -Adenozin -Lokal anestezikler -Kalsiyum kanal blokerleri -NSAİD * Mannitol *Albümin *Demir selatörleri *Desferroksamin *Barbitüratlar *Sitokinler(IL-1, TNF) *N-asetil sistein(NAC) 3) Gıdalar

2.4.Sodyum-Hidrojen Değişircisinin Aktivasyonu

İskeminin başlaması ile birlikte normalde var olan aerobik metabolizma derhal anaerobik forma dönüşerek doku biyoenerjisi ve iyon homeostasisi, moleküler regülasyon ve organ performansında bozulmaya yol açmaktadır. İskemi ve hipoksida aerobik metabolizma devam edemediğinden dokuda var olan adenozin trifosfatlar (ATP) tüketilir. Yeni ATP üretimi yetersiz kaldığından enerji ihtiyacı için gerekli olan olayların sürekliliği sağlanamaz. ATP düzeyinin azalması ile birlikte iyon gradientinin sürdürülmesi için hücrelerdeki Na-K ATPaz enzimi fonksiyon göremez. Bunun sonucu hücre içinde Na⁺ konsantrasyonu artar. Hücre içindeki artmış Na⁺'u dışarıya çıkarmak için Na-Ca antiport sistemini devreye sokar. Bu sistem hücre

içindeki artmış olan Na^+ 'dan bir adet dışarıya çıkarırken bunun yerine bir adet Ca^{+2} içeriye taşır. Bunun sonucu olarak hücre içi Ca^{+2} miktarı artar. Artmış olan Ca^{+2} ortamda ATP olmadığından hücrenin kasılabilirliğini artırmaz. Buna karşılık mitokondrilerde şişme ve matrikste hidroksiapatit kristallerinin birikmesine yol açmaktadır (29,30).

2.5. Lökosit ve Endotel Etkileşimi

İskemi reperfüzyon hasarında aktif hale gelen ilk hücre nötrofil olup hasarın elzem hücrelerindedir. Mikrovasküler ve mukozal hasarın çoğundan sorumlu son mekanizma oldukları düşünülmektedir (6). İskemi reperfüzyon; endotel ve lökosit hücre yüzeyleri adezyon molekül oluşumunu artırarak lökosit diapedeziyle sonuçlanan kaskadın aktivasyonuna neden olur (30). Doku iskemisi sonrası dokudan açığa çıkan (platelet, endotel ve nötrofillerden) kemotaktik sinyaller nötrofil adezyon ve diapedez sürecinin düzenli şekilde gerçekleşmesine neden olurlar. Dolaşımda bulunan nötrofiller aktive olduklarında iskemik doku endoteline yapışıp interstisyel alana geçerler (31).

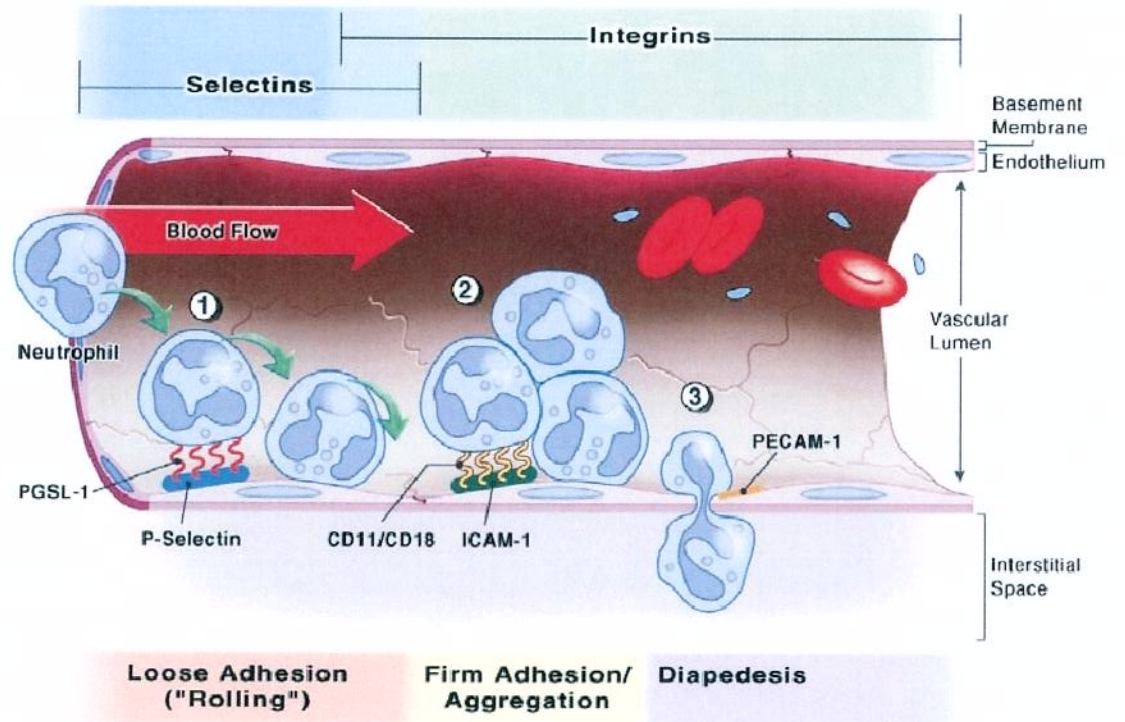
Serbest oksijen radikalleri kemotaktik stimulanların oluşumunu artırarak (PAF, LTB_4), kompleman aktivasyonunu gerçekleştirerek, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak, antiadhesiv molekül olan nitrik oksitin yıkımını artırarak lökosit infiltrasyonuna neden olurlar (32).

Aktive olmuş lökositler salıverdikleri serbest oksijen radikalleri, sitotoksik enzimleri ve mikrosirkülasyonda oluşturdukları obstrüksiyonla hasara katkıda bulunurlar. Lökositlerin iskemi reperfüzyon periyodundan sonra çizgili kasta biriktiği gözlenmiştir (33).

Lökositlerin dokuya nüfuz edebilmelerinin ön koşulu endotel hücrelerine yapışmalarıdır (adezyon). Başlangıçta lökositler ve aktive olmuş endotel hücreleri arasında oluşan adezyona E-selektin, P-selektin ve L-selektin aracılık eder. Bu şekilde adezyona uğramış lökositler C5a , Lökotrien B_4 (LTB_4), interlökin 8 (IL-8) ve platelet aktive edici faktör (PAF) aracılığı ile aktive edilirler ve yüzeylerinde CD11b/18 molekülleri belirir (şekil 2.4.).

CD11b/18 ve ayrıca ICAM-1 etkinliği sonucu daha önce oluşan adezyon güçlenir ve transendotelial migrasyon oluşur (34,35,36).

Sonrasında, endotel hücreleri arasından geçen lökositler hedef dokuya göç ederler (Diapedez). Lökosit göçü esas olarak venöz kılcallardan olur. Lökositler bu göç esnasında endotel bazal membranında bir süre duraklarlar. Lökositlerden salgılanan kollagenazlar, bazal membran parçalanması ve lökositlerin interstisyel alana geçişlerinde önemli rol oynar. Hasarlı dokuya olan lökosit kemotaksisi C5a (kompleman sistemi unsuru), LTB-4 (Araşidonik asit lipoksigenaz yolu ürünleri), İL-8 (Sitokin) yoluyla sağlanır (11). İskemi reperfüzyon sırasında oluşan TNF α , İL 1 β , PAF ve kompleman sistemi gibi inflamatuvar araçların hepsi lökosit göçünü artırır (37).



Şekil 2.4. İskemi reperfüzyon hasarında lökosit-endotel etkileşimi (104).

Hasarlanmış bölgede biriken hücre tipi, inflamasyonun süresi ve uyarının tipine göre değişir. İskemi reperfüzyon hasarına inflamatuvar cevapta ilk 6-24 saat nötrofil hakimiyeti mevcut iken, 24-48 saatlerde

monositler baskın hale geçerler. Bunun nedeni nötrofillerin kanda fazla bulunması, daha hızlı aktive olmaları, adezyon moleküllerine yüksek afinite ile bağlanmaları ve yarı ömürlerinin kısa olmasıdır. Dolayısıyla akut dönemde nötrofil kronik dönemde monosit hakimiyeti vardır (11).

Tüm bu basamaklar sonucunda lökositler dokuda hasarın genişlemesine neden olurlar. Bu durumun klinik yansıması mikrovasküler tromboz ve disfonksiyon ile karakterize “no-reflow” fenomenidir (6).

2.6. Mikrodolaşım(No-reflow Fenomeni)

Mikrodolaşım, en uç kan dolaşım sistemidir. İskemi sonrası reperfüzyon periyodunda iskemik dokuda ilk biriken hücreler plateletlerdir. Bunlar endotel aktivasyonuna ve lökosit birikimine katkıda bulunurlar (13). Aktive olmuş lökositler inflamatuvar yanıt oluşmasına neden olurlar. Lökositler mikrodolaşımında birikerek kollaps ve tıkanıklığa neden olurlar. Dolayısıyla lökosit-platelet ve lökosit-endotel hücre etkileşimleri ana mekanizma olup, interstisyel sıvı birikimi ve azalmış endotel bağımlı vazodilatasyon bu duruma katkıda bulunur (38).

Lökosit-endotel etkileşimi endotelde şişme ve daha çok lökosit adezyonuyla sonuçlanır. Lökosit-platelet adezyonu ise plateletlerin subendotel alanda birikerek, endotel ayrılmasına neden olur. Biriken plateletler daha fazla lökosit etkileşimine neden olur (39). Sonuç olarak endotel-lökosit-platelet etkileşimleriyle fibrin birikimini takiben trombüs oluşumu gözlenir.

2.7. Nitrik Oksit

Nitrik oksit L-Arginin'in guanidium grubundan, Nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile endotelde sentezlenen diatomik serbest radikaldir (29). Üç farklı NOS enzimi vardır. Endotelial, nöronal ve üçüncüsünde normal koşullarda üretilmeyen ancak enflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenebilen iNOS'dur. Ayrıca iNOS NO üretimi Ca^{+2} bağımsızdır. Nitrik oksit, iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen koruyucu ve mediatördür (40).

Nitrik oksit vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, platelet agregasyonunun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, normal vasküler permeabilitenin idamesi, düz kas proliferasyonunun engellenmesi, immun defansın güçlendirilmesi, endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok yaşamsal olayda etken bir maddedir (41). Aynı zamanda iskemik dokularda süperoksit dismutaz aktivitesini etkileyerek hidrojen peroksit birikimini azaltır (42).

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen endotel hücre disfonksiyonunda, nitrik oksit sentezinde azalma oluşarak hücre hasarı derinleşir. Endotel disfonksiyonuna bağlı nitrik oksit azalma mekanizması hala tam olarak gösterilememiştir (40).

2.8. İskemi Reperfüzyon Sonrası Oluşan İskelet Kası Hasarı

2.8.1. Tarihçe

1881 yılında Volkman tarafından tariflenen ve kemik kırığını takiben oluşmuş iskemik kontraktür, muhtemelen belirlenmiş ilk kas iskemisi komplikasyonudur. Yapılan hayvan deneylerinde; 1926'da Jepson, alt ekstremiteye turnike uygulaması sonrası ödem oluştuğunu, 1945'de ise Dennis, oluşan bu ödeme fasyotomi ile müdahalenin klinik düzelme sağladığını göstermişlerdir. Ancak fasyotomi asıl popülerliğini, 1964'de Patven, Pavlos ve Shires tarafından 76 iskemik alt ekstremitte hastasında kas ödemi için kullanıldığında elde etmiştir (43).

Şok sonrası toksik molekül oluşumunun, ilk kez 1920 yılında Cannon tarafından tariflenmesi, reperfüzyon hasarında ilk adım olmuştur. 1937'de ise Husveldt ve Bjering tarafından travmatik şoku takiben böbrek hasarı tariflenmiştir. İkinci dünya savaşı sonrası Bywaters tarafından yayınlanan geniş bir seride ekstremitte ezilmesini takiben oluşan böbrek yetmezliği tablosu ile reperfüzyon hasarı üzerinde durulmuştur (43). İskemik ekstremitte revaskülarizasyonu ile oluşabilecek risk, ilk kez 1960 yılında Haimovici tarafından " myonefropatik-metabolik sendrom" olarak tariflenmiştir (44).

1969 yılında, iskemik ekstremite revaskülarizasyonunu takiben %85' lik mortalite tariflenmiş olup Haimovici'den farklı olarak mortalitenin kardiyopulmoner nedenlere bağlı olduğu gözlenmiştir (45).

2.8.2. Ekstremitte İskemi Reperfüzyonu' nun Fizyopatolojisi

İskemiyeye karşı olan tolerans dokunun türüne ve kolleteral dolaşım varlığına göre değişir. Normotermik doku iskemisinde geri dönüşümsüz hasar; kasta 4. saatte, sinirde 8. saatte, yağ dokusunda 24. saatte ve kemikte yaklaşık 4. günde oluşur (43).

a)Kas Değişiklikleri:

İskelet kası, ekstremitteyi oluşturan primer kütle olup aynı zamanda iskemik hasara en hassas dokudur. Dolayısıyla iskelet kası hasarı ekstremitte reperfüzyon hasarının en önemli bölümünü oluşturur (43). Kas ölümü sonrası makroskopik ve mikroskopik değişiklikler minimal olduğundan kas ölüm zamanını belirlemek zordur. İskemiyi takiben yaklaşık üçüncü saatte ciddi kas hasarı ve altıncı saatte yaklaşık %97'lik fonksiyonel doku kaybı olduğu gösterilmiştir (46). Kas nekrozu ve ATP deposu azalması arasında yakın ilişki saptanmıştır. İskemik kas dokusunda öncelikle glikojen ve kreatin fosfat azalırken bu safhada çok fazla myonekroz oluşmaz. Sonrasında ATP azalmasıyla birlikte, kas nekrozu hızla artar. Altı saatlik kas iskemisi sonucu, normal kas dokusu ATP deposunda %80 azalma ve kas dokusunun tümünde nekroz oluşur (47).

b)Mikrodolaşım Değişiklikleri:

Mikrodolaşım değişiklikleri, iskemik dönemde gerçekleşir ve iskemi süresi ile uyum gösterir. İskemi ilk olarak kapiller endotel hücreleri etkileyerek, hem lümen hem de sitoplazmaya doğru uzanan parmaklı çıkıntılar oluşmasına neden olur. İskeminin devamı ile birlikte endotel veziküllerinde artış oluşur ve böylece hücreler arası bağlar zayıflayarak geçitler genişler. Heterojen dağılımlı endotel hücre ödemi oluşarak kırmızı küre sıkışmasını artırır. İskeminin dördüncü saatinden sonra mikrosirkülasyonda hücresel etkileşimler (eritrositik, trombositik ve lökositik) başlar. Venöz ve arteryel kılcallar, reperfüzyon öncesinde, sıkışmış

eritrositlerle kapanmış görünümündedirler. Rulo halindeki eritrosit kümeleri, erken reperfüzyon döneminde endotel yüzeyde hasarlanma oluştururlar. Endotel hücre sitoplazmasındaki parçalanma sonucu hücreler arası büyük geçitler oluşur. Reperfüzyonla birlikte, özellikle venöz kılcallarda, lümen içi platelet ve fibrin kümeleri ile karakterize trombotik komplikasyonlar oluşur. Bu platelet kümeler endotel yüzdeki geniş defektleri kapatır. Venlerde lökosit diapedezi oluşurken, venöz kılcallarda lökositlerin, lenfosit ve monositlerle olan kümeleşmesi oluşur (43).

İskemi süresi uzadıkça damarsal geçirgenlik artışı ve ilerleyici interstisyel ödem oluşur. Yapılan bir çalışmada, dört saatlik iskemi sonrası kas ağırlığının arttığı ve bu ağırlığın reperfüzyonun üçüncü saatinde maksimuma çıktığı belirtilmiştir (48).

c) "No reflow" fenomeni:

İlk kez Brooks ve arkadaşları tarafından 1922' de, hayvan deneyinde, bu durum gözlenmiş ve patofizyolojik olarak tarif edilmiştir (49). Ancak "noreflow" teriminin ilk kullanımı Ames tarafından 1968'de iskemik beyin hasarında olmuştur (50).

Kas iskemisi ilerlediğinde kası besleyen damarda kalıcı tıkanıklık oluşur. Dolayısıyla "no reflow" fenomeninin myonekroza ikincil mi olduğu, yoksa "no reflow" sonucunda mı myonekroz olduğu çelişkili bir konu olup, ilk durumun geçerli olduğu düşünülmektedir. Çünkü miyosit ve endotel hücrelerinin iskemiye karşı toleransları farklıdır. Dört saatlik iskemi ciddi kas hasarı oluşturabilirken, bu durum endotelde altı saatte oluşur. Bu nedenle dokunun iskemiye karşı olan toleransını endotel değil doku hücresi belirler(43).

"No reflow" fenomeni patofizyolojisinde, hemokonsantrasyon ve tromboz, kapiller endotel hücrelerinde şişme, kapillerlerde lökosit kümeleşmesi ve doku ödemeine ikincil artmış ekstravasküler doku basıncı vardır. Kapiller endotel şişmesi enerji depolarındaki azalmaya bağlıdır. Bu şişme erken reperfüzyon döneminde maksimum düzeyde olup kapiller kan akımına karşı rezistansı artırır. Lökositler, kapiller endotelle adezyon oluşturmadan lümen içerisinde kümeleşerek "no reflow" oluşumunda önemli

rol oynarlar. Dolayısıyla kümeleşmiş lökosit hareketi endotel hasarını artırır(43).

d)Lokal İnflamatuar Cevap:

İskemik doku reperfüzyonu inflammatuar bir cevap doğurur. Ancak doku nekrozundan, reperfüzyon döneminden çok iskemik dönem sorumludur (43).

Damar tıkanıklıklarında, hayvan turnike modellerinin aksine, kollateral dolaşıma bağlı olarak tıkanıklığın bir miktar distaline kadar normal doku izlenir. Dolayısıyla reperfüzyonla amaç nekrotik alanın değil bu alanın kanlandırılmasıdır. Bu bölge, nekrotik ve ciddi hasarlanmış hücrelerin iç içe olduğu ve inflammatuar araçların sentezlendiği yerdir. Bu yüzden reperfüze edilmiş hasarlı veya nekrotik alan miktarı morbiditeyi belirler. İnflamatuar cevabın tetikleyicileri; asit fosfataz, inorganik fosfat, laktik asit, myoglobin, nükleotidler, potasyum, proteolitik enzimler ve pürin bazları gibi kas yıkım ürünleridir. Bu yıkım ürünleri, prokoagülan özellikte olup intrensek pıhtılaşma sistemini aktive ederek venöz kılcallarda trombozu ve kollateral arteriollerde vazospazmı oluştururlar. İnflamatuar cevabın en belirgin olduğu geçiş alanındaki bu tarz bir aktivite nekrotik alanda genişlemeye neden olur. Dolayısıyla antitrombotik ve antiplatelet tedaviyle geri dönüşümlü hasar bölgelerine olan kollateral akım ve mikrodolaşım korunarak nekrotik genişleme engellenebilir (43).

2.9. İskemi Reperfüzyona Bağlı Oluşan Uzak Organ Hasarı (SIRS)

İskemi reperfüzyonun önemli sonuçlarından biri uzak organ hasarı olup, yüksek mortaliteyle seyreden SIRS'la sonuçlanabilir. Bağırsak, karaciğer, iskelet kası ve aortik iskem-reperfüzyon modellerinde SIRS gelişimi gözlenmiştir (51).

SIRS oluşumunda, hayati organların kanlandırılması amaçlı refleksif gelişen mezenterik vazokonstriksiyon ve relatif mezenterik iskemik rol oynar. Bu kısa dönemli mezenterik iskemik, bağırsak mukozal bütünlüğü ve bariyer fonksiyonunda bozulma ve bakteri/lipopolisakkarit translokasyonu ile sonuçlanır. Mezenterik lenf nodları ve karaciğer makrofajlarının bu etkenlerle

aktivasyonu, inflamatuvar sitokinlerin (TNF-a) dolaşımında artışına neden olur. Böylece sistemik olarak lökosit ve endotel aktivasyonu gerçekleşir (51).

SIRS'da oluşan sistemik inflamasyon hemen her organda hasar oluştururken ilk gözlenen, genelde 24-72 saat içinde oluşan akciğer yetmezliğidir. Akciğer hasarı, hafiften (akut akciğer hasarı) şiddetliye (akut respiratuvar distres sendrom) doğru seyreden bir klinik spektruma sahip olup, patogenezinde mikrovasküler geçirgenlik artışı ve alveol sıvısında nötrofil birikimi suçlanmaktadır. SIRS' a bağlı aynı zamanda karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve miyokard disfonksiyonu görülebilir (51).

2.10. İskemi Reperfüzyon Hasarını Önlemek İçin Tedavi Stratejileri

Kontrollü deneysel modellerde İ-R hasarını başarıyla önleyen veya sınırlayan birçok tedavi stratejileri klinik pratik kullanımda süpheli sonuçlar vermektedir veya insan klinik araştırmalarında kullanılmamaktadır. İ-R hasarını azaltmada kombine stratejilerin etkinliğini bulan az sayıda çalışma vardır (52).

İskemik Önkoşullama

Dokunun ciddi iskemi-reperfüzyon öncesi, kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyotlarına maruz bırakılmasıdır (53). Böylelikle doku uzun süreli iskemi reperfüzyona daha dirençli hale gelir. İskemik önkoşullama sikluslarının sayısı ve süresi arttıkça koruyuculuğuda artar (54). İskemik önkoşullamanın yararlı etkileri birçok yerde gösterilmiş olmasına rağmen insan klinik verileri sınırlıdır. Akut ve geç iskemik önkoşullamanın koruyucu etkilerinin temelini farklı mekanizmalar oluşturur. Pertussis duyarlı G proteinlerinin adenosin ya da A1 adrenerjik reseptör aktivasyonu fosfolipaz C yada D stimülasyonu yolu ile akut önkoşullamanın kritik bir başlatıcısı olduğu görülmektedir, bu da sırayla protein kinaz C'yi aktive eder. Akut önkoşullamanın yararlı etkilerinin sebebi ATP duyarlı potasyum kanallarının protein kinaz C bağımlı fosforilasyonudur (55). Akut önkoşullama hücre yüzeyine Protein kinaz C bağımlı 5'nükleotidaz translokasyonunda indükler. Bu hücre sel adenosin yapımını artıran ve hücre sel enerji depolarını

destekleyerek ve lökosit yapışmasının önleyerek koruma sağlayabilen bir etkidir (55). Kısa ve uzamış iskemik hasar arasındaki zaman aralığı iki saatin üzerine çıktığında önkoşullamanın akut ve yararlı etkileri kaybediliyor olsada, eğer uzamış iskemik hasar ilk iskemi periyotlarından 24 saat sonra oluşursa önkoşullamanın gecikmiş bir koruyucu etkisi gözlenir (56). Akut yanıtta farklı olarak gecikmiş önkoşullama değişmiş gen ekspresyonuna bağlı olduğu kadar antioksidan enzimler, nitrik oksit sentaz ve ısı şok proteinlerini içeren yeni protein sentezine bağlıdır (56).

Antioksidan Tedavi

Çok sayıda deneysel hayvan çalışmaları iskemi reperfüzyon hasarını azaltmada ve önlemede antioksidan tedavinin etkinliğini göstermiştir.(E vitamini, N-Asetil-sistein, allopurinol, mannitol, demir şelatörleri, ACE inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri, katalaz, süperoksit dismutaz) (52).

Antikompleman Tedavi

Kompleman sistem aktivasyonunun engellenmesi ile iskemi reperfüzyon hasarının azaldığı birçok hayvan deneyinde gösterilmiştir (57). İnsan C5 için spesifik humanize edilmiş rekombinant tek zincir antikorunun kardiyopulmoner bypass ile koroner bypass ameliyatı geçirenlerde kompleman aktivasyonunu, lökosit aktivasyonunu, myokard hasarını, kan kaybını ve kognitif disfonksiyonu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (58). Ancak antikompleman sistemlerin insanda kullanımı hakkında yeterli klinik veri yoktur.

Antilökosit Tedavi

Lökosit aracılı iskemi reperfüzyon hasarını engellemeyi hedefleyen deneysel terapotik stratejiler inflamatuvar mediatör salınımının veya reseptör bağlanması, lökosit adezyon molekülü sentezinin veya lökosit endotel adezyonunun inhibisyonu üzerine odaklanmıştır (59). PAF, histamin, Lökotrien B4, ve TNF alfa gibi aracı inflamatuvar maddelerin sentez veya reseptör etkileşimlerinin engellenmesi ile iskemi reperfüzyon hasarında fayda sağlanmıştır (59). Aspirin, glukokortikoidler, altın, D-penisilamin gibi

antienflamatuvar ilaçlar lökosit adezyon molekülü sentezi veya sitokin oluşumunu azaltırlar (59). Bu modellerin insanlardaki klinik kullanımına ait bilgiler henüz yetersizdir.

2.11. İloprost

Siklooksigenaz yolunun bir metaboliti olan prostoglandin I₂ (prostasiklin), lökositleri inaktive eder, lökotrienler gibi araşidonik asidin toksik metabolitlerini inhibe eder ve reperfüzyon hasarından iskemik dokunun mikrosirkulasyonunu korur. Pgl₂ güçlü sitoprotektif, antiagregan, ve vazodilatatör etkilere sahiptir (60, 61, 62).

Prostasiklin'in (Pgl₂) mikrovasküler kan akımı, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve vazodilatasyon üzerine önemli rolü vardır. İloprost benzer farmakokinetik özelliklere sahip bir Pgl₂ analogudur. Bu olumlu etkiler, iloprostun mikrosirkülasyonda artış sağlaması ile elde edilmektedir. Ayrıca iloprost'un adezyon moleküllerinin ve koagülasyon son ürünlerinin üretimini azaltarak endotel hücreleri üzerinde koruyucu etkisi de vardır. Yüksek iloprost dozlarında; artmış vazodilatasyon kan akımının deriden kasa yönelmesiyle çalma fenomeni ile sonuçlanır. İloprostun antiplatelet ve diğer olumlu etkileri azalır. Ayrıca yüksek doz iloprost dozları, koroner arter hastalarında koroner akımdan çalma etkisine neden olmaktadır (63).

İloprost araşidonik asit metaboliti karakterinde yeni bir moleküldür. 1976'da Moncada ve Vane tarafından keşfedilmiştir. Bu yapının prostasiklin veya prostaglandin I₂ olarak adlandırılması, yapısal izolasyon ve kimyasal sentezlerden sonra olmuştur. İloprost prostasiklinin 2. kuşak bir yapısal analogudur. İloprost EP1 reseptörlerine bağlanır. Normalde damar duvarı ve trombositlerden sentezlenen trombaksan A₂ normal hemostaz kontrolünde prostasiklin ile dengelenir. Trombositlerde bulunan araşidonik asit, siklooksigenaz yolu ile vazokonstrüktör trombaksan A₂'ye (Tx A₂) çevrilir. İskemik dolaşımda prostasiklin seviyeleri oldukça düşüktür ve aterosklerozda da vasküler dokularda prostasiklin(Pgl₂) sentezi azalır (64, 65).

Prostasiklin trombosit agregasyonuna neden olan trombin, kollajen, adenzindifosfat'ı (ADP) inhibe eder. Sağlam organizmalarda vazodilatatör, hipotansif, antidiüretik ve kanama zamanının uzatıcı etkisi vardır. Ayrıca endotelden makrofaj ve trombositin büyüme faktörü salarak damar düz kas proliferasyonunu stimüle eder. Sağlıklı bireylerde mikrovasküler kan akımı, savunma sistemleri, hemostaz ve inflamasyonun regülasyonunda önemli rol oynar (66). Doku perfüzyon artışı ve antiplatelet etkiyle, direkt sitoprotektif etkinlik sağlar.

İloprost'un Farmakolojik Özellikleri

İloprost; araşidonik asitten sentezlenen endojen prostaglandin olan prostasiklinin (Pgl₂) sentetik karboksilin analogudur. Prostasiklin organizmada en çok damar endotelince sentezlenir.

İloprost prostasiklinden farklı olarak C18,C19'da üçlü bağ,C16'da metil grubu ve heterosiklik oksijen atomu yerine metilen grubu içerir. Bu moleküler farklılık iloprostun daha stabil molekül olmasını sağlar ve intravenöz kullanıma olanak sağlar. İloprost oda ısısında 4 sene stabil olarak kalabilir. Dilüe edildikten sonra 24 saat stabildir (67).

İloprost'un Farmakokinetik Özellikleri

Intravenöz infüzyon başladıktan 10-20 dakika gibi kısa bir süre sonra kararlı durum plazma düzeylerine ulaşır. Kararlı durum plazma seviyeleri infüzyon hızı ile doğru orantılıdır. 3ng/kg/dk infüzyon hızı ile yaklaşık 135pg/ml plazma konsantrasyonu elde edilir. İnfüzyonun sona erdirilmesinden sonra yüksek metabolizma hızı nedeni ile iloprost plazma konsantrasyonu hızla düşer. Plazma yarı ömrü 0,5 saattir. Bunun sonucu olarak infüzyonun sona ermesinden hemen 2 saat sonra madde düzeyi denge konsantrasyonunun %10'un altına düşer. Karaciğer sirozlu hastalarda ve diyalize gerek gösteren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda iloprost klirensi 2-4 misli azalır. İloprost plazma albüminine %60 oranında bağlanır. İloprost metabolitlerine dönüşerek elimine olur. Ana metabolit tetranor-iloprost'tur ve farmakolojik olarak inaktiftir. İloprost metabolitlerinin %80'i böbrek yoluyla, %20'si safra yolu ile atılır (67).

İloprost'un Etkileri

İloprost etkisini, aktive trombositlerden 5-hidroksi triptamin ve trombaksan gibi vazokonstrüktör ve zararlı sitokinlerin salınımını engelleyip bu sayede trombozu, trombosit aktivasyonunu inhibe ederek gerçekleştirir. Trombosit agregasyonunu inhibe eder. Aktif madde iloprost trombosit adezyon inhibisyonu için Pgl2'den daha düşük seviyelere ihtiyaç duyar. Lökosit aktivasyonunu ve adezyonunu inhibe eder. Lökositlerden salınan lökotrienler, serbest oksijen radikalleri, proteolitik enzim salınımı azalır. Bu şekilde endotel koruyucu etki göstermiş olur (66).

İloprost vazodilatatör etkiye sahiptir. Lökotrienlerin ve tromboksanın arteriel düz kas hücrelerindeki vazospastik etkilerini önler. Hipoksik damar yüzeyinde permeabiliteyi azaltır. Endotel bütünlüğünü korur. Trombojenik aktiviteyi azaltarak endotel fonksiyonlarını korur (66).

İloprost'un Klinik Endikasyonları

İloprost antiagregan, vazodilatatör, trombosit inhibisyonu yapıcı etki, lökosit adezyonu inhibisyonu, mikrovasküler kan akımında artış nedeniyle periferik tıkaçıcı damar hastalıklarında geniş terapötik etkiye sahiptir (68). Primer hastalık ne olursa olsun (periferik arter hastalığı, tromboanjitis obliterans, vaskülitler) İloprost tedavisi mikrodolaşımı düzenler (64).

Kollajen doku hastalığının komponenti olan Raynoud fenomeni vazospazm ile seyreder. İloprost infüzyon tedavisinin semptomları geriletlediği klinik olarak gözlenmiştir (66).

Venöz ülserlerinde tedavisinde iloprost kullanımı faydalı bulunmuştur(69).

Pulmoner hipertansiyon evre III ve evre IV hastalarda iloprost kullanımının hastalarda prognozu ve hayat kalitesini artırdığı gözlenmiştir. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda intravenöz uzun kullanımın yan etkilerini azaltmak için 1-2 sene süre ile inhaler olarak da kullanılabilir (70, 71).

Aynı zamanda iskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen uzak organ hasarında da iloprostun hasarı azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir (72, 73, 74).

İloprost'un Kontrendikasyonları

Gebelik ve laktasyon döneminde, iloprostta aşırı duyarlılık hallerinde kontrendikedir. Kanama riskini artırabileceği hallerde (aktif peptik ülser, intrakranial hemoraji gibi..) kullanılmamalıdır. Ciddi koroner arter hastalığı olanlarda, unstabil anjina pectoris olanlarda, son altı ay içinde myokard infarktüsü geçirmiş olanlarda anjinayı provoke edebileceğinden kontrendikedir (67).

İloprost'un Kullanılışı

Piyasada ticari isim olarak İloprost 20mcg/ml.(Bayer Schering Pharma AG®, Berlin, Germany) olarak mevcuttur. 1ml'lik ampülde 20microgram iloprost bulunmaktadır. Ampuller dilüe edilerek infüzyon pompası ile kullanılmalıdır. Asla intramuskuler ve direkt intravenöz şekilde kullanılmamalıdır. Solüsyon kullanım öncesi hazırlanmalı 24 saat içinde kullanılmayan solüsyonlar atılmalıdır. Başka bir ilaç ile verilmemelidir. 20 mikrogramlık ampul 100cc %0,9'luk NaCl veya %5 dekstroz ile dilüe edilerek 0,2mikrogram/ml konsantrasyonda 0,5-2ng/kg/dk dozda verilmelidir (67).

İloprost'un Yan Etkileri

Sıklıkla duyulan ve doz bağımlı olan yan etkiler flushing (%58) ve baş ağrısıdır(%68). Gastrointestinal yan etkiler (bulantı, kusma, dispepsi) daha az görülür(%29). Bütün yan etkiler doz azaltıldığında kaybolur. İnfüzyon yerinde lokal etkiler gözlenebilir (67).

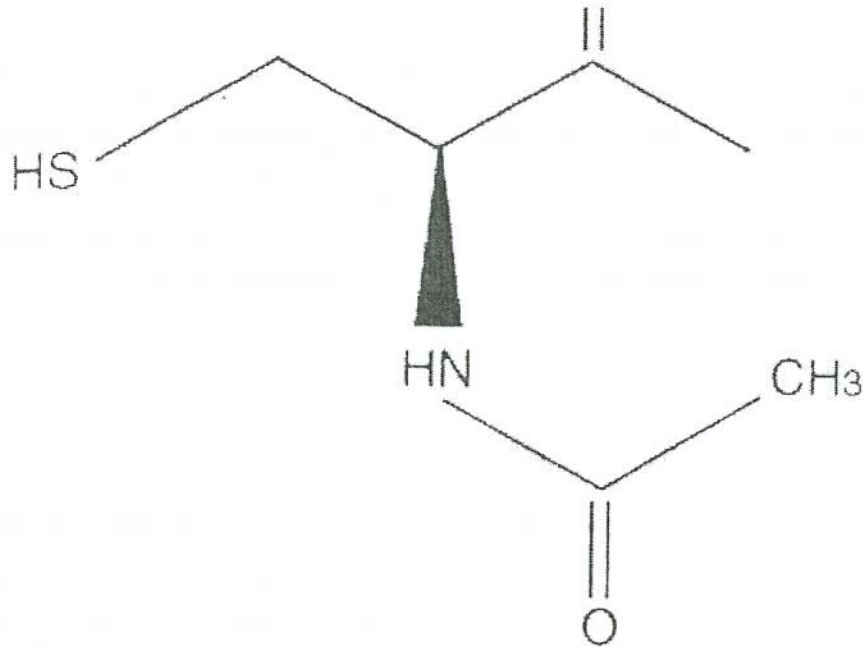
2.12. N-asetilsistein (NAC)

Farmakodinamik özellikleri

NAC L-sistein aminoasitinin N-asetillenmiş bir türevidir (75). NAC mukolitik bir ajandır. Sahip olduğu sülfidril (Şekil 2.5.) grubu ile mukus glikoproteini içerisindeki disülfid bağlarını koparma yeteneği sayesinde, mukoid ve mukopürülan sekresyonlar üzerine mukolitik etki gösterir. Bronşial sekresyonların atılımını ve solunumu kolaylaştırarak akciğer fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur.

NAC antioksidan bir maddedir. Moleküler yapısı nedeniyle hücre içine kolayca giren NAC, burada deasetillenerek L-sistein'e dönüşür. Akciğer ve karaciğerde glutatyon sentezine sistein vericisi olarak katılır ve glutatyon sentezini artırır. Bu yönüyle NAC hücre içinde glutatyonun ön maddesi vazifesini görür.

Ayrıca sahip olduğu nükleofilik serbest tiyol (-SH) grubu aracılığıyla, oksidan radikallerin elektrofilik grubu ile etkileşime girerek de direkt serbest radikal temizleyicisi gibi davranır (76,77). Nötrofil agregasyonunu ve NO'nun yeniden oluşmasını inhibe eder (78). Sitokin üretimi ve salınmasını önler (79).



Şekil 2.5. NAC'ın moleküler yapısı

Farmakokinetik özellikleri

İnhalasyon veya intratrakeal uygulama sonrası, uygulanan NAC'ın büyük kısmı mukus ile reaksiyona girer. Kalan ilaç pulmoner epitel tarafından emilir. Kana geçen asetilsistein karaciğerde metabolize edilir. Karaciğerde sistein olarak tespit edilebilir.

Oral alımında, karaciğerde ilk geçişte metabolize olduğundan biyoyararlanımı düşüktür. 600 mg N-asetilsistein'in intravenöz yoldan

uygulanması sonrası ulaştığı maksimum konsantrasyon değeri 300nmol/L, plazma dağılım hacmi 0.34L/kg ve yarılanma ömrü 6 saattir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %50'dir.

Başlıca akciğer dokusu ve bronşial sekresyon olmak üzere karaciğer ve böbreklere dağılımı iyidir. Başlıca böbrekler ve karaciğer yolu ile atılır (79).

Endikasyonları

30 yıldan daha uzun süredir klinik kullanımda olan NAC, öncelikle bir mukolitik olarak ve asetaminofen zehirlenmesinin tedavisinde altın standart olarak kullanılır. NAC hem hücre içi glutatyon sentezini arttırması hem de direkt SOR temizleyicisi olma özelliğinden dolayı da bir antioksidan olarak kullanılır. Son zamanlarda radiografik kontrast ajanları alan hastalarda SOR'nin uyardığı renal disfonksiyonu azalttığı gösterilmiştir (78,80).

Asetaminofen toksitesi, akut respiratuar distress sendromu, kanser, kronik bronşit, epilepsi, kalp hastalıkları, ağır metal zehirlenmeleri, HIV enfeksiyonu, influenza'yı önleme ve Sjogren's sendromu NAC verilmesinin klinik endikasyonları arasındadır (75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.04.2011 tarih ve 212/2011 kayıt numaralı onayı sonrasında çalışmaya başlandı. Deney hayvanları Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edildi. Ortalama ağırlıkları 300-350gr. olan 40 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat randomize olarak eşit sayıda (n = 10) 4 gruba ayrıldı. Ratlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan ısı (20-22 C) ve nemi (%45-%50) otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm ratlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart rat yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

3.1. Deneklerin Hazırlanması Ve Operasyon Tekniği

Deneyde kullanılacak tüm ratlar yapılacak işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Tüm ratlara 8 saat açlık sonrasında intramuskuler olarak 50mg/kg ketamine Hidroklorür (Ketalar® 50mg/ml flakon, Pfizer) anestezisi verildi. Gerekli olduğunda deney süresince bir kez olmak üzere ek doz yapılması planlandı. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonda masaya yatırıldı. Ciltleri aseptik olarak hazırlanan ratların önce cut-down yöntemi ile sağ internal juguler venleri sarı branül ile kanüle edildi. Ardından ksifoidin hemen altından pubisin 0,5 cm üstüne kadar orta hat median laporotomi yapıldı. Laporotomi sonrası barsaklar nemli gazlı bez yardımı ile sağa deviye edildi. Sıvı resüsitasyonu amacıyla peritoneal boşluğa yaklaşık 10ml serum fizyolojik enjekte edildi. İnfrarenal abdominal aorta künt diseksiyonla explore edildi. Tüm sıçanlara antikoagülan amaçlı düşük doz (100ü/kg) heparin (Nevparin 25000 IU 5ml. flakon, Mustafa Nevzat) yapıldı. İnfrarenal abdominal aortaya atravmatik mikrovasküler klemp kondu. (Nova® 12 mm Angle) Isı ve sıvı kaybını en aza indirmek amacıyla batın kesisi ipek dikişlerle yaklaştırıldı. 60 dakikalık iskemiye takiben 120 dakika reperfüzyon periyodu uygulandı. İşlem süresince hidrasyon amaçlı 10ml/kg %0,9 luk SF İ.V yolla verildi. Aortik iskemi, klempleme işlemi sonrasında aortada pulsasyon kaybı, reperfüzyon ise klempin kaldırılmasından sonra aortada

pulsasyon varlığı ile takip edildi. Kontrol grubuna ait ratlara laparotomi ve eşit sürede İAA diseksiyonu uygulandı ancak bu gruba İ-R uygulanmadı. Reperfüzyon sonrası tüm ratlar sakrifiye edilip sağ ventrikülden kan, gastrokinemius kasından ise doku örnekleri alındı. Kas dokusu örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonu içinde saklandı.

3.2. Deney Grupları

Kontrol Grubu (Grup 1) (n=10)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında internal juguler ven kanülasyonunu takiben median laparotomi yapılarak infrarenal aort explore edildi. Aort oklüde edilmedi. Batın içine serum fizyolojik enjekte edilerek batın kesisi ipek sütürlerle yaklaştırıldı. Diğer gruplara uygulanan 1saat iskemi, 2saat reperfüzyon süresi tamamlandı. İşlem sonunda kan ve kas örnekleri alınarak ratlar sakrifiye edildi.

İskemi Reperfüzyon (SHAM) Grubu (Grup 2) (n=10)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında juguler ven kanülasyonunu takiben median laporotomi yapılarak infrarenal aort explore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Klemp altında pulsasyonun kaybolduğu kontrol edildi. Batın içine serum fizyolojik enjekte edilerek batın ipek ile yaklaştırıldı. 1saatlik iskemi ardından ipekler alındı. Mikrovasküler klemp kaldırıldı. Aortada tekrar pulsasyonun başladığı palpe edildi. Batın içine serum fizyolojik verildi. Batın katları tekrar yaklaştırıldı. 2 saatlik reperfüzyon periyodunun ardından kan ve kas dokusu alınarak sıçanlar sakrifiye edildi.

İskemi Reperfüzyon + İloprost Grubu (Grup 3) (n=10)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında internal juguler kanülasyonu takiben median laporotomi yapılarak infrarenal aorta explore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi. Pulsasyon kaybı kontrol edildi. Batın içine serum fizyolojik enjekte edilerek batın ipek ile yaklaştırıldı. 1saatlik iskemi periyodu sırasında iskeminin 50. dakikasında iloprost 2 mcg/kg/h dozunda juguler kateterden

infüzyon şeklinde başlandı. İskemi periyodu tamamlanınca mikrovasküler klemp kaldırıldı.Aortada pulsasyon varlığı kontrol edildi. Batın içine serum fizyolojik enjekte edildi.Batın tekrar kapatılarak 2 saatlik reperfüzyon periyodu süresince iloprost infüzyonuna devam edildi.işlem sonunda kan ve kas dokusu örnekleri alınıp ratlar sakrifiye edildi.

İskemi Reperfüzyon + NAC Grubu (Grup 4) (n=10)

Genel cerrahi hazırlık ve anestezi indüksiyonu sonrasında internal juguler kanülasyonu takiben median laparotomi yapılarak infrarenal aorta explore edildi. Aort künt diseksiyonla dönüldü ve atravmatik mikrovasküler klemp yerleştirildi.Pulsasyon kaybı kontrol edildi.Batın içine serum fizyolojik enjekte edilerek batın ipek ile yaklaştırıldı. 1saatlik iskemi periyodu sırasında iskeminin 50. dakikasında 20 mg/kg NAC, juguler kateterden bolus şeklinde yükleme dozu olarak verildi ve 20 mg/kg/h dozunda da infüzyonuna başlandı. İskemi periyodu tamamlanınca mikrovasküler klemp kaldırıldı.Aortada pulsasyon varlığı kontrol edildi. Batın içine serum fizyolojik enjekte edildi.Batın tekrar kapatılarak 2 saatlik reperfüzyon periyodu süresince NAC infüzyonuna devam edildi.İşlem sonunda kan ve kas dokusu örnekleri alınıp ratlar sakrifiye edildi.

3.3 Biyokimyasal İşlemler

Ratlar'dan alınan kanlar oda sıcaklığında yarım saat bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika çevrilerek, eritrositlerden ayrılan plazma -70 derecede saklandı. Sonrasında saklanmış plazmalar oda sıcaklığına getirilerek, TAS, TOS, CK ve LDH değerleri biyokimya bölümü tarafından ölçüldü.

3.3.1. Total Antioksidan Seviye

Reaktif oksijen maddeleri metabolik ve fizyolojik süreçlerle meydana gelmektedir ve bu maddeleri enzimatik ve non-enzimatik yollarla ortadan kaldıran organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilmektedir. Belirli şartlarda, oksidanlardaki artış ve anti-oksidanlardaki düşüş önlenemez ve oksidatif stres gibi 100'ün üzerinde bozukluk gelişir. (81)

Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları önler veya ortadan kaldırır. (82) Farklı antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilmekte fakat bu ölçümler fazlasıyla zaman alan, emek isteyen, pahalı ve karışık teknikler gerektirmektedir. Farklı antioksidan moleküllerinin ölçümleri pratik olmadığından ve antioksidan etkilerinin aditif olmasından dolayı, total antioksidan kapasite ölçüldü ve bu, total antioksidan kapasitesi (TAK) , total antioksidan aktivitesi (TAA), total antioksidan seviye (TAS) gibi farklı isimlerle adlandırıldı.

TAS ölçüm yöntemi Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (83).

Testin prensibi; ABTS+ (2,2'-azinobis-3-ethylebenzothiazoline-6-sulfonate), radikalini oluşturduğu mavi-yeşil rengin ortama ilave edilen numunedeki antioksidanlar ile azalması esasına dayanmaktadır. ABTS, ABTS+ radikalini oluşturmak üzere bir peroksidaz olan metmiyoglobin (HX-Fe⁺) ve H₂O₂ ile inkübe edilir. Oluşan ferrilmiyoglobin ABTS ile ABTS+ radikalini oluşturmak üzere reaksiyona girer. ABTS+ radikali kısmen stabil, mavi-yeşil renktedir. İlave edilen numunedeki antioksidanların oranına göre renk oluşumu inhibe olur. Bu renk değişimi 600 nm'lik dalga boyunda ölçülür. TAS hesaplanmasında bir E vitamini analogu olan Trolox standart olarak kullanıldı (84).

3.3.2. Total Oksidan Seviye

TOS ölçüm yöntemi Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (85). Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine bileşkesini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir bileşke oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (85). Çalışma hidrojen peroksitle kalibre edilmekte ve sonuçlar litredeki hidrojen peroksit eşdeğerinin mikromolar cinsinden ifade edilmektedir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$) (86).

3.4. Kas Dokularının Histopatolojik İncelenmesi

Ratlardan elde edilen gastroknemius kası %10'luk nötral formalinde fikse edildi, dereceli olarak artan alkol serilerinde dehidre edildikten sonra, ksilolde şeffaflaştırıldı ve parafine gömüldü. 5 µm kalınlığında alınan kesitler poly-L-lysine-kaplı lamlara alınıp, hematoksilin ve eosin ile boyandı. Doku fotoğrafları DP70 dijital kamera ekli Olympus marka fotomikroskop ile görüntülendi.

Doku hasarının semikantitatif olarak skorlaması yapıldı. Hasarın şiddeti skorlamada (0): hasar yok, (1): hafif, (2): orta ve (3): şiddetli olarak değerlendirildi. Hasar; kas fibrillerindeki çizgilenmede kayıp, periferik nükleuslarda belirsizlik, nekroz, hücresel şişme, ödem ve fibrozis, kas fibrilleri arasında kapillerlerde lökosit kümelenmesi, konjesyon, hemoraji, PMNL, monosit ve makrofaj infiltrasyonları açısından değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler istatistiksel olarak incelendi. Gruplar arasındaki farklılıkları değerlendirmek amacıyla Kruskal-Wallis Tek Yönlü Varyans Analizi Testi, her bir grubun diğerlerinden farkını değerlendirmek amacıyla da Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı. Verilerin değerlendirmesinde de SPSS 15.0 for Windows ve Sigma Stat for Windows 3.10 istatistiksel paket programı kullanıldı. Sıfır Hipotezinin Reddi için $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Ratların plazmalarından çalışılan TAS,TOS,CK ve LDH değerleri Tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Biyokimyasal veriler.

	TAS	TOS	CK	LDH
GRUP 1	1,768	13,03	4520	2648
	1,664	7,56	5732	2482
	1,693	5,49	6202	1984
	1,598	14,02	5892	2098
	1,756	11,52	6348	2154
	1,836	10,26	3307	2286
	1,811	9,85	4265	2341
	1,789	11,36	3984	2069
	1,902	12,01	5874	1976
	1,823	10,62	4698	2275
GRUP 2	1,154	64,51	32120	6340
	1,052	59,33	30140	5591
	1,172	48,65	29548	7087
	0,985	52,32	27877	5874
	1,103	61,45	24559	6152
	1,174	51,83	28598	5982
	0,865	59,24	26558	6098
	1,115	60,31	30125	5943
	0,968	55,98	29741	5783
	1,067	53,69	28114	6057
GRUP 3	1,392	32,83	14037	3672
	1,403	24,56	13196	4062
	1,298	25,63	17152	3985
	1,305	30,87	16542	3856
	1,441	29,54	15698	4126
	1,372	26,79	14569	4095
	1,306	23,58	18475	3753
	1,289	28,95	17548	3943
	1,365	21,76	16329	3872
	1,319	30,74	17631	4013
GRUP 4	1,307	41,23	22442	4764
	1,304	35,01	22698	4526
	1,256	38,69	19659	4362
	1,338	40,98	21643	4861
	1,294	39,78	20212	4687
	1,165	45,01	18548	4469
	1,278	37,24	23182	5024
	1,321	42,52	19461	4679
	1,245	41,83	20241	5124
	1,249	36,98	21342	5367
	mmol/l	micmol/l	U/l	U/l

Sonuçlar Kruskal-Wallis Tek Yönlü Varyans Analizi Testi ile istatistiksel olarak değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında anlamlı farklılık ($p<0.05$) saptandı (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Biyokimyasal verilerin Varyans Analizi.

Parametreler	Gruplar	$\bar{X} \pm$ standart sapma	İstatistik(F)	p
TAS	Grup 1	1.764 \pm 0.09	145.785	P<0.05
	Grup 2	1.065 \pm 0.10		
	Grup 3	1.349 \pm 0.05		
	Grup 4	1.275 \pm 0.049		
TOS	Grup 1	10.57 \pm 2.51	284.155	P<0.05
	Grup 2	56.73 \pm 5.02		
	Grup 3	27.52 \pm 3.61		
	Grup 4	39.92 \pm 2.99		
CK	Grup 1	5082 \pm 1056	357.774	P<0.05
	Grup 2	28738 \pm 2117		
	Grup 3	16117 \pm 1720		
	Grup 4	20942 \pm 1549		
LDH	Grup 1	2231 \pm 218	314.181	P<0.05
	Grup 2	6090 \pm 406		
	Grup 3	3937 \pm 148		
	Grup 4	4786 \pm 313		

\bar{X} = ortalama

Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi yapıldığında TAS değerlerinin ortalaması Grup 1 de en yüksek, Grup 2 de ise en düşük olarak saptandı.

Grup 3 ve Grup 4 de ise bu değerler Grup 1 den düşük, Grup 2 den ise daha yüksek ölçüldü ($p<0.05$). Fakat Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

TOS, CK ve LDH değerlerinin ortalaması Grup 2 de en yüksek, Grup 1 de en düşük olarak ölçüldü. Grup 3 ve Grup 4 de ise bu değerler Grup 2 den düşük, Grup 1 den ise daha yüksek saptandı ($p<0.05$). Grup 3 ve Grup 4 kendi arasında kıyaslandığında, Grup 3 deki TOS, CK ve LDH değerlerinin Grup 4 den daha düşük olduğu anlamlı olarak saptandı ($p<0.05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Biyokimyasal verilerin kendi aralarında karşılaştırılması.

Parametreler	Gruplar	Grup 2	Grup 3	Grup 4
TAS	Grup 1	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	Grup 2		P<0.05	P<0.05
	Grup 3			P>0.05
TOS	Grup 1	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	Grup 2		P<0.05	P<0.05
	Grup 3			P<0.05
CK	Grup 1	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	Grup 2		P<0.05	P<0.05
	Grup 3			P<0.05
LDH	Grup 1	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	Grup 2		P<0.05	P<0.05
	Grup 3			P<0.05

4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol ve deney grupları üzerinde yapılan histolojik inceleme

sonuçları tablolarda verilmiştir (Tablo 4.4.-4.5.-4.6.-4.7.). Tüm gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonuçları ise Tablo 4.8. de verilmiştir.

Tablo 4.4. Kontrol grubu (Grup 1) histolojik bulguları.

KONTROL GRUBU	Çizgilenmede Kayıp	Periferik Nükleuslarda Belirsizlik	Nekroz	Hüresel Şişme	Ödem	Fibrozis	Kapillerlerde Lökosit Kümelemesi	Konjesyon	Hemoraji	PMNL İnfiltrasyonu	Monosit/Makrofaj İnfiltrasyonu
K-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K-2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
K-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K-4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
K-5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
K-6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K-7	0	0	0	0	1	1	1	2	0	1	2
K-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K-9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K-10	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0

0: yok/normal

1: hafif

2: orta

3: şiddetli

Tablo 4.5. İskemi-reperfüzyon (sham) grubu (Grup 2) histolojik bulguları.

SHAM GRUBU	Çizgilenmede Kayıp	Periferik Nükleuslarda Belirsizlik	Nekroz	Hüresel Şişme	Ödem	Fibrozis	Kapillerlerde Lökosit Kümelemesi	Konjesyon	Hemoraji	PMNL İnfiltrasyonu	Monosit/Makrofaj İnfiltrasyonu
S-1	1	0	1	1	3	2	2	1	0	3	3
S-2	1	1	1	1	1	2	2	1	0	3	2
S-3	2	2	2	1	3	3	3	3	0	3	3
S-4	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
S-5	2	0	2	1	2	2	2	2	0	3	2
S-6	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1
S-7	2	0	2	2	2	2	2	2	1	3	3
S-8	2	0	2	1	2	2	2	2	0	3	2
S-9	2	0	2	2	3	3	3	3	0	3	3
S-10	0	0	1	0	1	1	2	2	0	3	3

Tablo 4.6. İskemi-reperfüzyon + iloprost grubu (Grup 3) histolojik bulguları.

İLOP ROST GRUBU	Çizgilenmede Kayıp	Periferik Nükleuslarda Belirsizlik	Nekroz	Hüresel Şişme	Ödem	Fibrozis	Kapillerlerde Lökosit Kümelemesi	Konjesyon	Hemoraji	PMNL İnfiltrasyonu	Monosit/Makrofaj İnfiltrasyonu
İ-1	1	0	1	0	1	1	0	3	1	0	2
İ-2	0	0	0	0	1	1	0	2	0	2	0
İ-3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
İ-4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
İ-5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
İ-6	2	0	2	1	2	2	2	2	0	2	2
İ-7	0	0	1	1	2	2	1	3	0	2	2
İ-8	1	0	1	0	2	2	2	3	0	2	1
İ-9	2	0	2	0	2	2	2	3	0	2	2
İ-10	0	0	0	0	1	1	1	2	0	1	1

Tablo 4.7. İskemi-reperfüzyon + NAC grubu (Grup 4) histolojik bulguları.

NAC GRUBU	Çizgilenmede Kayıp	Periferik Nükleuslarda Belirsizlik	Nekroz	Hüresel Şişme	Ödem	Fibrözis	Kapillerlerde Lökosit Kümelmesi	Konjesyon	Hemoraji	PMNL infiltrasyonu	Monosit/Makrofaj infiltrasyonu
N-1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1
N-2	0	0	0	0	2	2	1	2	0	2	0
N-3	1	0	1	0	2	3	0	2	1	0	2
N-4	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
N-5	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
N-6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
N-7	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0
N-8	1	0	1	2	2	3	2	2	0	2	2
N-9	1	0	2	2	3	3	3	3	3	3	2
N-10	2	1	2	1	2	2	0	2	0	1	2

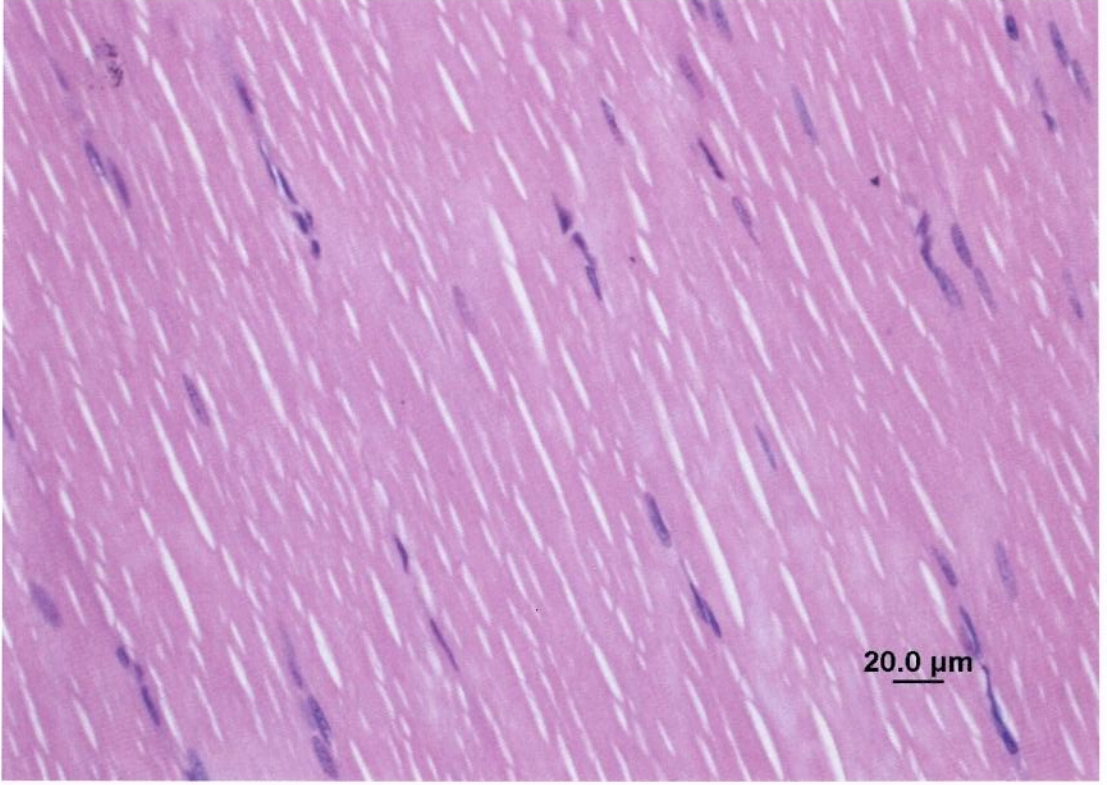
0: yok/normal 1: hafif 2: orta 3: şiddetli

Tablo 4.8. Tüm grupların genel histolojik bulguları.

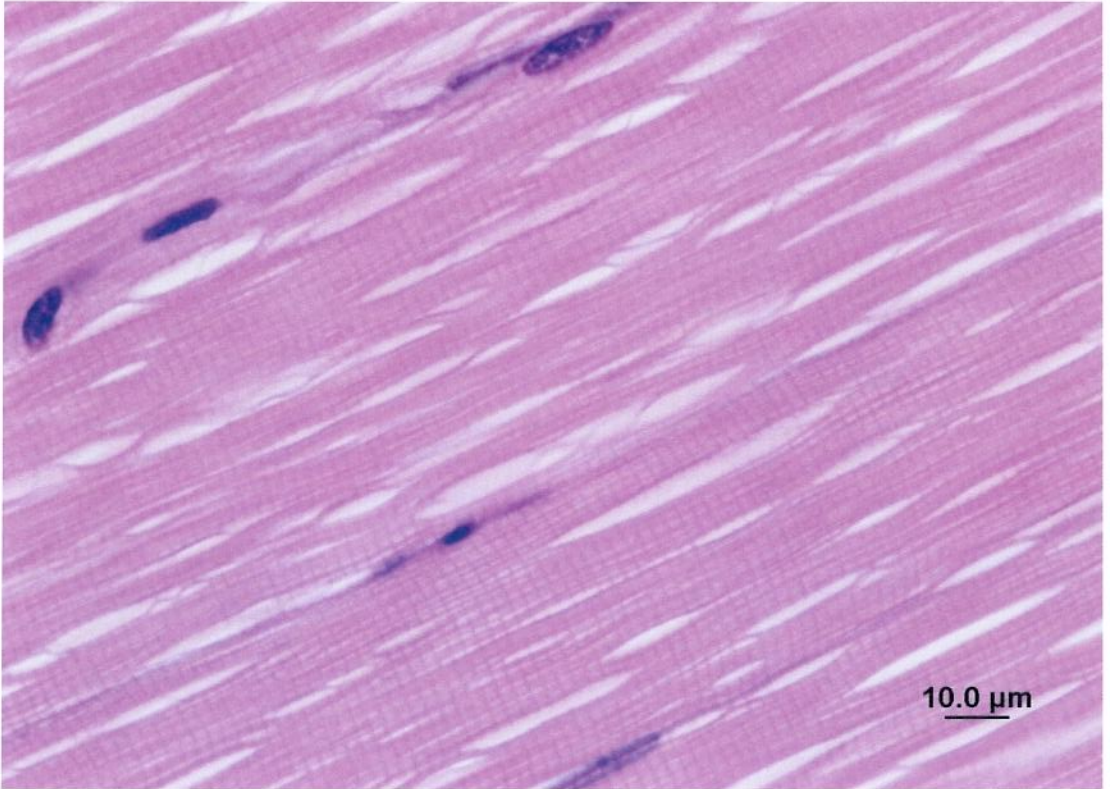
GRUPLAR	Çizgilenmede Kayıp	Periferik Nükleuslarda Belirsizlik	Nekroz	Hüresel Şişme	Ödem	Fibrözis	Kapillerlerde Lökosit Kümelmesi	Konjesyon	Hemoraji	PMNL infiltrasyonu	Monosit/Makrofaj infiltrasyonu
KONTROL GRUBU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I-R GRUBU	1	0	2	1	2	2	2	2	0	3	2
İLOP ROST GRUBU	2	0	1	0	1	1	2	2	0	1	1
NAC GRUBU	2	0	1	1	2	2	1	1	0	1	1

Hematoksilin ve eosin ile boyanan dokuların fotoğrafları DP70 dijital kamera ekli Olympus marka fotomikroskop ile görüntülendi.

Kontrol grubunda (Grup 1) normal kas dokusu görünümü vardı (Şekil 4.1-4.2). Kas fibrillerinde periferik nükeuslarda belirsizlik yoktu. Kas fibrillerindeki çizgilenme kaybı ve hüresel şişme, nekroz, ödem ve fibriller arası fibrozis gözlenmedi. Fibriller arasındaki kapillerlerde lökosit kümelenmesi yoktu. Konjesyon ve hemoraji gözlenmedi. PMNL infiltrasyonu ve monosit-makrofaj infiltrasyonuna ise rastlanmadı.

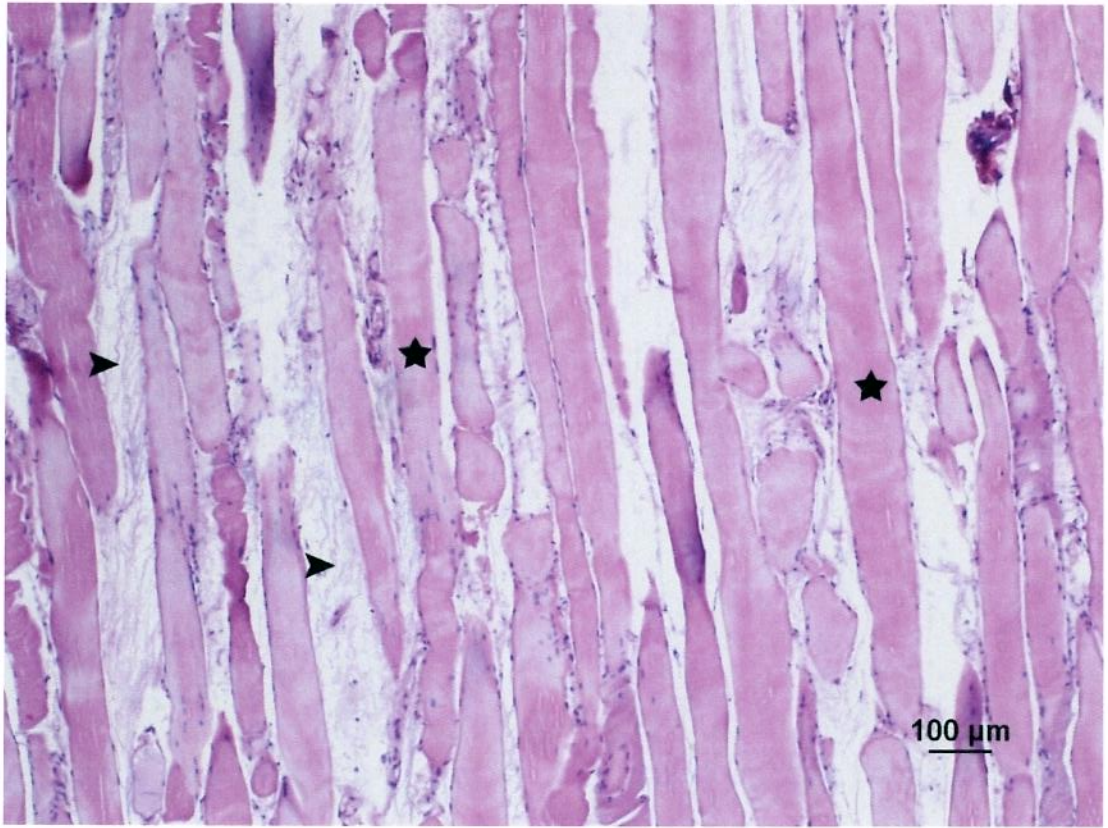


Şekil 4.1. Kontrol grubu gastrocnemius kasında normal görünüm. H&E.

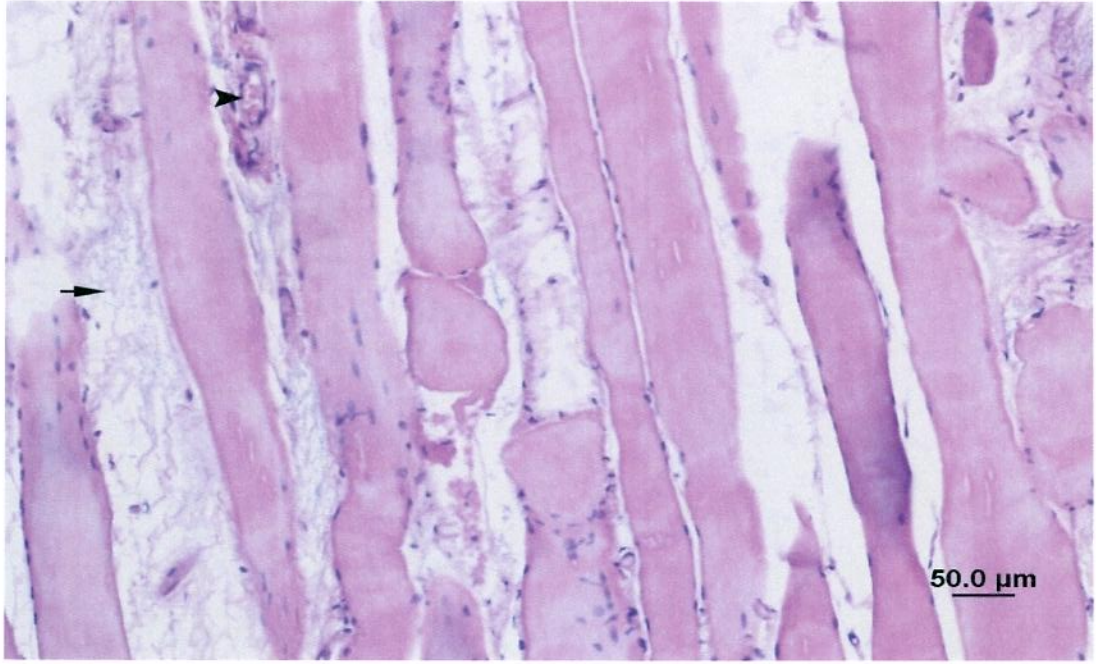


Şekil 4.2. Kontrol grubu gastrocnemius kasında normal görünüm. H&E.

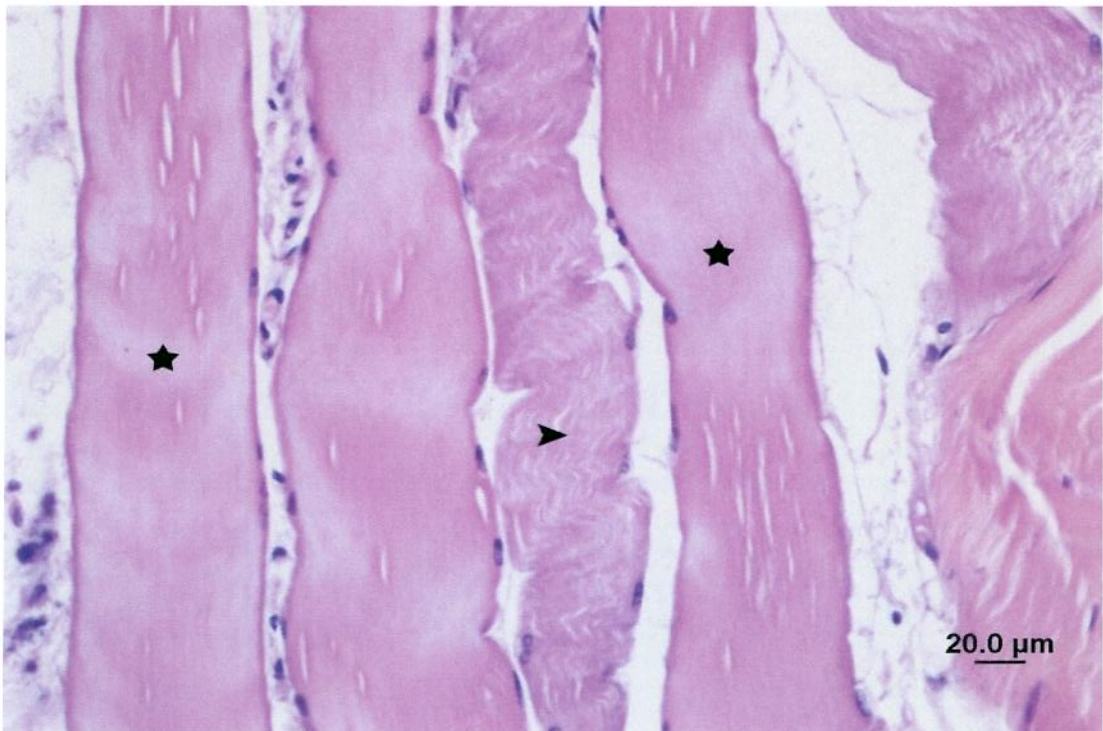
İskemi-Reperfüzyon (Grup 2) grubunda; kas fibrillerinde periferik nükeuslarda belirsizlik yoktu. Kas fibrillerindeki çizgilenme kaybı ve hücresel şişme hafif derecede, nekroz, ödem ve fibriller arası fibrozis orta derecede gözlemlendi. Fibriller arasındaki kapillerlerde lökosit kümelenmesi orta derecede idi. Konjesyon orta derecede gözlenirken, hemoraji yoktu. PMNL infiltrasyonu şiddetli, monosit-makrofaj infiltrasyonu ise orta derecede skorlandı (Şekil 4.3-Şekil 4.10).



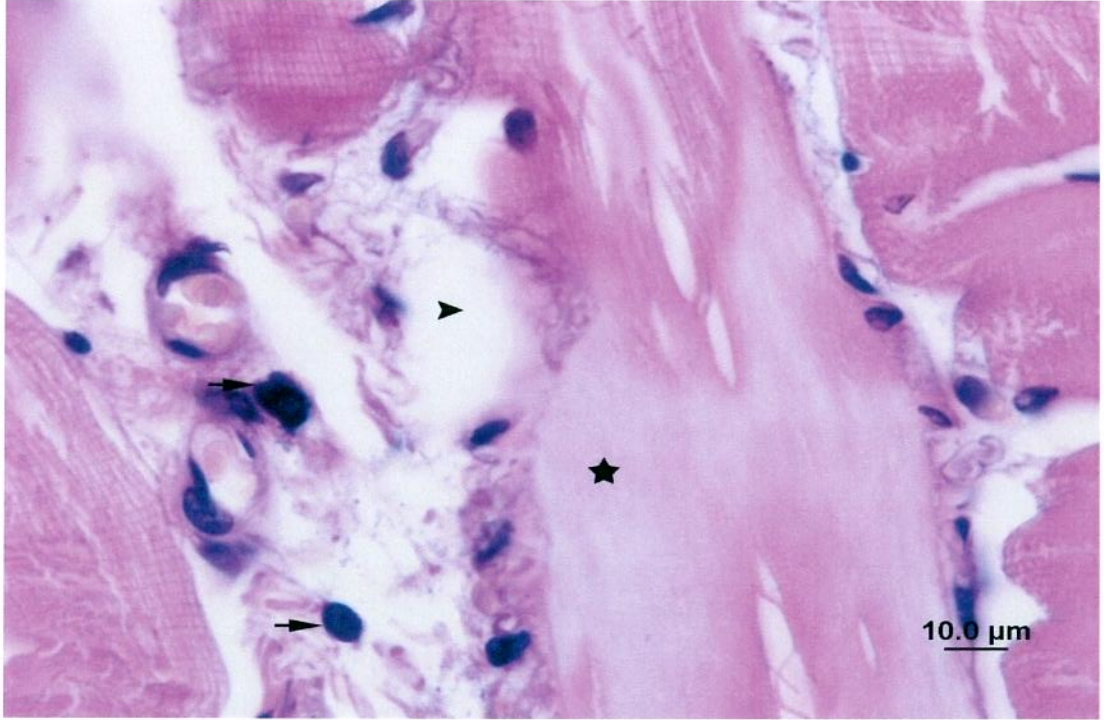
Şekil 4.3. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem ve fibrozis (ok başı) görülmekte. H&E, Bar 100 µm.



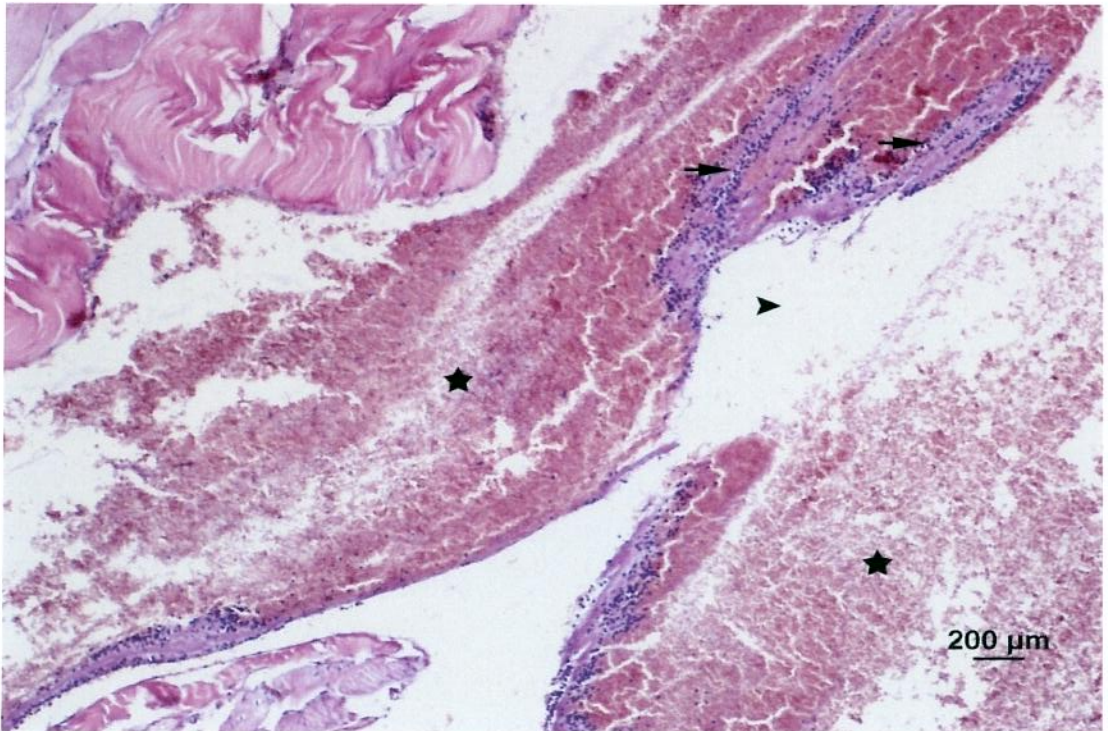
Şekil 4.4. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz, kas fibrilleri arasında ödem (ok), lökosit infiltrasyonu ve fibrozis, kapillerlerde konjesyon (ok başı). H&E, Bar 50 µm.



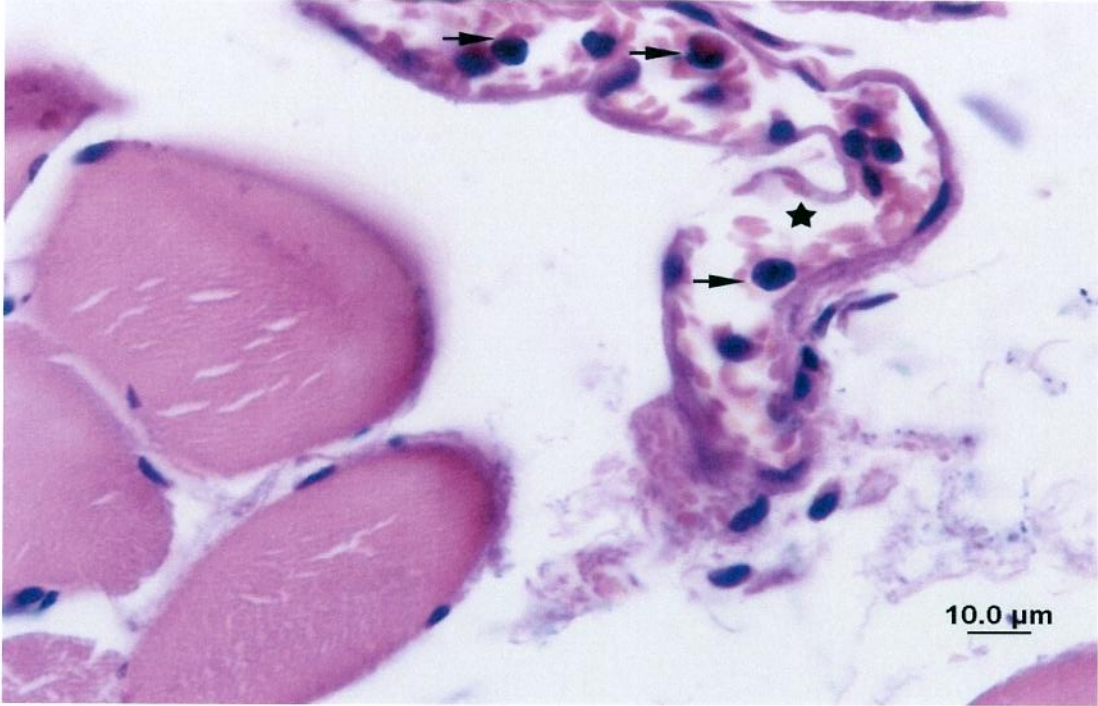
Şekil 4.5. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem, lökosit infiltrasyonu ve fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon. H&E, Bar 20 µm.



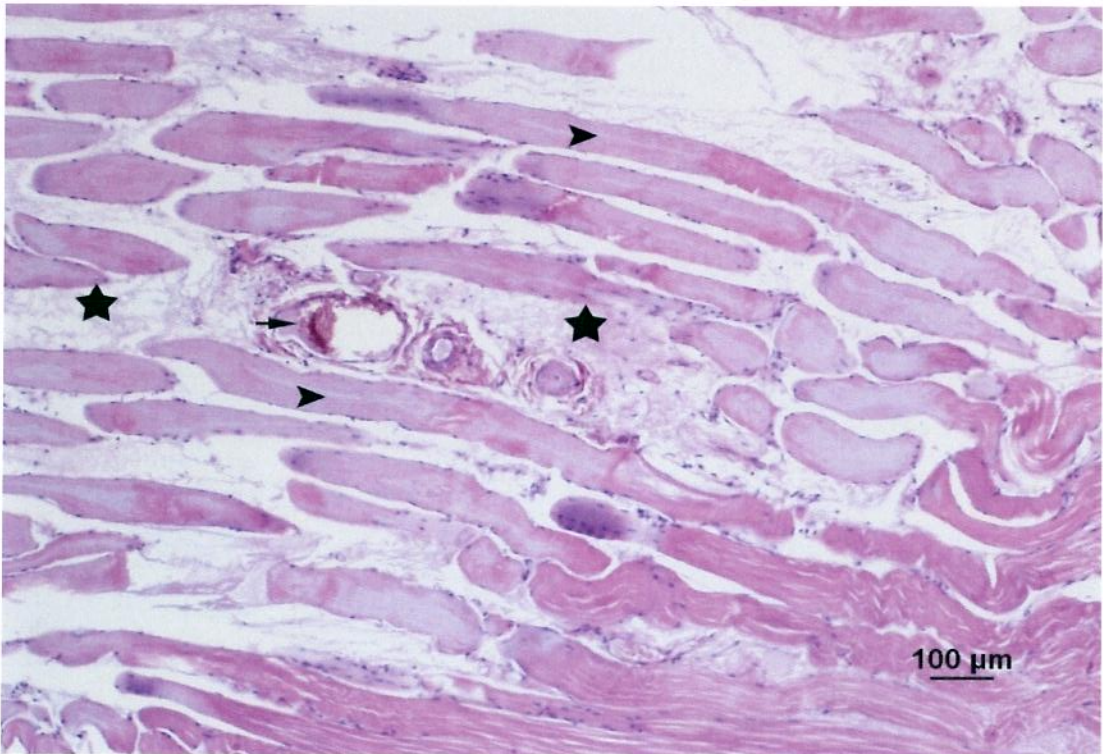
Şekil 4.6. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız), kas fibrilleri arasında ödem (ok başı), monosit ve makrofaj infiltrasyonu (ok), fibrozis, kapillerlerde konjesyon.



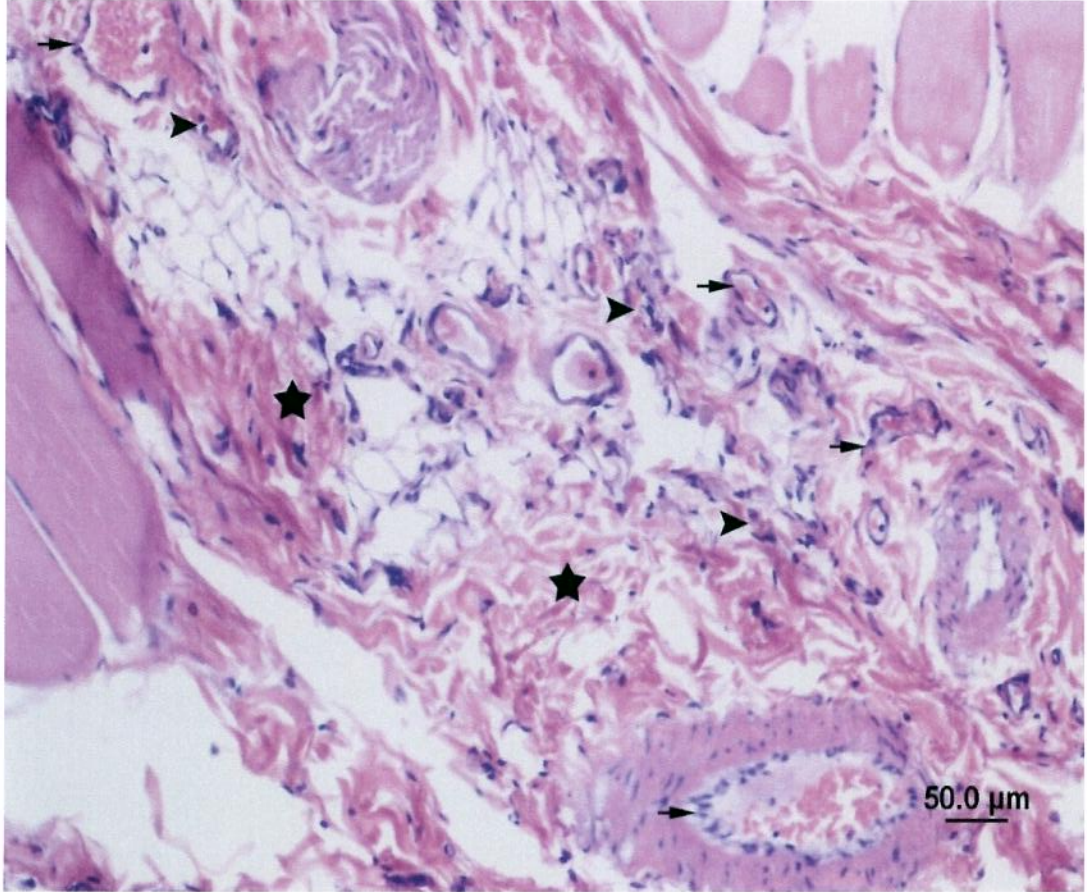
Şekil 4.7. : I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında ödem (ok başı), lökosit infiltrasyonu (ok), kapillerlerde konjesyon ve hemoraji (yıldız).



Şekil 4.8. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok), kapillerlerde konjesyon (yıldız). H&E, Bar 10 μ m

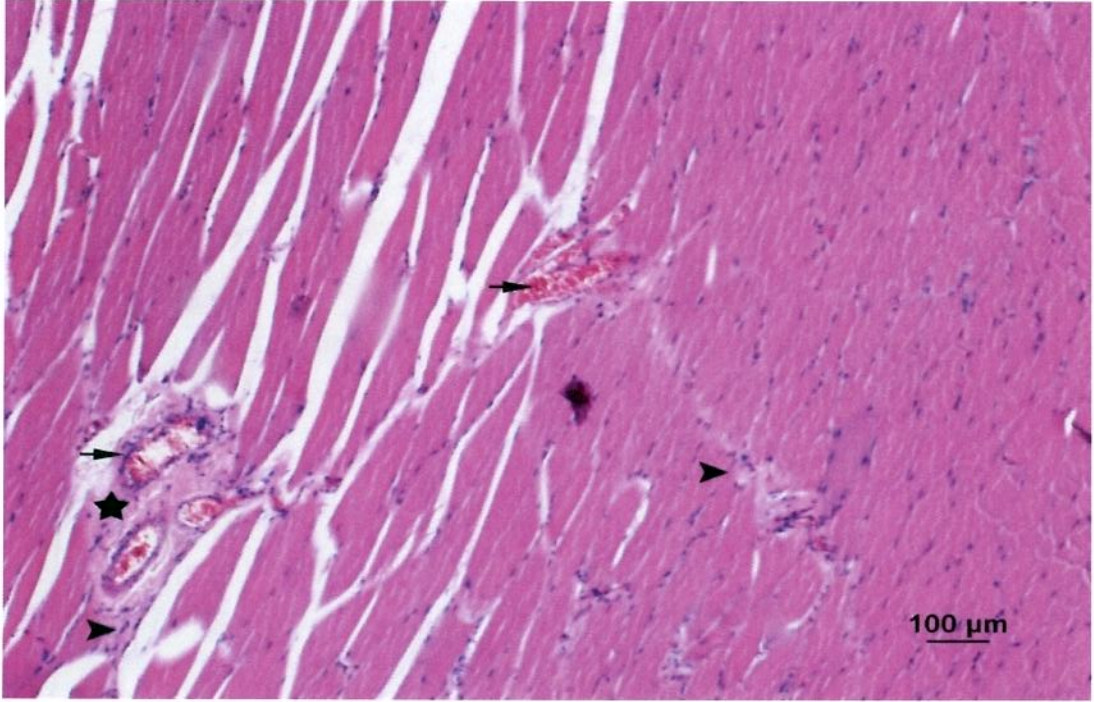


Şekil 4.9. I-R grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (ok başı), kas fibrilleri arasında ödem (yıldız), lökosit infiltrasyonu, fibrozis, kapillerlerde konjesyon (ok). H&E.

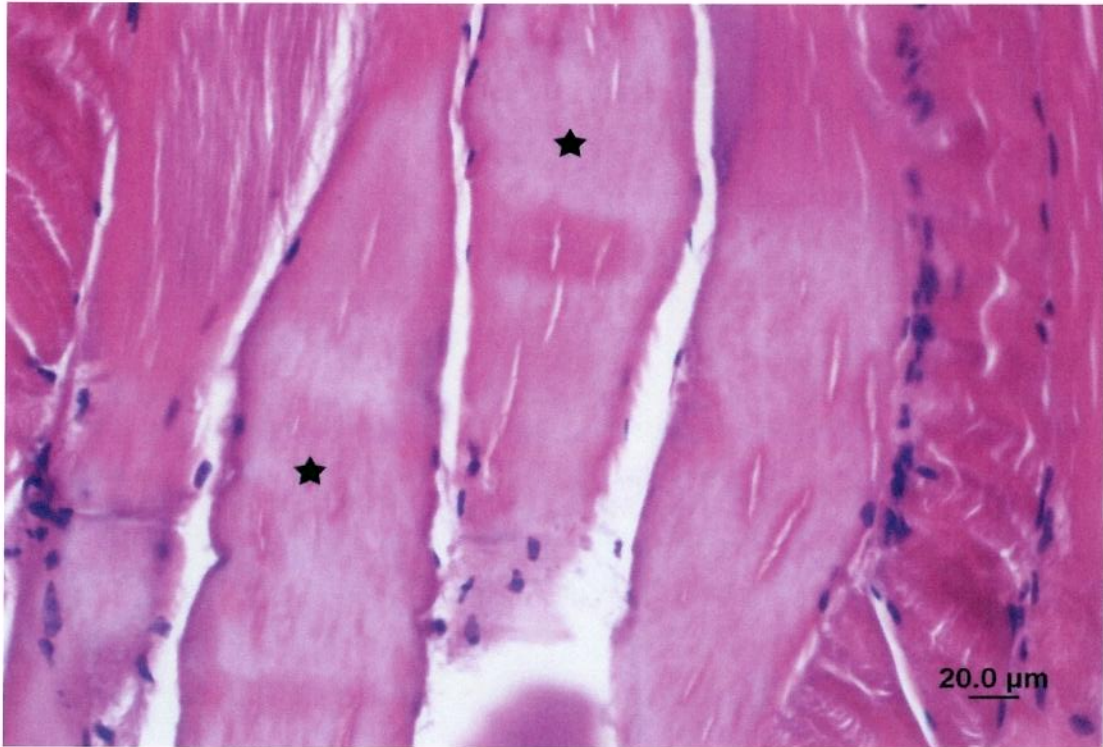


Şekil 4.10. : I-R grubu gastrocnemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz, kas fibrilleri arasında ödem, lökosit infiltrasyonu (ok başı), fibrozis (yıldız), kapillerlerde konjesyon (ok).

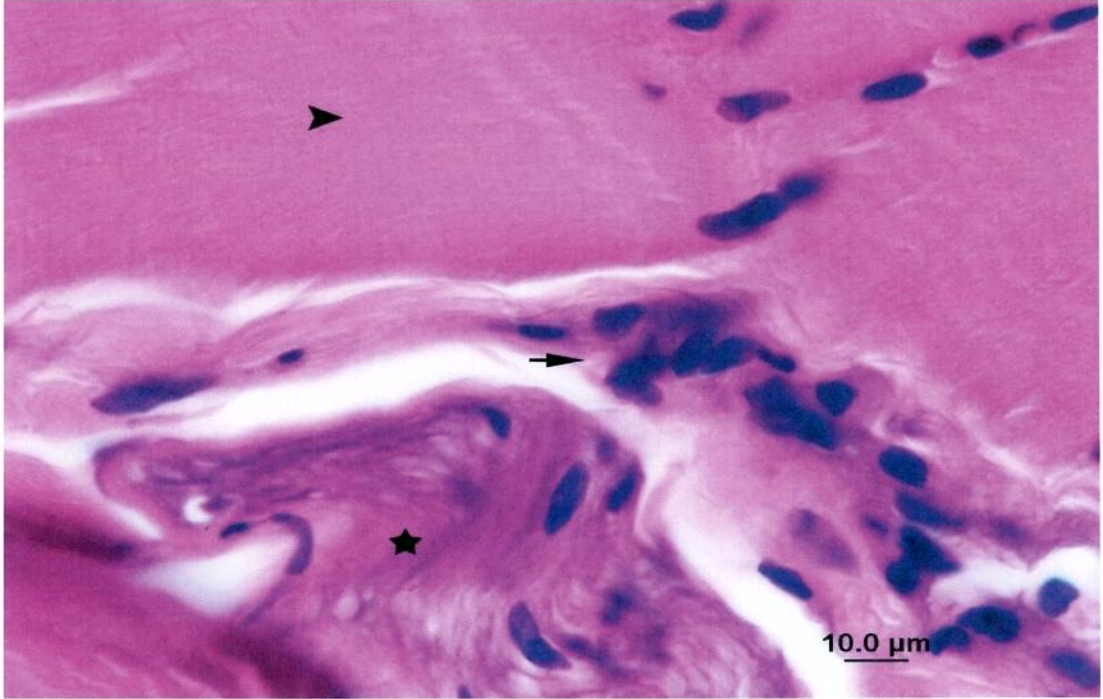
Iloprost grubunda (Grup 3); kas fibrillerinde çizgilenmede orta derecede kayıp vardı. Periferik nükleuslarda belirsizlik görülmedi. Fibrillerde hücresel şişme görülmezken, nekroz, ödem ve fibrozis orta derecede gözlendi. Fibriller arasındaki kapillerlerdeki lökosit kümelenmesi orta derecede idi. Konjesyon orta derecede iken, hemoraji bulgusu yoktu. PMNL, monosit-makrofaj infiltrasyonu hafif derecede skorlandı (Şekil 4.11 - 4.15).



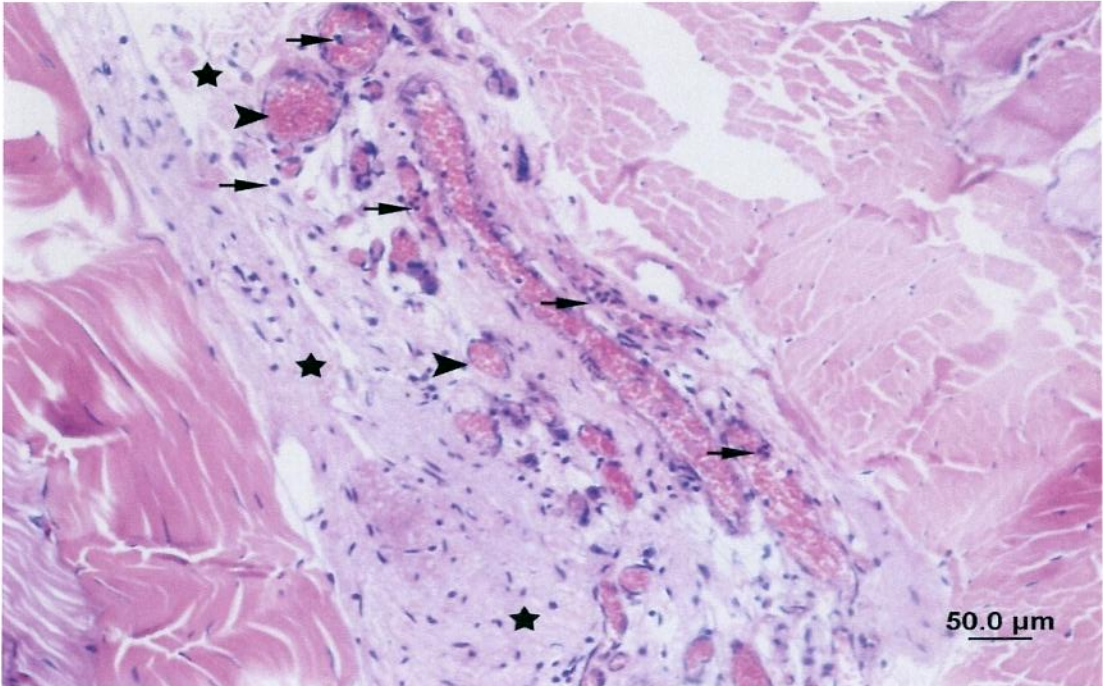
Şekil 4.11. İloprost grubu gastrocnemius kasında kapillerlerde konjesyon (ok) ve kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok başı). Ödem ve fibroziste azalma (yıldız). H&E, Bar 100 µm.



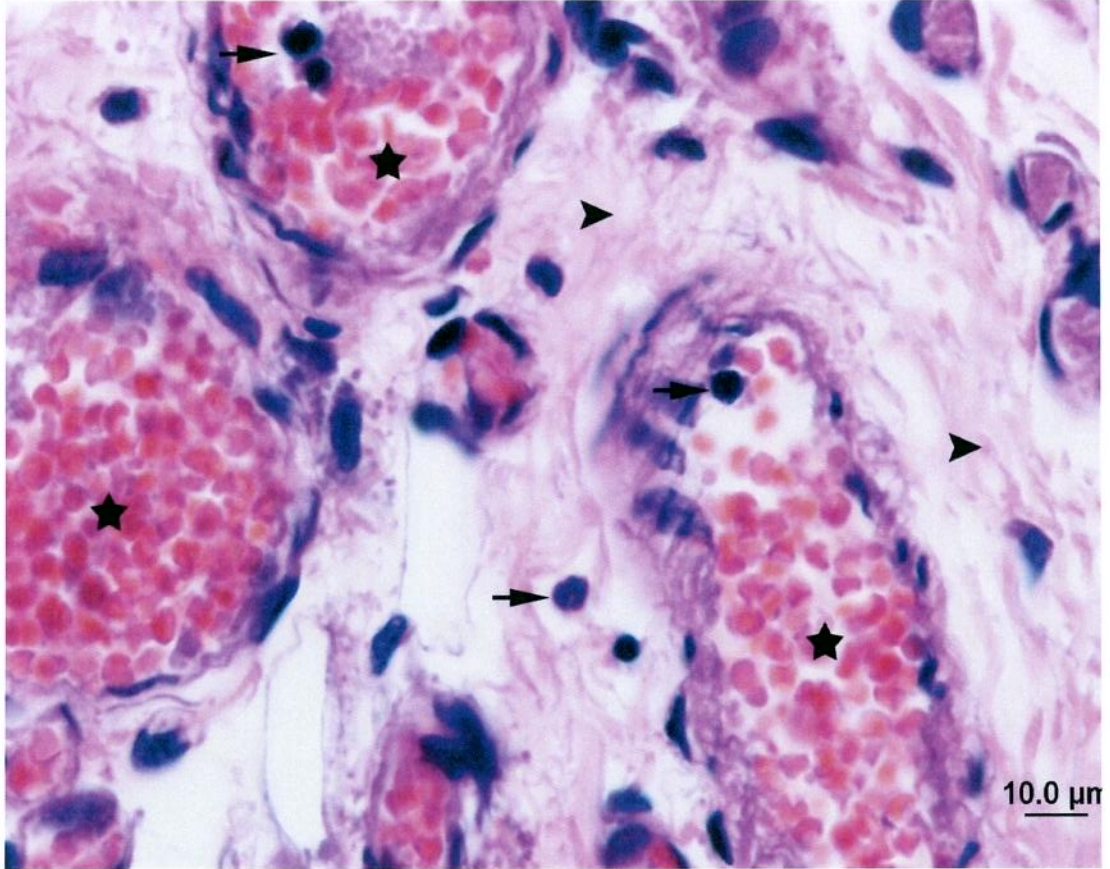
Şekil 4.12. İloprost grubu gastrocnemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme ve nekroz (yıldız). H&E, Bar 20 µm.



Şekil 4.13. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme, nekroz (ok başı), kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (yıldız). H&E, Bar 10 µm.

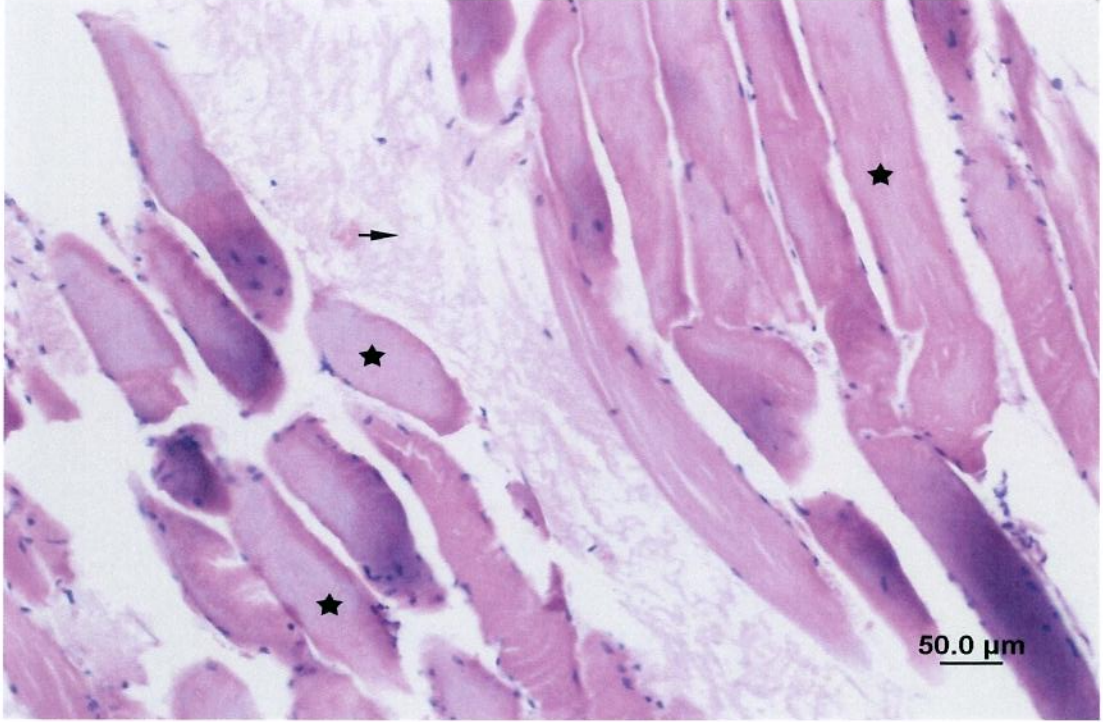


Şekil 4.14. İloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, hücresel şişme, nekroz, kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (yıldız), kapillerlerde konjesyon (ok başı). H&E.

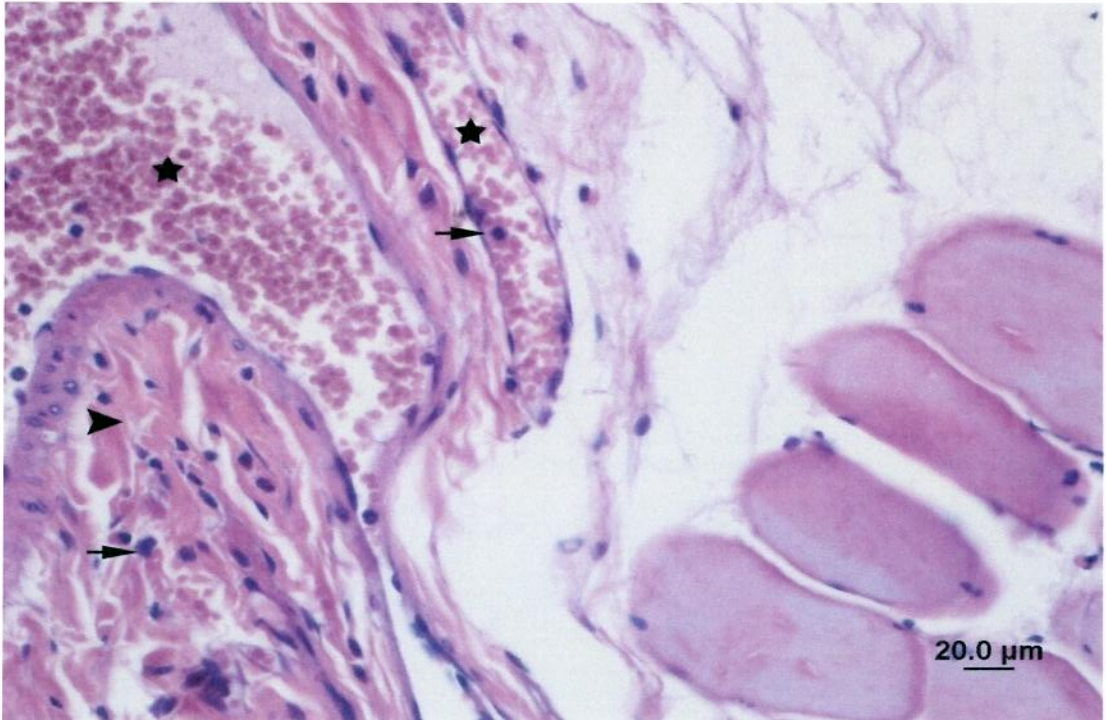


Şekil 4.15. Iloprost grubu gastroknemius kasında kas fibrilleri arasında lökosit infiltrasyonu (ok) ve fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon (yıldız). H&E, Bar 10 µm.

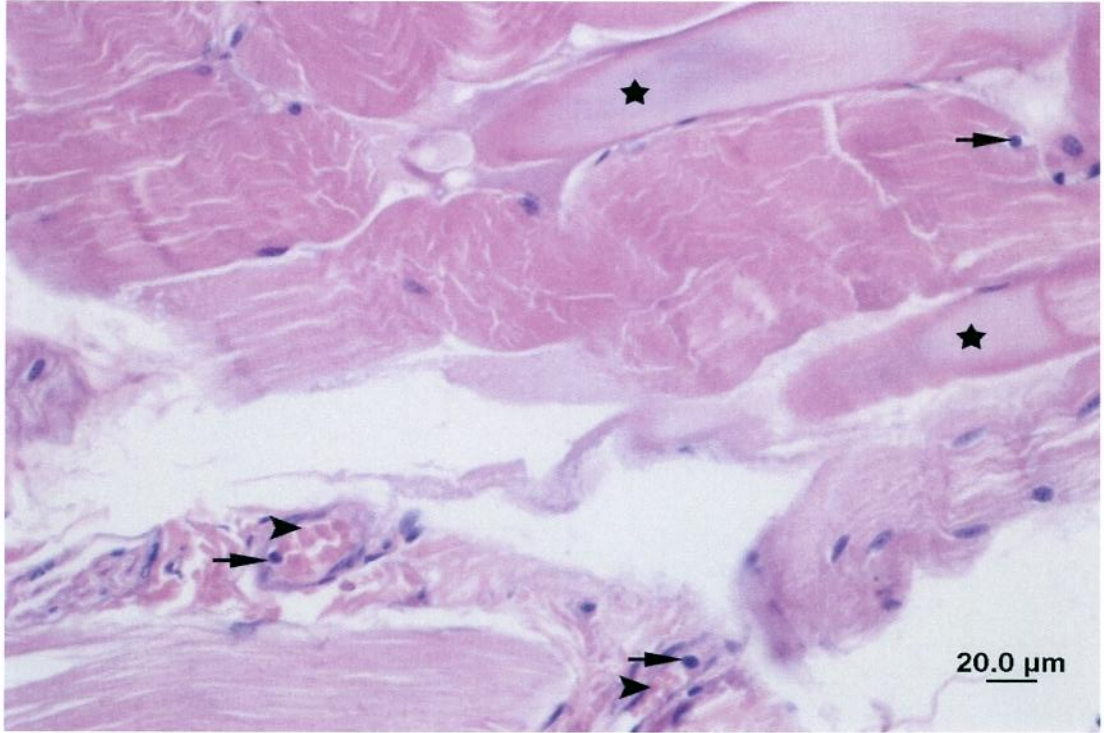
NAC grubunda (Grup 4); kas fibrillerinde çizgilenmede orta derecede kayıp vardı. Periferik nükleuslarda belirsizlik görülmedi. Fibrillerde hücresel şişme ve nekroz hafif, ödem ve fibrozis orta derecede gözlendi. Fibriller arasındaki kapillerlerdeki lökosit kümelenmesi, konjesyon PMNL, monosit-makrofaj infiltrasyonu hafif derecede skorlandı. Hemoraji bulgusu ise yoktu(Şekil 4.16 - Şekil 4.19).



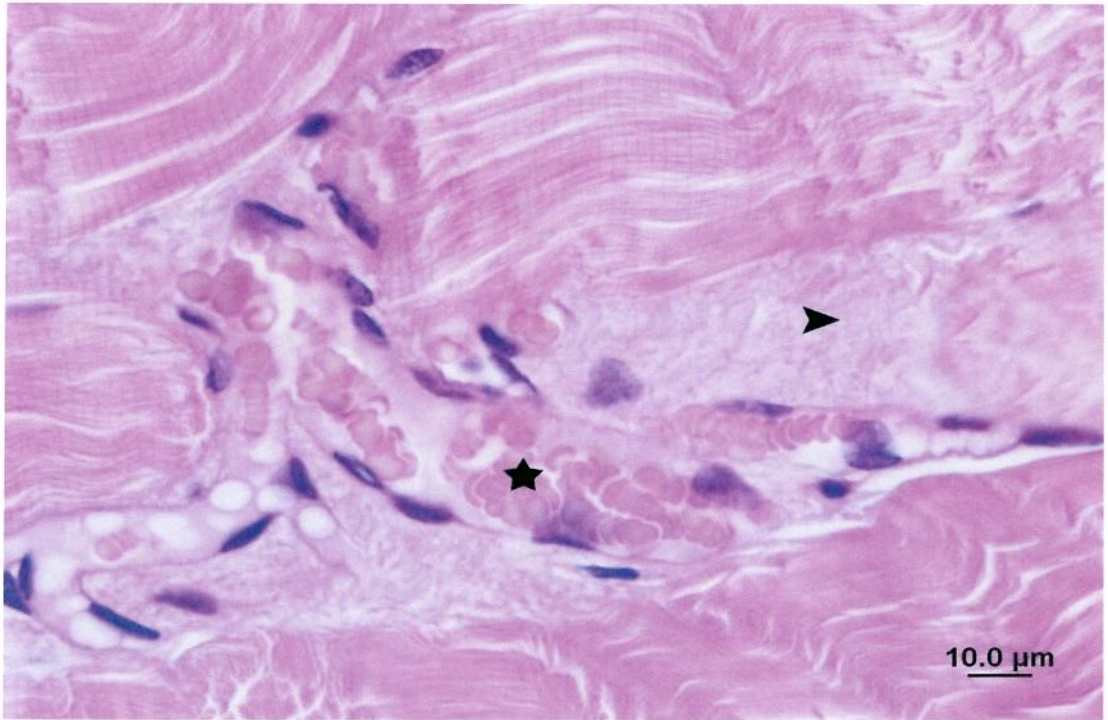
Şekil 4.16. NAC grubu gastrocnemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, nekroz (yıldız), ve fibrozis (ok). H&E, Bar 50 μ m.



Şekil 4.17. NAC grubu gastrocnemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp, nekroz, fibrozis (ok başı), kapillerlerde konjesyon (yıldız) ve lökosit infiltrasyonu (ok). H&E, Bar 20 μ m.



Şekil 4.18. NAC grubu gastrocnemius kasında kas fibrillerinde çizgilenmede kayıp (yıldız), hücresel şişme, nekroz, kapillerlerde konjesyon (ok başı) ve lökosit infiltrasyonu (ok). H&E, Bar 20 µm.



Şekil 4.19. NAC grubu gastrocnemius kasında kas fibrilleri arasında fibrozis (ok başı) ve kapillerlerde konjesyon (yıldız). H&E, Bar 10 µm.

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde (Tablo 4.9.) ; kas fibrillerindeki çizgilenme kaybında Grup 1 ve Grup 2 arasında bir farklılık gözlenirken ($p<0.05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu.

Periferik nükleuslardaki belirsizlik tüm gruplar arasında bir farklılık göstermedi ($p>0.05$).

Kas fibrillerindeki nekroz için bir karşılaştırma yapıldığında; sadece Grup 1 ve Grup 2 arasında bir farklılık gözlemlendi ($p<0.05$).

Hücresel şişme açısından Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı fark saptandı ($p<0.05$)

Ödem için yapılan karşılaştırma da Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı fark olduğu görüldü ($p<0.05$).

Fibrozis gelişimi için inceleme yapıldığında; Grup 1 ve Grup 2, Grup 1 ve Grup 4 arasında anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi ($p<0.05$).

Kas fibrilleri arasında yapılan incelemelerde, kapillerlerdeki lökosit kümelenmesi Grup 1 ve Grup 2 arasında farklılık gösterdi ($p<0.05$).

Konjesyon, Grup 1 ve Grup 2, Grup 1 ve Grup 3 arasındaki karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık gösterdi ($p<0.05$).

Hemoraji açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

PMNL infiltrasyonu açısından Grup 1 ve Grup 2, Grup 2 ve Grup 4 arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p<0.05$).

Monosit ve makrofaj infiltrasyonu açısından Grup 1 ve Grup 2, Grup 2 ve Grup 4 arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p<0.05$).

Tablo 4.9. Histopatolojik verilerin karşılaştırılması.

Parametreler	Gruplar	Medyan (25 - 75 pers)	İstatistik (H)	p
Çizgilenmede kayıp	Grup 1	0(0-0)	14.467	P<0.05
	Grup2	1.5(1-2)		
	Grup 3	0(0-1)		
	Grup 4	1(0-1)		
Periferik nüklouslarda belirsizlik	Grup 1	0(0-0)	3.932	P>0.05
	Grup2	0(0-0)		
	Grup 3	0(0-0)		
	Grup 4	0(0-0)		
Nekroz	Grup 1	0(0-0)	19.172	P<0.05
	Grup2	1.5(1-2)		
	Grup 3	0.5(0-1)		
	Grup 4	1(0-1)		
Hüresel şişme	Grup 1	0(0-0)	11.766	P<0.05
	Grup2	1(0-1)		
	Grup 3	0(0-0)		
	Grup 4	0(0-1)		
Ödem	Grup 1	0.5(0-1)	9.415	P<0.05
	Grup2	2(1-3)		
	Grup 3	1(0-2)		
	Grup 4	1.5(1-2)		
Fibrozis	Grup 1	0(0-0)	17.759	P<0.05
	Grup2	2(1-2)		
	Grup 3	1(0-2)		
	Grup 4	2(1-3)		
Kapillerde lökosit kümelenmesi	Grup 1	0(0-0)	13.064	P<0.05
	Grup2	2(2-2)		
	Grup 3	0.5(0-2)		
	Grup 4	0(0-1)		
Konjesyon	Grup 1	0(0-0)	15.957	P<0.05
	Grup2	2(1-2)		
	Grup 3	2(2-3)		
	Grup 4	1.5(0-2)		
Hemoraji	Grup 1	0(0-0)	2.274	p>0.05
	Grup2	0(0-0)		
	Grup 3	0(0-0)		
	Grup 4	0(0-0)		
PMNL infiltrasyonu	Grup 1	0(0-0)	21.263	P<0.05
	Grup2	3(3-3)		
	Grup 3	1.5(1-2)		
	Grup 4	0(0-2)		
Monosit- Makrofaj infiltrasyonu	Grup 1	0(0-1)	15.755	P<0.05
	Grup2	2.5(2-3)		
	Grup 3	1(0-2)		
	Grup 4	0.5(0-2)		

5.TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, ratların infrarenal abdominal aortasında oklüzyon, reperfüzyon sonrası, gastroknemius kasında oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına iloprost (Pgl2 analogu) ve n-asetilsisteinin etkilerini araştırmak ve karşılaştırmaktır.

İskemi-reperfüzyon sendromunun yol açtığı lokal ve sistemik etkiler vasküler cerrahide sıklıkla karşımıza çıkmakta, ameliyat sonrası morbidite ve mortaliteyi etkilemektedir. Bir çok dokuda, örneğin; iskelet kası (87), kalp (88), akciğer (89), santral sinir sistemi (90), böbrek (91) ve gastrointestinal sistemde (92) iskemi-reperfüzyon hasarı geliştiği bilinmektedir. Alt ekstremitelerde akut iskemi-reperfüzyon hasarı özellikle aort cerrahisinde abdominal aortaya geçici süre kros klemp uygulanmasında ve tek veya çift taraflı akut femoral arter tıkanıklıklarında ortaya çıkmaktadır. Abdominal aort cerrahisi sırasında iskemik kalan ekstremitede lokal doku hasarı, iskemik alanın dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı oluşabilir. Lokal etkiler klemp distalinde damarlarda ve kas dokusunda görülürken, sistemik etkiler de başlıca beyin, kalp, akciğer, böbreklerde ve diğer organlarda görülür. Klinik uygulamada da abdominal aort anevrizması, Leriche sendromu ve aortailiak hastalıklarda infrarenal aortaya klemp konulmakta ve anastomozlar tamamlanana kadar alt ekstremitte iskemik kalmakta, anastomozun tamamlanması ve aortik klempin kaldırılması ile iskemik dokuların reperfüzyonu gerçekleşmektedir.

Çalışmamızda 40 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat, kontrol (Grup1), iskemi-reperfüzyon (Grup 2), İR+iloprost (Grup 3) ve İR+NAC (Grup 4) olmak üzere dört eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna, deney gruplarındaki gibi anestezi altında laparotomi uygulandı fakat aortaya kros klemp konulmadı ve ilaç verilmedi. İR grubunda, infrarenal aortaya iki saat süresince klemp konulup, bir saat de reperfüzyon uygulandı. İR+İloprost grubuna reperfüzyon süresince iloprost infüzyonu, İR+NAC grubuna ise reperfüzyon süresince NAC infüzyonu internal juguler venden infüzyon yoluyla verildi. İşlemler sonunda sağ ventrikülden kan, gastroknemius

kasından ise doku örnekleri alınarak ratlar sakrifiye edildi.

Alınan kan örneklerinden ayrılan plazmalarda , TAS,TOS,CK ve LDH çalışıldı. Kas dokuları ise Hematoksin ve Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. İskemi ve reperfüzyon hasarının kas dokusunda ortaya çıkardığı çizgilenmede kayıp, periferik nükleuslarda belirsizlik, nekroz, hücresel şişme, ödem ve fibrozis, kas fibrilleri arasında kapillerlerde lökosit kümelenmesi, konjesyon, hemoraji, PMNL, monosit ve makrofaj infiltrasyonları tek tek değerlendirildi ve skorlandı.

TAS değerleri açısından Grup 3 ve Grup 4, Grup 2 den daha üstün saptandı ($p<0.05$). Fakat Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Beklenildiği üzere kontrol grubunda TAS değerleri deney gruplarından yüksekti ($p<0.05$).

TOS, CK ve LDH değerlerinde ise yine Grup 3 ve Grup 4, bu değerlerde daha az yükselme sağlayarak, Grup 2 den üstün olduğunu gösterdi ($p<0.05$). Grup 3 ve Grup 4 kendi arasında kıyaslandığında, iloprost alan gruptaki TOS, CK ve LDH değerlerinin, n-asetilsistein alan gruba göre daha az yükseldiği görüldü ($p<0.05$).

Biyokimyasal verilerin genel olarak değerlendirilmesi neticesinde, iloprost ve n-asetilsisteinin, akut iskemi- reperfüzyon hasarını azaltmada etkili olduğunu ama iloprostun bu etkisinin n-asetilsisteine göre daha fazla olduğunu söylemek mümkündür.

Histopatolojik incelemelerde, periferik nükleuslardaki belirsizlik ve hemoraji açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmasa da ($p>0.05$) diğer tüm parametrelerde, Grup 1 ve Grup 2 arasında Grup 1 lehine anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). PMNL, monosit ve makrofaj infiltrasyonu açısından Grup 2 ve Grup 4 arasında, Grup 4 lehine anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p<0.05$). Fakat genel olarak histopatolojik veriler sonucunda Grup 3 (İR+İloprost) ve Grup 4 (İR+NAC) arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

İskemi reperfüzyon hasarına bağlı gelişen iskelet kası (99,100), kalp (101), akciğer (102) ve spinal kord (103) hasarına iloprostun etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. M.Saçar ve ark. (98), İ.Tekin ve ark. (104) kas

dokusunda, Aytacıoğlu ve ark. (105), N. Yakut ve ark. (106), Özcan ve ark. (107) ise böbrek dokusunda iskemi reperfüzyona bağlı gelişen hasarı azaltmada iloprostun etkin olduğunu göstermiştir.

Pgl2 analoğu olarak iloprost, endojen prekürsörünün farmakolojik özelliklerine sahiptir ve endojen prekürsöre göre daha stabildir (108). İloprost nötrofil adezyonunu azaltmaktadır. Nötrofillerden serbest radikallerin salgılanmasını engellemekte ve dolayısıyla da yeniden reperfüzyon sırasında nötrofillerin sebep olduğu endotelial hasarı azaltabilmektedir (109). Endojen Pgl2 ve nitrik oksit damar direncini azaltan ve kan akımını artıran otakoidlerdir (110, 111). İloprost endojen prekürsörü (Pgl2) gibi güçlü sitoprotektif, antiagregan, vazodilatatör etkiye sahiptir. Trombosit agregasyonunu inhibe ederek, adezyon molekül üretimini azaltarak lökosit-endotel ilişkisini bozmaktadır. Sonuçta mikrosirkülasyonu artırarak mikrovasküler disfonksiyon ortadan kalkmaktadır. Tüm bunlara ilave olarak doku perfüzyonu artışı ve endotel koruyucu etki meydana getirerek iskemi reperfüzyon sonrası kas hasarını azaltmada etkili olduğunu düşünmekteyiz. Sonuç olarak iloprost endojen prekürsörü gibi iskemi reperfüzyona bağlı kas ve uzak organ hasarını azaltmaktadır. Bizim çalışmamız sonucunda da kas dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır.

NAC hem hücre içi glutatyon sentezini artırması hem de direkt SOR temizleyicisi olma özelliğinden dolayı bir antioksidan olarak kullanılır. Antioksidanların İR hasarından koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar (112,113,114,115) bizim de antioksidanlara olan ilgimizi arttırmıştır. Bu çalışmamızda bir antioksidan olarak NAC 'ı seçmemizde ki sebep ise ucuz olması, kolay elde edilebilir ve kolay kullanılabilir olmasıdır. Ayrıca klinikte, bronkopulmoner hastalık veya bronş sekresyon bozukluğu nedeniyle yaygın olarak kullanılması da önemli bir tercih sebebimiz olmuştur.

NAC ile ilgili bu konuda ilk klinik gözlem 1992'de, Sochman ve ark. tarafından yapılmıştır. Farmakolojik ve mekanik tedavilerle (tromboliz ve perkutan transluminal koroner anjioplasti) sol ventrikül fonksiyonunu korumak ve infarkt alanını azaltmak için gösterilen çaba içinde akut miyokard

infarktüsülü bir hastada ilk kez NAC kullanımını tanımlamışlardır. Bu kapsamlı tedavi önceden baskılanmış sol ventrikül sistolik fonksiyonunun normale gelmesine sebep olmuştur (116). NAC 'ın kardiyoprotektif etkisi olduğunu, 1990'da Sochman ve ark. köpeklerde göstermişlerdir. Köpeklerde, sol ön inen koroner arter birinci diagonal dalını vermeden önce 2 saat süre ile bağlanmıştır. Bu sürenin sonunda tedavi alan gruba 100mg/kg 'dan NAC verilmiştir. Sonuç olarak köpeklerde NAC 'ın, reperfüzyon sonrası ventriküler aritmi sıklığını azalttığı ve infarkt alanını azalttığı gösterilmiştir (117).

İR sendromunun NAC ile azalabildiği, abdominal aortik anevrizmektomi yapılan hastalarda 1996'da gösterilmiştir. Bu çalışmada hastalar infrarenal aort klemplenmeden 30 dakika önce 150mg/kg dozunda NAC almıştır. Bu hastalarda klempt kaldırıldıktan sonra plazma redükte glutatyon (GSH) konsantrasyonunda önemli artış tespit edilmiştir. Ayrıca plazma lipid peroksit seviyelerinde değişiklik olmamıştır (118).

Fischer ve arkadaşları, köpeklerde NAC verilmesinin kardiyoplejik arrest ve KPB sonrası miyokard ödemi çözünürlüğünü arttırdığını ve sistolik fonksiyonları koruduğunu göstermişlerdir. Köpeklere KPB başlamadan 10 dakika önce 100mg/kg bolusu takiben KPB 'dan ayrıldıktan 1 saat sonrasına kadar 20mg/kg/sa 'den devamlı infüzyon NAC verilmiştir. Sonuçta NAC alan köpeklerde kardiyoplejik arrest ve KPB sonrası oksidatif stresin azalmış olduğu gösterilmiştir (119).

İskelet kası hasarının tespitinde kullanılan moleküller arasında, kreatin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH), myoglobin, aspartat aminotransferaz (AST), beyin natriüretik peptit (BNP), atrial natriüretik peptit (ANP), karbonik anhidraz, troponin ve kas yapı proteinleri yer alır (93). Bunların arasında kas hasarına duyarlılığı en yüksek olan ve klinik olarak en çok kullanılan enzim CK'dır (93). Bunu da LDH takip eder. CK, kas hücresi kasılma veya taşıma sistemlerinde ATP yenilenmesinden sorumlu enzimdir. İskelet kası her kontraksiyon döngüsünde kreatin fosfat kullanarak ATP oluşturur. Böylelikle kas ATP düzeyi sabit kalır. Geri dönüşümlü olan bu reaksiyonda CK katalizör görevi görür. Çalışmamızda, akut iskemi-reperfüzyon uygulanan ratlarda

plazma CK düzeyleri anlamlı derecede arttı. Bu bulgu, aortik oklüzyon-reperfüzyon sonrası gastroknemius kasında oluşan İ-R hasarını yansıtmaktadır. Akut İ-R sonrası plazma CK düzeylerinin arttığını gösteren birçok deneysel ve klinik çalışma vardır (94,95,96,97). İR + iloprost(Grup 3) ve İR+NAC (Grup 4) gruplarında ise, plazma CK düzeylerinin İR (Grup 2) grubundaki düzeylere göre anlamlı derecede düşük olduğunu bulduk. Benzer şekilde, iloprost'un akut İR sonrası iskelet kası hasarına olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada İR+iloprost grubunda CK değerlerinin İR grubundaki değerlere göre anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (94).

M. Saçar ve ark. da ratların infrarenal abdominal aortasına üç saatlik kros klemp uygulayıp bir saatlik reperfüzyon sağlamışlar ve reperfüzyon süresince internal juguler venden iloprost infüzyonu gönderip reperfüzyon sonrası aldıkları kan örneklerinden CK ve LDH çalışmışlardır. İR+İloprost grubundaki CK ve LDH değerlerini İR grubuna göre anlamlı derecede düşük saptamışlardır (98).

Çalışmamızda İR+iloprost grubundan elde edilen plazma CK düzeylerindeki anlamlı azalma benzer çalışmalar ile uyumludur. İloprost'un, İR sonrası oluşan iskelet kası hasarını azalttığını söylemek mümkündür.

Oksidatif stres, reaktif oksijen ürünleri ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik, antioksidan enzimlerin sentezinin veya aktivitesinin azalmasına bağlıdır (120,121). Oksidan moleküllerinin tek tek ölçülmesi pratik olmadığı gibi oksidan moleküllerin toplam bir etki oluşturduğu da iyi bilinmektedir. Son yıllarda oksidatif stres parametrelerinin tek tek ölçülmesi yerine TOS metodu kullanılarak topluca ölçülmesi yoluna gidilmektedir. Fizyolojik koşullarda organizma serbest oksijen radikallerini metabolize eden antioksidan savunma sistemiyle korunmaktadır. İskemik dokularda meydana gelen oksiradikallerin antioksidan savunma sistemi tarafından tamamen yok edilemediği ve iskemi sonrası doku hasarında en önemli sorumlulardan birinin serbest radikal reaksiyonlarının olduğu iyi bilinmektedir (122).

Antioksidan parametreler tek tek ölçülebildiği gibi, total antioksidan kapasite düzeylerini belirleyebilecek kit geliştirilmiştir. Bu da bize enzimatik

ve non- enzimatik antioksidanlar hakkında bilgi vermektedir.

Aytaçoğlu ve ark. infrarenal abdominal aortasına oklüzyon-reperfüzyon modeli uyguladıkları ratlarda, iloprost alan grubun, almayan gruba göre TAS değerlerinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (105).

Buna benzer bir çalışmada, Köksel ve ark. yine iloprostun TAS değerlerinde anlamlı derecede artışa sebep olduğunu kanıtlamışlardır (102).

Koca ve ark. ise artroskopik diz cerrahisi uyguladıkları hastalarda, NAC tedavisi verilen grubun TAS değerlerinde artma, TOS değerlerinde ise azalma olduğunu göstermişlerdir (123).

Rabus ve arkadaşları (124) romatizmal ve dejeneratif kalp kapak hastalıklarında doku ve plazmada TAS ve TOS ölçümlerinde, doku ve plazma TOS değerlerinde iki grup arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Plazma TAS düzeylerinde anlamlı fark bulamamışken doku TAS düzeylerinde anlamlı fark olduğunu göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda sadece plazma TAS düzeylerine baktık ve iloprost alan grupla NAC alan grup arasında anlamlı fark saptamadık. Dokudaki hasarın periferik ne derecede yansıdığı, dokular arası farklılıklar olup olmadığı düşünüldüğünde TAS değerlerini etkileyen farklı nedenlerin olup olmadığı konusunda daha çok bilgi ve çalışmaya ihtiyaç duyulduğu aşikardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma iloprost ve n-asetilsisteinin, akut iskemi-reperfüzyon hasarına etkilerinin aynı çalışmada kıyaslandığı ve bu kıyası yaparken de TAS ve TOS kitlerinden faydalandığı ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonucu göstermektedir ki alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonu gastroknemius kas dokusunda, histopatolojik olarak, çizgilenmede kayıp, periferik nükleuslarda belirsizlik, nekroz, hücrel şişme, ödem ve fibrozis, kas fibrilleri arasında kapillerlerde lökosit kümelenmesi, konjesyon, hemoraji, PMNL, monosit ve makrofaj infiltrasyonlarına, biyokimyasal olarak da TOS, CK ve LDH değerlerinde yükseliş, TAS değerlerinde ise düşüşe neden olmaktadır.

Histopatolojik veriler ve TAS değerleri ışığında, iloprost ve NAC arasında anlamlı bir farklılık saptamazken, iloprostun, TOS, CK ve LDH değerlerini n-asetilsisteine göre anlamlı oranda azalttığını saptadık. Genel olarak baktığımızda iloprost ve n-asetilsisteinin akut iskemi-reperfüzyon hasarını engellemede etkili ilaçlar olduğunu söylemek doğrudur da çalışmamızın bu iki ilacın kıyaslanması olduğu gözönüne alındığında iloprostun iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmada n-asetilsisteinden daha üstün olduğunu söylemek mümkündür.

Klinik kullanımda artık sıklıkla tercih edilen iloprostun yanına ek olarak, özellikle periferik damar cerrahisi uygulanacak hastaların preoperatif tedavilerine n-asetilsisteinin de eklenmesi hasta yararına olabilir. Ulaşılması ve uygulanması kolay, maliyeti de birçok ilaca göre düşük olan n-asetilsistein, kardiyovasküler cerrahi de daha sık kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Haimovici H: Metabolic complications of acute arterial occlusions and skeletal muscle ischemia: myonephropatic metabolic syndrome: in: Haimovici's Vascular Surgery. Principal and Techniques (eds: Haimovici H), 4th.ed. Blackwell Science, Cambridge 1996;509-30.
2. Parks DA, Granner DN: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. Am J Physiol 1986;250:G749-53.
3. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1995;35:12944.
4. Cantürk N.Z. , Sayek İ. Cerrahi araştırma kitabı. 2005 Nobel tıp kitabevleri.
5. Robbins and Kumar, Basic Pahology Kısım 1.1 Hücre Zedelenmesi ve Adaptasyon. 1990, 4. Baskı, Güneş Kitabevi.
6. Siemionow M , Arslan E. İschemia/reperfusion injury: a rewiew in relation to free tissue transfers. Microsurgery. 2004; 24(6): 468-75. Rewiew.
7. Semenza GL. Perspective on oxygen sensing. Cell. 1999;Aug 6; 98(3):281-4 Rocker GM. İschaemia/reperfusion, inflammatory responses and acute lung injury. Thorax 1997;52:841-2.
8. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischemia and reperfusion injury. Br Med Bull. 2004; Oct 19;70:71-86 Print 2004. Rewiew. Erratum in: BrMed Bull. 2005; 73-74:139.
9. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Temel patoloji (Basic Pathology), 6.edisyon, Temmuz 2000 (syf 6-10, 30-36).
10. Zhao ZQ, Vinten-Johansen. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. J Cardiovasc Res2006;70:20011.
11. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 4th Ed. Philadelphia. W.B. Saunders company 1995;3-12.

12. Heinzelman M, Mercer- Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and renal failure. *AM J. Kidney Dis* 1999;34(2):384-99.
13. Xu Y, Huo Y, Toufektsian MC, Ramos SI, Ma Y, Tejani AD, French BA, Yang Z. Activated platelets contribute importantly to myocardial reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290(2):H 92-9
14. Rubin BB, Romaschin Ad, Walker PM et al. Mechanisms of postischemic injury in skeletal muscle: intervention strategies. *J. Appl Physiol* 1996;80:369-387.
15. Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* 1989;43(1):139-54.
16. White MJ, Heckler FR. Oxygen free radicals and wound healing. *Clin. Plast. Surg.* 1990;17(3):473-84.
17. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast. Reconstr. Surg* 1987;79(6):990-7
18. Dutka AJ, Kochanek PM, Hallenbeck JM. Influence of granulocytopenia in canine cerebral ischemia induced by air embolism. *Stroke* 20:390-95, 1989.
19. Slater TF. Free radicals mechanisms in tissue injury. *J. Biochem.* 222:1-15, 1984.
20. Karwatowska-Prokopczuk E, Czarnowska E, Beresewicz A. Iron availability and free radical induced injury in the isolated ischaemic/reperfused rat heart. *Cardiovasc. Res.* 1992;26(1):58-66.
21. Kehrer JP, Lund LG. Cellular reducing equivalents and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 1994;17(1):65-75.
22. Weitberg AB, Weitzman SA, Clark EP, Stossel TP. Effects of antioxidants on oxidant-induced sister chromatid exchange formation. *J. Clin. Invest.* 1985;75(6):1835-41.

23. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 1982;47(5):412-26.
24. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin.* 1993;49(3):481-93.
25. Ceyhan A, Günel S, Çıkan T, Bababalım M, Ünal N. Serbest radikaller ve anestezi. *Sendrom*,1996;12(8):65-9.
26. Clark İA. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology*, 1986;18:181-86.
27. Halliwell B. Free radical antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 1994;344:721-24.
28. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations though membran protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc. Res.* 1992;26:641-55.
29. Allen DG, Xiao XH. Role of the cardiac Na/H exchanger during ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 2003;57:934-941.
30. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994;76:301-314.
31. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukocyte Biol.* 1994;55:662.
32. Gute Dc, Ishiada T, Yarimizu K et al. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998;179:169-187.
33. Rubin BB, Smith A, Liauw S et al. Complement activation and white cell sequestration in postischemic skeletal muscle. *Am J. Physiol* 1990;259:H525-531.
34. Sengelov H, Kjeldsen L, Diamond MS et al. Subcellular localization and dynamics of Mac-1(alpha m Beta 2) in human neutrophils. *J Clin Invest* 1993;92:1467-1476.

35. Kishimoto T K. A dynamic model for neutrophil localization to inflammatory sites. *J Natl Inst. Health Res* 1991;3:75-77.
36. Smith CW. Molecular determinants of neutrophil activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;2:487-499.
37. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki, et al. Involvement of platelet activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia reperfusion. *Hepatology* 1996;23:1656-1663.
38. Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, Kloner RA. No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion. *Circulation*, 2003;108,2911-2917.
39. Kuijper PH, Gallardo Torres HI, Van der Linden JA et al. Platelet-dependent primary hemostasis promotes selectin and integrin-mediated neutrophil adhesion to damaged endothelium under flow conditions. *Blood* 1996; 87: 3271-3281.
40. Anaya Prado R, Toledo Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia Reperfusion injury. *J Surg Res*. 2002;15;105(2):248-58.
41. Allan M. Lefer, David J. Lefer. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia reperfusion. *Cardiovasc. Res*. 1996;(32):743-751.
42. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radicals Biol.Med*. 1998;25:434.
43. Blaisdell FW: The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg* 2002; 10:620-630.
44. Haimovici H. Metabolic complications of acute arterial occlusions and related conditions: myoneuropathic-metabolic syndrome. Futura Publ Co, Mount Kisco, NY, 1988.
45. Stallone RJ, Blaisdell FW, Cafferata HT et al. Analysis of morbidity and mortality from arterial embolectomy. *Surgery*, 1969; 65, 207-217.

46. Belkin M, Brown RD, Wright JG et al. A new quantitative spectrophotometric assay of ischemia reperfusion injury in skeletal muscle. *Am J Surg*, 1988; 156, 83–86.
47. Hayes G, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. Separation of reperfusion injury from ischemia-induced necrosis. *Surg Forum*, 1988; 39, 306–308.
48. Harman JW. The significance of local vascular phenomena in the production of ischemic necrosis in skeletal muscle. *Am J Pathol*, 1948; 24, 625–641.
49. Brooks B. Pathologic changes in muscle as the result of disturbances of circulation. *Arch Surg*, 1922, 5, 188-216.
50. Ames A Jr, Wright RL, Kowada M. Cerebral ischemia II. The no-reflow phenomenon. *Am J Pathol*, 1968, 52, 437–453. 28.
51. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000; 190:255- 266.
52. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138.
53. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
54. Cutin JC, Perrelli MG, Cavalieri B, Peralta C, Rosell Catafau J, Poli G. Microvascular dysfunction induced by reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:1200-1208.
55. Jerome SN, Akimitsu T, Gute Dc, Korthuis RJ. Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1995;268:H2063-7.
56. Granger DN , Carden DL , Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000;190:255-266.

57. Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, Agah A, Stahl GL. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999;36:941-948.
58. Fitch JC, Rollins S, Matis L, Alford B, Aranki S, Collard Cd, Dewar M, Elefteriadis J, Hines R, Kopf G, Kraker P, Li L, O'Hara R, Rinder C, Rinder H, Shaw R, Smith B, Stahl G, Sherman SK. Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999;100:2499-506.
59. Panes J, Perry M, Granger DN. Leukocyte endothelial cell adhesion: Avenues for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 1999;126:537-50
60. Katircioğlu S.F, Küçükaksu D.S, Bozdayı M, Saydam G, Zorlutuna I.Y, Taşdemir O and Beyazıt K. Effects of prostacyclin on heparin reversal with protamin. *Vasc Surg* 1992;8:464-472.
61. Katircioğlu S.F, Gökçe P, Özgencil E, Sarıtaş Z, Şener E, Yılmazkaya B, Koç B, Taşdemir O, Beyazıt K. Prostacyclin usage for spinal cord during experimental thoracic aortic cross-clamping. *Vasc Surg* 1996;30:97-101.
62. Grylewski RJ. The impact of prostacyclin studies on the development of its stable analogues in: prostacyclin and its stable analogue iloprost. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag 1987:3-16.
63. Karabay Ö, Silistreli E, Erdal C, Önel H, Alginl, Güzeloğlu M İ, Kılıcı G, Açikel Ü. Ciddi periferik arter hastalığında intravenöz iloprost tedavisi sonuçları. *Turkish j Vasc Surg* 2005;14:21-26.
64. Moncada S, Grylewski B, Bunting S, Vane IB. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to a substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-5.
65. Moncada S, Vane JR. Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. *Br Med Bull* 1978;34:129-135.

66. Rademaker M, Cooke ED, Almond Ne, et al. Comparison of intravenous infusion of iloprost and oral nifedipine in treatment of Raynaud's phenomenon in patient with systemic sclerosis: atherosclerosis double blind randomized study. *Br Med J* 1989;298:561-564.
67. İlomedin 20 1ml Bayer-Schering Pharma prospektüs.
68. Dormandy JA. The pathophysiology of critical limb ischemia and pharmacological intervention with a stable prostacyclin analogue, iloprost. Royal Society Of Medicine Services, London 1989.
69. Lowel R, Gloviczki P, Miller V. In vitro evaluation of endothelial and smooth muscle function of primary varicose veins. *J Vasc Surg* 1992;16:679-686.
70. Rosenzweig EB, Kerstein D, Barst RJ. Long-Term prostacyclin for pulmonary hypertension with associated congenital heart defects. *Circulation* 1999;99:1858-1865.
71. Olschewski H, Ghofrani H. A, Schmelt T, Winkler J, Wilkens H, Höper M.M, Behr J, Kleber Xf, Seeger W. İnhaled iloprost to treat severe pulmonary hypertension. *Ann intern Med* 2000;132:435-443.
72. Aytacoglu BN, Sucu N, Tamer L, Polat A, Gul A, Degirmenci U, Mavioglu I, Dikmengil M. İloprost fort he attenuation of ischemia-reperfusion injury in a distant organ. *Cell Biochem Funct.* 2006;24(4):341-6.
73. Yakut N. et al. The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia reperfusion: an experimental study. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 7(2008):235-239.
74. Ozcan V. et al. The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research* 2007;140:20-26.
75. Kelly GS. Clinical application of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev* 1998; 3: 114-127.

76. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 593-597.
77. Orhan G, Yapici N, Yuksel M, Sargin M, Senay S, Yalcin AS, Aykac Z, Aka SA. Effects of N-acetylcysteine on myocardial ischemia-reperfusion injury in bypass surgery. *Heart Vessels* 2006 Jan; 21(1): 42-47.
78. Tossios P, Bloch W, Huebner A, Raji MR, Dodos F, Klass O, Suedkamp M, Kasper SM, Hellmich M, Mehlhorn U. N-acetylcysteine prevents reactive oxygen species-mediated myocardial stress in patients undergoing cardiac surgery: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Nov; 126(5): 1513-20.
79. Sucu N, Cinel I, Unlu A, Aytaçoglu B, Tamer L, Koçak Z, Karaca K, Gül A, Dikmengil M, Atik U, Oral U. N-acetylcysteine for preventing pump-induced oxidoinflammatory response during cardiopulmonary bypass. *Surg Today.* 2004; 34(3): 237-242.
80. Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zideck W. Prevention of radiographic – contrast – agent – induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N Engl J Med* 2000; 343(3): 210-212.
81. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* Third ed. Oxford: Oxford Science Publications; 2000. p. 617–24.
82. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176–86.
83. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004;37:112–9.
84. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37:277–85.

85. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103–11.
86. Ceylan E, Gulsun A, Gencer M, Aksoy N. A new parameter in the detection of tuberculosis activity: reactive oxygen metabolites. *Respiration* 2005;72(2):156–9.
87. Walker PM, Lindsay TF, Labbe R, Mickle DA, Romaschin AD. Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J.Vasc.Surg.* 1987; 5(1): 68-75.
88. Okutan H, Ozcelik N, Yilmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin.Biochem.* 2005;38(2):191-6.
89. Hyman AL, Spannhake EW, Kadowitz PJ.: State of the art: Prostaglandins and the lung. *Am.Rev.Respir.Dis.* 117:111-136, 1978.
90. Ames A 3rd, Wright RL, Kowada M, Thurston JM, Majno G. Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am.J.Pathol.* 1968;52(2):437-53.
91. Fyman PN, Reynolds JR, Moser F, Avitable M, Casthely PA, Butt K. Pharmacokinetics of sufentanil in patients undergoing renal transplantation. *Can.J.Anaesth.* 1988;35(3)(Pt1): 312-5.
92. Ekingen G, Sonmez K, Ozen O, Demirogulları B, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Yenidunya S, Ayayvacı S, Basaklar AC, Kale N. Effect of amrinone on mucosal permeability in experimental intestinal ischaemia/reperfusion injury. *ANZ J.Surg.* 2005;75(7): 608-13.
93. Murray R.K, Granger D.K, Mayes P.A, Rodwel V.W. Harper'ın *Biyokimyası*, 24.Baskı, Baris Kitabevi, pp. 24-68 İstanbul, (1998).
94. Bozkurt AK. Alpha-tocopherol (Vitamin E) and iloprost attenuate reperfusion injury in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2002 Oct;43(5):693-6.
95. Ferrari R, Cargnoni A, Curello S, Boffa GM, Ceconi C. Effects of iloprost (ZK 36374) on glutathione status during ischaemia and

- reperfusion of rabbit isolated hearts. *Br J Pharmacol.* 1989 Oct;98(2):678-84.
96. Ferrari R, Cargnoni A, Ceconi C, Curello S, Belloli S, Albertini A, Visioli O. Protective effect of a prostacyclin-mimetic on the ischaemic-reperfused rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 1988 Dec;20(12):1095-1106.
97. Bhargava AS, Preus M, Khater AR, Gunzel P. Effect of iloprost on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzymes after isoprenaline-induced cardiac damage in rats. *Arzneimittelforschung* 1990 Mar;40(3):248-52.
98. M. Saçar ve ark. Vitamin C ve İloprostun alt ekstremitte iskemi reperfüzyonuna bağlı iskelet kası hasarında koruyucu etkisi *TKDC Dergisi* Ekim 2005,cilt 13,sayı 4, s:374-378.
99. Emrecan B, Tulukoğlu E, Bozok S, Aksun M, Yağdı S, Özcan A.V, Saçar M, Gürbüz A. İloprost and pentoxifylline attenuate ischemia reperfusion injury in skeletal muscle in rabbit model. *Turkish Journal of Trauma& Emergency Surgery* 2008;14(3):182-187.
100. Sacar M. et al. Vitamin C and iloprost attenuate skeletal muscle by injury caused ischemia reperfusion of the lower extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;13(4):374-378.
101. Roberto Ferrari, Anna Cargnori, Salvatore Curello, Giovanni M.Boffa&Claudio Ceconi. Effects of iloprost (ZK 36374) on glutathione status during ischemia reperfusion of rabbit isolated hearts. *Br.J.Pharmacol.*1989;98:678-684.
102. Köksel O, Ozdulger A, Aytacoğlu B, Tamer L, Polat A, Sucu N, Yıldırım C, Degirmenci U, Kanik A. The influence of iloprost on acute lung injury induced by hindlimb ischemia reperfusion in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005;18(4):235-41.
103. Katircioğlu S.F, Gökçe P, Özgencil E, Sarıtaş Z, Şener E, Yılmazkaya B, Koç B, Taşdemir O, Beyazıt K. Prostacyclin usage for spinal cord

- during experimental thoracic aortic cross-clamping. *Vasc Surg* 1996;30:97-101.
104. Tekin I. et al. The Effect of Iloprost on Skeleton Muscle Injury in an Experimental Model of Aortic Ischemia-Reperfusion *Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci* 2009;21(2):135-46.
 105. Aytacoglu BN, Sucu N, Tamer L, Polat A, Gul A, Degirmenci U, Mavioglu I, Dikmengil M. İloprost fort he attenuation of ischemia-reperfusion injury in a distant organ. *Cell Biochem Funct.* 2006;24(4):341-6.
 106. Yakut N. et al. The influence of levosimendan and iloprost on renal ischemia reperfusion: an experimental study. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 7(2008):235-239.
 107. Ozcan V. et al. The effect of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research* 2007;140:20-26.
 108. Schillinger E, Krais T, Stock G. İloprost in: Scriabine A (ed). *New drugs annual: cardiovascular drugs.* Raven Pres. New York 1987;209-31.
 109. Farber NE, Pieper GM, Thomas JP, Gross GT. Beneficial effects of iloprost in the stunned canine myocardium. *Circulation* 1988;62:204-15.
 110. Lance DD, Brenner BM. The renal circulation in: *The Kidney.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996; Sayfa 247-286.
 111. Navar LG, Carmine PK, Mitchell KD. Renal circulation in: *Text book of nephrology.* Williams&Wilkins Baltimore 1995; Sayfa 41-54.
 112. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2000, 47: 446-456.
 113. Fischer UM, Cox CS Jr, Allen SJ, Stewart RH, Mehlhorn U, Laine GA. The antioxidant N-acetylcysteine preserves myocardial function and

- diminishes oxidative stress after cardioplegic arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126(5): 1483-1488.
114. Sucu N, Cinel I, Unlu A, Aytaçoglu B, Tamer L, Koçak Z, Karaca K, Gül A, Dikmengil M, Atik U, Oral U. N-acetylcysteine for preventing pump-induced oxidoinflammatory response during cardiopulmonary bypass. *Surg Today.* 2004; 34(3): 237-242.
115. Tossios P, Bloch W, Huebner A, Raji MR, Dodos F, Klass O, Suedkamp M, Kasper SM, Hellmich M, Mehlhorn U. N-acetylcysteine prevents reactive oxygen species-mediated myocardial stress in patients undergoing cardiac surgery: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Nov; 126(5): 1513-20.
116. Sochman J, Peregrin JH. Total recovery of left ventricular function after acute myocardial infarction: comprehensive therapy with streptokinase, Nacetylcysteine and percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Int J Cardiol* 1992; 35: 116-118.
117. Sochman J, Kolc J, Vrana M, Fabian J. Cardioprotective effects of Nacetylcysteine: the reduction in the extent of infarction and occurrence of reperfusion arrhythmias in the dog. *Int J Cardiol* 1990; 28(2): 191-196.
118. Kretzschmar M, Klein U, Palutke M, Schirrmeister W. Reduction of ischemiareperfusion syndrome after abdominal aortic aneurysmectomy by Nacetylcysteine but not mannitol. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996 Jul; 40(6): 657- 664.
119. Fischer UM, Cox CS Jr, Allen SJ, Stewart RH, Mehlhorn U, Laine GA. The antioxidant N-acetylcysteine preserves myocardial function and diminishes oxidative stress after cardioplegic arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126(5): 1483-1488.
120. Jurcau A. Acute cerebral ischemia and oxidative stres. *Romanian journal of Neurology.* 2008;2(2):45-56.
121. Taffi R, Ve Nanetti L. Plasma levels of nitric oxide and stroke outcome. *J Neurol.* 2008;255:94-98.

122. Deniz B, Şermet A, Tümer C, Koçyiğit Y. Geçici serebral iskemide antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler. Dicle Tıp Dergisi. 2004;31:29-36.
123. Koca K, Yurttaş Y, Caycı T, Bilgic S, Kaldırım U, Durusu M, Çekli Y, Özkan H, Hancı V, Purtuloğlu T, Akgül EO, Oğuz E, Yıldız C, Basbozkurt M. The role of preconditioning and N-acetylcysteine on oxidative stress resulting from tourniquet-induced ischemia-reperfusion in arthroscopic knee surgery. J Trauma. 2011 Mar;70(3):717-23.
124. Rabus M ve ark. Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. Türk Kard Derg Arş. 2008;36:536-540.

