



**T.C.**  
**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**AMANTADININ RATLARDA ALT EKSTREMİTE**  
**İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN SONRA AKCİĞER DOKUSU**  
**ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. MUSTAFA ORHAN**

**OCAK 2018**



**T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**AMANTADİNİN RATLARDA ALT EKSTREMİTE  
İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN SONRA AKCİĞER DOKUSU  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. MUSTAFA ORHAN**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. AYÇA TAŞ TUNA**

**OCAK 2018**

**Sevgili Eşim Merve ORHAN'a...**  
**Çocuklarım Ayşe Nehir ve Muhammed Kayra'ya...**

# ONAY

Gazi Ü. Evrak Tarih ve Sayısı: 27/12/2017-E.49925



T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-  
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Yrd.Doç.Dr.Ayça TAŞ TUNA  
Sakarya Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi

Daha önce 14.04.2017 tarih ve E.15319 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Ayça TAŞ TUNA, Mustafa ORHAN, Yusuf ÜNAL, Mustafa ARSLAN, Hayrullah YAZAR, Şaban Cem SEZEN ve Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU'ndan oluşan G.Ü.ET-17.020 kod numaralı ve "*Amantadinin Ratlarda Alt Ekstremitte İskemi-Reperfüzyon Hasarından Sonra Akciğer Dokusu Üzerindeki Etkileri*" başlıklı araştırma önerisi ile ilgili alınan 29.11.2017 tarihli dilekçe konusu Başkanlığımız tarafından incelenmiş olup,

Araştırmacı grubundan Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU'nun ayrılması ile yerine Sezen IRMAK GÖZÜKARA'nın dahil edilmesi ile ilgili talebin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalıdır  
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ  
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

BELGENİN ASLI  
ELEKTRONİK İMZALIDIR  
29.12.2017  
Esengül BOŞMAK  
R.

Evrak Doğrulamak İçin: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>

Ankara  
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76  
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Pin: 00891

Bilgi için :Nursel Güner  
Genel Evrak Sorumlusu  
Telefon No.202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

## BEYAN

Bu çalışma T.C. Gazi Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan 17/04/2017 tarihinde onay alınarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

.../.../...

Dr. Mustafa ORHAN

İmza

## TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, beni teşvik edip yönlendiren, tecrübesini, bilgisini ve el becerisini bizimle paylaşan, tezimi hazırlarken özveriyle hep yanımda olan tez danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr. Ayça TAŞ TUNA'ya; eğitim sürecim boyunca çalışkanlığı ve anlayışıyla ve insanlığıyla bize örnek olan, her konuda desteğini bizlerden esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı, Klinik ve Eğitim Sorumlusu Sayın Hocam Prof. Dr. Ali Fuat ERDEM'e; kendisinden çok şey öğrendiğim, üstün bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Yakup TOMAK'a; Algoloji ve anestezi alanındaki tüm bilgi, beceri ve deneyimlerini bize aktaran Sayın Hocam Doç. Dr. Serbülen Gökhan BEYAZ'a; bizimle olduğu süre boyunca; sabrı, çalışkanlığı ve öğretmenliği ile her zaman bizlere örnek olan Sayın Hocam Prof. Dr. Ümit KARADENİZ'e; Gazi Üniversitesi'ndeki çalışmalarımız sırasında hep yanımızda olan Prof. Dr. Yusuf ÜNAL ve Doç. Dr. Mustafa ARSLAN'a; desteklerini bizden esirgemeyen Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Havva SAYHAN KAPLAN'a; her konuda her zaman desteğini yanımda hissettiğim abim Yrd. Doç. Dr. Onur PALABIYIK'a; bizlerle bilgi, beceri ve tecrübelerini her daim paylaşan SÜEAH Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği'nin çok değerli uzmanlarına en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Kardeşim, kader arkadaşım Uzm.Dr. Ali Metin Ülgen'e; SÜEAH Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği'nin birbirinden değerli, birlikte çalışmaktan her zaman zevk aldığım, gurur duyduğum asistan arkadaşlarıma, kardeşlerime, meslektaşlarıma; tüm anestezi tekniker ve teknisyen arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca hep yanımda olan, beni hiç yalnız bırakmayan ve her zaman en büyük destekçim olan sevgili eşim Merve ORHAN'a, canım çocuklarım Ayşe Nehir ve Muhammed Kayra'ya çok teşekkür ederim.

Dr. Mustafa ORHAN

SAKARYA, 2018

## İÇİNDEKİLER

ONAY .....	i
BEYAN .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİL,RESİM ve TABLO DİZİNİ .....	vi
KISALTMALAR .....	viii
ÖZET .....	x
ABSTRACT .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 İskemi .....	2
2.2 Reperfüzyon .....	4
2.3 İskemi/reperfüzyon hasarı .....	4
2.4 İskemi/reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi .....	7
2.4.1 Serbest radikaller .....	9
2.4.2 Polimorf nüveli lökositler (PMNL) .....	12
2.4.3 Komplemanın rolü .....	14
2.4.4 Endotel hücrelerinin rolü .....	16
2.5 Antioksidanlar .....	17
2.5.1 Antioksidan enzimler .....	19
2.6 İskemi/reperfüzyonda sistemik etki ve uzak organ hasarı .....	22
2.7 Amantadin .....	23
2.8 Ketamin .....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	25
3.1 Denek seçimi .....	25
3.2 Kullanılan yöntemler .....	25
3.3 Homojenizasyon .....	29
3.4 Antioksidan enzimlerin analizi .....	33
3.5 Lipid peroksidasyon durumunun analizi .....	33



3.6 İstatistiksel değerlendirme .....	34
4. BULGULAR .....	35
5. TARTIşMA .....	44
6. SONUÇ .....	52
7. KAYNAKLAR .....	53
8. ÖZGEÇMİş .....	68



## ŞEKİL, RESİM VE TABLO DİZİNİ

**Şekil 1:** İskemi/reperfüzyon hasarı

**Şekil 2:** Alt ekstremitte iskemi/reperfüzyonuna bağlı akciğer hasarı patofizyolojisi

**Şekil 3:** Rat ağırlıkları

**Şekil 4:** CAT düzeyleri

**Şekil 5:** GST düzeyleri

**Şekil 6:** SOD düzeyleri

**Şekil 7:** MDA düzeyleri

**Şekil 8:** İnfiltrasyon skorları

**Şekil 9:** Alveol duvar kalınlaşması skorları

**Resim 1:** Ratların tıraşlanması

**Resim 2:** Isıtıcı blanket

**Resim 3:** Kuyruk veni kanülasyonu

**Resim 4:** Orta abdominal insizyon

**Resim 5:** İnfrarenal aortaya klemp konulması

**Resim 6:** Homojenizasyon cihazı

**Resim 7:** Homojenatlar

**Resim 8:** Süpernatantlar

**Resim 9.** Grup S' de normal akciğer dokusu parankimi

**Resim 10.** Grup İ/R’de yoğun nötrofil infiltrasyonu ve ciddi alveol duvar kalınlığı artışı

**Resim 11.** Grup A’da akciğer dokusunda nötrofil infiltrasyonu

**Resim 12.** Grup İ/R-A’da hafif kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığı artışı

**Tablo 1 :** Ratların ağırlıkları

**Tablo 2 :** CAT düzeyleri

**Tablo 3:** GST düzeyleri

**Tablo 4:** SOD düzeyleri

**Tablo 5:** MDA düzeyleri

**Tablo 6:** İnfiltrasyon skorları

**Tablo 7:** Alveol duvar kalınlaşması skorları

## KISALTMALAR

<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>İ/R</b>	: İskemi/reperfüzyon
<b>NMDA</b>	: N-Metil D-Aspartat
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S-tranferaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz</b>	: Sodyum-potasyum ATPaz
<b>AMP</b>	: Adenozin monofosfat
<b>KDH</b>	: Ksantin dehidrogenaz
<b>KO</b>	: Ksantin oksidaz
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikalleri
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrogenaz
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Su
<b>NADH</b>	: NAD <sup>+</sup> nin indirgenmiş hali
<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>PMNL</b>	: Polimorf nüveli lökositler
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSSG</b>	: Glutasyon disülfid

<b>OH•</b>	: Hidroksil radikali
<b>PSGL-1</b>	: P-selektin glikoprotein 1
<b>ICAM-1</b>	: İnterselüler adhezyon molekülü 1
<b>PECAM-1</b>	: Platelet-endotel hücresi adhezyon molekülü 1
<b>LT</b>	: Lökotrien
<b>PAF</b>	: Platelet aktive edici faktör
<b>PG</b>	: Prostaglandin
<b>MIP</b>	: Makrofaj inflamatuvar protein
<b>MCP</b>	: Monosit kemoatraktan protein
<b>VCAM</b>	: Vasküler hücre adhezyon molekülü
<b>Ig</b>	: İmmünglobulin
<b>MBL</b>	: Mannoza bağlayıcı lektin
<b>ET</b>	: Endotelin
<b>TxA<sub>2</sub></b>	: Tromboksan A <sub>2</sub>
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Nitrat
<b>Mg</b>	: Magnezyum
<b>Se</b>	: Selenyum
<b>Zn</b>	: Çinko
<b>GAPDH</b>	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	: Süperoksit serbest radikali
<b>-SH</b>	: Sülfhidril
<b>L•</b>	: Lipid serbest radikali
<b>LOO•</b>	: Lipid peroksit radikali
<b>LOOH</b>	: Lipid hidroperoksit
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal sistem
<b>Immediate release</b>	: IR
<b>HCl</b>	: Hidroklorür
<b>GÜDAM</b>	: Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
<b>İQR</b>	: Çeyrekler arası aralık
<b>TOS</b>	: Total oksidan status

## ÖZET

### AMANTADİNİN RATLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDAN SONRA AKCİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

İskemi/reperfüzyon hasarı, abdominal aort cerrahisinin potansiyel bir komplikasyonudur. N-Metil D-Aspartat (NMDA) antagonistlerinin çeşitli doku ve organlarda, iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Biz bu çalışmada, bir NMDA antagonisti olan amantadinin ratlarda alt ekstremite iskemi/reperfüzyon hasarı sonrasında akciğer dokusu üzerindeki etkilerinin araştırılmasını amaçladık.

Etik kurul onayı alındıktan sonra, ağırlıkları 250-330 g. arasında değişen toplam 24 adet Wistar cinsi rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Gruplar; Sham grubu (Grup S, n=6), Amantadin grubu (Grup A, n=6), iskemi/reperfüzyon grubu (Grup İ/R, n=6) ve iskemi/reperfüzyon+amantadin grubu (Grup İ/R-A, n=6) olarak belirlendi. Tüm gruplara orta abdominal insizyon uygulandı. Grup İ/R ve İ/R-A'daki ratların infrarenal düzeyde abdominal aortası 120 dk klempe edildi ve daha sonra klemp kaldırılarak 120 dk reperfüze edildi. Grup İ/R-A'daki ratlara iskemiden 15 dk önce 45 mg/kg amantadin hidroklorür (HCl) intraperitoneal olarak uygulandı. Grup A'daki ratlara da orta abdominal insizyon öncesi 45 mg/kg amantadin HCl intraperitoneal olarak uygulandı. Deneyin sonunda ratlar sakrifiye edilerek akciğer doku örnekleri alındı. Akciğer dokusunda, katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve düzeyleri çalışıldı. Ayrıca akciğer dokusu histopatolojik olarak incelendi.

CAT düzeyleri Grup İ/R-A'da Grup S, Grup A ve Grup İ/R'ye göre düşüktü. GST düzeylerinin Grup İ/R ve Grup A'da Grup S'ye göre azalmış olduğu, Grup İ/R-A'da ise GST düzeylerinin Grup İ/R'ye göre artmış olduğu saptandı. SOD düzeyleri Grup İ/R'de Grup S'ye göre yüksekti. Grup İ/R-A'da ve Grup A'da Grup S'ye ve Grup İ/R'ye göre SOD düzeylerinin azalmış olduğu saptandı. MDA düzeylerinin Grup İ/R

ve Grup A'da Grup S ve Grup İR-A'ya göre artmış olduğu, Grup İ/R-A'da ise Grup S'ye göre azalmış olduğu saptandı. Ancak enzim düzeyleri açısından hiçbir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). Histopatolojik incelemede; Grup S'de infiltrasyon skoru Grup İ/R ve Grup İ/R-A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü ( $p=0,009$ ,  $0,011$ , sırasıyla). Grup İ/R'de alveol duvar kalınlaşması skoru Grup S ve Grup A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,001$ ,  $0,001$ , sırasıyla).

Bu çalışmada, denek sayısının azlığından dolayı akciğer dokusu biyokimyasal değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamak da akciğer dokusunun histopatolojik olarak İ/R hasarından etkilenmiş olduğunu ve bu hasarın amantadin kullanımıyla geri döndürülebildiğini gözlemledik. Amantadinle ilgili İ/R hasarına bağlı uzak organ hasarı çalışmalarının sayısı yetersiz olup bu konuyla ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** İskemi/reperfüzyon, amantadin, alt ekstremiteler, akciğer dokusu

## **ABSTRACT**

### **EFFECTS OF AMANTADINE ON LUNG TISSUE OF RATS AFTER LOWER EXTREMITY ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY**

Ischemia/reperfusion injury is one of the potential complication of abdominal aort surgery. It is known that N-Methyl D-Aspartate (NMDA) antagonists protect against ischemia/reperfusion injury in various tissues and organs. In this study we aimed to investigate the effect of amantadine, an NMDA antagonist, on lung tissue of rats after lower extremity ischemia/reperfusion injury.

Following obtaining ethical committee approval, 24 Wistar species rats weighing between 250-330 g. had been separated into 4 groups randomly. Groups were defined as group Sham (Group S, n=6), Group Amantadine (Group A, n=6), ischemia/reperfusion group (Group I/R, n=6) and ischemia/reperfusion+amantadine group (Group I/R-A, n=6). All groups were undergone midline abdominal incision. Abdominal aortas of rats in Group I/R and I/R-A were clamped at infrarenal level for 120 min than reperfused for 120 min after removal of clamps. 15 min before ischemia, amantadine hydrochloride (HCl) 45 mg/kg was administered intraperitoneally to the rats of Group I/R-A. Amantadine HCl 45 mg/kg was also administered intraperitoneally to the rats of Group A prior to abdominal incision. In the end of the experiment, the rats were sacrificed, and their lung tissues were obtained. The levels of catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and in lung tissue were studied. Additionally, lung tissues were examined histopathologically.

CAT levels were lower in Group I/R-A comparing to Groups S, A and I/R. GST levels were lower in Groups I/R and A comparing to Group S. Also GST levels were found higher in Group I/R-A than Group I/R. SOD levels were higher in Group I/R comparing to Group S. It was assessed that SOD levels were lower in Groups I/R-A and A comparing to Groups S and I/R. MDA levels were higher in Group I/R and



Group A comparing to Group I/R-A, and were lower in Group I/R-A comparing to Group S. However there was no statistically significant difference of enzyme levels between any group ( $p>0,05$ ). According to histopathologic examination, infiltration score of Group S was statistically significantly lower than Groups I/R and I/R-A ( $p=0,009, 0,011$ , respectively). The alveoli wall thickening score of Group I/R was found statistically significantly higher than Group S and Group A ( $p=0,001, 0,001$ , respectively).

In this study, we assessed that the lung tissues were affected from I/R damage histopathologically and this damage could be reversed with the usage of amantadine despite we couldn't find any statistically significant difference between lung tissue biochemical levels due to insufficiency of subject count. The numbers of studies about amantadine and I/R injury end organ injury is insufficient and there is need of more studies.

**Keywords:** Ischemia/reperfusion, amantadine, lower extremity, lung tissue

## 1.GİRİŞ

İskelet kas hasarı, abdominal aort cerrahisinin potansiyel bir komplikasyonudur. İskemi sırasında, kas hücreleri membran bütünlüklerini muhafaza edemezler, bu da fosfolipid A2 ve çoklu doymamış yağ asitleri ile yağ asidi radikalleri oluşumuna neden olduğu gibi kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) salınımına da neden olur. İskeminin bu evresinde tekrar oksijenizasyon gerçekleşirse, yağ asidi radikalleri oksijen ( $O_2$ ) ile tepkimeye girer ve lipid peroksidasyon reaksiyonu meydana gelir. Bu reaksiyon membran geçirgenliğini artırır ve aktive edildiğinde oksijen türevi serbest radikalleri ve proteolitik enzim salınımına neden olan lökositlerin kemotaksisini uyarır. İskemi/reperfüzyondan (İ/R) sonra sistemik inflamatuvar yanıt hem lokal hem de uzak organ hasarlarına neden olur. Akciğer hasarı, cerrahi işlemlere bağlı geçici aort oklüzyonunu takiben gelişen alt ekstremitte İ/R'nin neden olduğu en önemli uzak organ hasarıdır.

Amantadin, bir N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptör antagonisti ajandır. Beyin hasarlarında koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ancak amantadinin oksidan ve antioksidanları nasıl etkilediğine dair bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda; amantadinin, ratlarda oluşturulan alt ekstremitte İ/R hasarından sonra akciğer dokusundaki; katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA), seviyelerine etkisi ve akciğer dokusundaki histopatolojik etkileri araştırılacaktır.

Hastalarda her istenildiği zaman alt ekstremitte İ/R durumu oluşturulamadığından bu araştırma konusunun hayvanlarda araştırılması tercih edilmiştir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 İskemi

İskemi, arteriyel veya venöz kan akımının azalmasına ya da tamamen kesilmesine bağlı olarak organların ve dokuların yetersiz perfüzyonu oksijenden yoksun kalmasıdır. İskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dönemde hücrede birtakım metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücrel oksidatif fosforilasyon azalır, adenzin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (Jennings and Reimer 1991). Hücrede enerji depolarının tükenmesi ile hücre zarında bulunan sodyum-potasyum ATPaz ( $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPaz) pompası inhibe olur. Bunun sonucunda hücre içerisinde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$  iyon konsantrasyonları artar (Green et al. 1989).  $\text{Ca}^{+2}$  birikimi hücre için sitotoksiktir (Orrenius et al. 1992). İskemik dönemde hücre içerisinde iyon konsantrasyonlarının değişimi sonucunda proinflatuar sitokinlerin ve lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış; buna karşılık antiinflatuar sitokinlerin ve antioksidan enzimlerin yapımında azalma meydana gelir. Bu olaylar hücreyi daha da hassas hale getirir. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde tüketimi devam ettiği için ATP'den adenzin monofosfat (AMP) ve adenzin oluşur. Adenzin, hücre dışına difüze olur, inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla iskemi sonucu ATP yıkımı, ksantin ve hipoksantin gibi metabolitlerin birikimine, ksantin dehidrogenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne neden olur. Normal şartlarda hipoksantin ürik aside metabolize olur ve bu olayda elektron alıcısı olarak nikotinamid adenin dinükleotid ( $\text{NAD}^+$ ) kullanılır. Ancak iskemi nedeniyle KDH→KO'ya dönüştüğünden hipoksantin ürik aside dönüşümü KO tarafından gerçekleştirilir ve bu olayda elektron alıcısı olarak moleküler  $\text{O}_2$  kullanılır (Parks et al. 1988).

Dokuların iskemiye dayanabilirlikleri ve kritik iskemi süreleri birbirinden farklıdır. İskelet kasları iskemiye uzun süre dayanabilmesine rağmen sinir hücrelerinde dakikalar içerisinde geri dönüşümsüz hasarlar meydana gelebilir (Grace 1994, Lin

and Calvano 1999, Semenza 2000, Girotti 1998). Bununla birlikte deri ve kemik dokuları iskeleme iskelet kası ve intestinal mukozaya göre daha dayanıklıdır. Kritik iskemi süresi, dokunun iskemiye tolere edebildiği ve canlılığını sürdürebildiği maksimum süredir. Bu süre doku türüne, organa ve sıcaklığa bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Gillani et al. 2012). Bu süre yaklaşık olarak; karaciğer ve böbrekte 10-15 dakika (dk), iskelet kasında 2,5 saat, beyinde 5 dk civarındadır. Bu sürenin uzaması büyük nöronal ölümlere ve enfarktüse neden olur. Kritik iskemi süresinin aşılmasından sonra gerçekleşen reperfüzyon endotelial ve parenkimal hasar ile sonuçlanır (Tapuria et al. 2008).

#### **Ksantin Dehidrogenaz**



#### **Ksantin Oksidaz**



## 2.2 Reperfüzyon

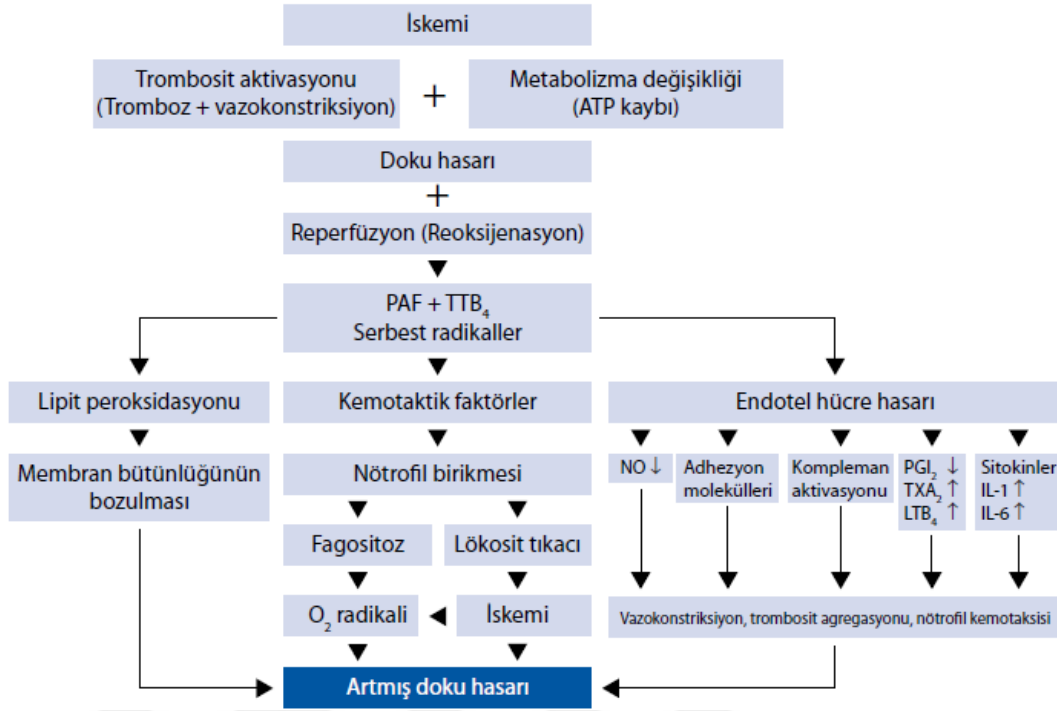
İskemik dokuya, hem hücrelerin kendini yenilemesi hem de biriken toksik maddelerin ortamdan uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gerekir. Fakat, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda yalnızca iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara neden olur (Zimmerman and Granger 1992). Reperfüzyon döneminde görülen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali en iyi bilinen SOR türleridir. Bu türlerin oluşumunda difosfonükleotid (NADPH) sistemi ve KO sistemi önemli rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en hassas yapılar; zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asitlerdir (Wilhelm 1990).

Reperfüzyon ile dokularda iskemik durumdan çok daha ağır bir hasar oluşmaktadır. Hasarı tetikleyen en önemli faktörün endotel hücrelerindeki zedelenme olduğu düşünülmektedir (Semenza 2000, Girotti 1998). İskemi sonrasında, iskemik dokudaki serbest radikallerin en önemli kaynağı KO enzimidir. Bu enzim “dehidrogenaz” ve “oksidaz” aktivitesine sahip iki şekilde bulunur. Çalışmalarda iskemi sırasında, KDH enziminin  $Ca^{+2}$  aracılı bir proteaz katalizörlüğünde KO'ya dönüşümü; intestinal dokuda 10 saniye, kalp kasında 8 dk, karaciğer, dalak, böbrek ve akciğerde 30 dk sürmektedir. Bu da değişik dokuların İ/R hasarına neden farklı oranlarda yanıt verdiği konusunda tanımlayıcı olmaktadır. Ayrıca hipoksantin ve ksantin oksidasyonu da serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır (Grace 1994, Terzi ve ark. 2000, Ertan ve ark. 2001).

## 2.3 İskemi/reperfüzyon hasarı

İskemi/reperfüzyon hasarı; yetersiz  $O_2$  sunumu ile başlayan, nötrofil ve SOR'lerin rol oynadığı steril inflamatuvar yanıtla devam eden patolojik bir durumdur (Dammers et al. 2001, Alizan et al. 2006, Tokito and Silva 2005, Duru ve ark. 2005). Dokuya giden kan akımı kesildiğinde hücresel fonksiyon bozukluğuna sebep olan birbirini takip eden kimyasal olaylar başlar. Normal hücre fonksiyonları için normal koşullarda  $O_2$  bağımlı yol kullanılır.  $O_2$  yokluğunda ise anaerobik metabolizma yolu aktiflenir ve laktik asit birikimi artar. Asidoz sonucunda normal enzim aktiviteleri

değişir, yüksek enerji bağları parçalanır ve hücre canlılığını sürdürebilmek için gerekli enerjisini yitirir (Alizan et al. 2006, Arasa ve Dilsizian 2007, Collard and Gelman 2001, Schoenberg and Beger 1993). Organizmanın iskemiye verdiği cevap, hücre türüne ve iskemi süresine göre değişir. İnsan kas hücresinde hücresel fonksiyon bozuklukların başladığı iskemi süresi yaklaşık 2 saat iken, ince barsakta bu süre yaklaşık 30 dk'dır. Fizyolojik ve anatomik çalışmalarda kas dokusunda 3 saatlik iskemi sonrası geri dönüşümsüz hücresel hasarın başladığı ve yaklaşık olarak 6. saatte neredeyse tamamlandığı gösterilmiştir (Şekil 1) (Alizan et al. 2006, Arasa ve Dilsizian 2007). İskemik alanın genişliği ve süresi iskemik hasarın derecesini belirleyen en önemli faktörlerdir. İskemik dokuya tekrar kan akımı sağlanmasıyla enerji sağlanır, hasar gören hücre tamir edilir ve toksik maddeler ortamdaki uzaklaştırılır. Reperfüzyon, iskemik hasarın geri dönebilmesi için gereklidir fakat aynı zamanda tehlikeli sonuçlara da yol açabilir. İleri derecede bölgesel doku hasarına neden olurken toksik metabolitler de sistemik dolaşıma geçerek sistemik hasara neden olabilirler. İ/R'nin neden olduğu doku hasarının büyük ölçüde reperfüzyon döneminde oluştuğu ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Alizan et al. 2006, Blaisdell 2002, Schlag et al. 2001). Hasarlanmaya neden olan doku perfüzyonundaki bozulma, damar geçirgenliğinde artış ve buna bağlı olarak gelişen doku ödemiyle ilişkilidir. Damar endotelini koruyan ve endotel fonksiyonlarını bozacak patolojik süreçleri hafifleten ajanlar ve yaklaşımlar hasarlanmaya karşı koruyucu etkinlik göstermişlerdir (Arasa ve Dilsizian 2007, Collard and Gelman 2001, Schoenberg and Beger 1993).



**Şekil 1. İskemi/reperfüzyon hasarı (Şener ve ark. 2007)**

Klinik çalışmalarda vasküler kan akımının yeniden sağlanmasıyla birlikte, iskemik organa kan akımının tam olarak sağlanamadığı gösterilmiştir. Bu perfüzyon probleminin altında yatan mekanizmalar tam olarak gösterilememiştir. Bu duruma, damar lümeninde trombosit-lökosit birikimi, interstisyel sıvı birikimi (ödem), endotelial vazorelaksanların [nitrik oksit (NO), prostasiklinler] azalması ve sonuç olarak mekanik olarak kan akımı azalmasının neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu durum klinikte infarkt sahasında artma, transplant greftinin reddi, postoperatif dönemde organ yetersizliğinde artış ile karşımıza çıkar. Söz konusu bu olay "no-reflow fenomeni" olarak adlandırılır. Bu fenomene neden olarak sıklıkla lökosit adezyonu üzerinde durulmaktadır. Örnek olarak; iskemi sonrası dokuda tekrar kan akımı oluşmayan kapillerlerin sayısı ile buraya infiltre olan lökosit sayısı arasında güçlü bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalarda nötrofillerin baskılanması ile miyokard, beyin ve iskelet kasında bu oluşumun azaltılabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte SOR oluşumu önlendiğinde, kapiller akımın onarıldığı ve lökosit/endotel hücre adezyonunun engellendiği de birçok çalışma ile gösterilmiştir (Gute et al. 1998, Collard and Gelman 2001, Korthuis et al. 1988).

## 2.4 İskemi/Reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi

İskemi sırasında hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve ilk basamakta mitokondrilerce gerçekleştirilen oksidatif fosforilasyon yolu ile üretilen ATP sentezi durur. ATP, hücrelerin kullandığı acil enerji kaynağıdır. Ayrıca ATP hücre zarından geçemediği için hücre dışına çıkamaz. Suda çözüldüğü için depolanamaz.

Hücre içinde ATP iki yolla üretilir:

1. Glikoliz yolu: Anaerobik ortamda glukozun pirüvat üzerinden laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi ile laktik aside yıkılması olayıdır. Glukozdan bu şekilde 2 ATP'lik enerji sağlanır. Glikolizin amacı, organizmaya gerekli kimyasal enerjiyi O<sub>2</sub> ihtiyacı duymaksızın kısa yoldan sağlamaktır. Glikolizde, bir glukoz molekülü için edinilen toplam enerji, glukozun oksidasyonu yoluyla elde edilen enerjiye göre çok daha azdır. Ancak O<sub>2</sub>'nin yetersiz olduğu durumlarda dokuların ihtiyacı olan enerjiyi bu yoldan elde edebilmeleri açısından çok önemlidir. İskemide, hücreler tarafından kullanılan glukozun %80-90'ı sitoplazmada anaerobik olarak glikoliz yoluyla kullanılır (Kumar et al. 2000).

2. Oksidatif fosforilasyon: Buna aerobik glikoliz de denilir. Anaerobik glikoliz yoluyla oluşan pirüvat ve laktat daha sonra mitokondriye taşınır. Burada aerobik glikoliz yoluyla yıkılmaya başlar. Anaerobik glikolizde, pirüvat, yağ asitlerinin yıkılması sonucu oluşan Asetil-CoA'lar ve pek çok aminoasit Krebs döngüsüne girip yıkılırlar ve organizmanın kullanılabilir enerjisi olan ATP'yi oluştururlar. Bu yolla 36-38 ATP elde edilir. Krebs döngüsü mitokondrielerde gerçekleşir. Glukozun O<sub>2</sub> ile yakılması sonucu oluşan ürünler 6 CO<sub>2</sub>, 6 H<sub>2</sub>O, 38 ATP ve ortama serbestleşen ısıyı sağlayan enerjidir. Anaerobik glikoliz ile oluşan laktat ve pirüvat, glikolizin bir sonraki evrelerine aktarılamadığında hücre içinde birikirler. Aerobik glikoliz kesinlikle O<sub>2</sub>'li ortamda, O<sub>2</sub> kullanarak gerçekleşir. Mitokondrilerdeki O<sub>2</sub> yetersiz ise aerobik glikoliz gerçekleşemez. Dolayısıyla glukozdan enerji sağlanması aerobik glikoliz basamağında duraksar. Bu durum hücre ve organizma için istenmeyen bazı olumsuz sonuçlar doğurur. Glukoz tam olarak yıkılamaz, bununla birlikte elde edilen ATP miktarı azalır. Aerobik glikoliz yolu durunca hücre büyük oranda ATP kaybeder, çünkü glukoz sadece pirüvata kadar yıkılabilmiş, yani 38 ATP yerine sadece 2 ATP üretilebilmiştir. İskeminin ilk dakikalarında aşırı uyarılan glikolitik yol, ortamda sitrat, laktat, nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) birikimi ve doku



asidozunun oluşması ile durur. İskemik dokuda bulunan  $O_2$  ise oksidatif fosforilasyonu devam ettirebilmek için yetersiz kalır ve glikoliz sonucu oluşan piruvatın laktata dönüşümü gerçekleşir. Böylece glikojenden ATP oluşumu ile hücre enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine neden olur. Sonuç olarak hücre içi pH düşer ve buna bağlı olarak asidoz gelişir (Kumar et al. 2000).

ATP kaybı intraselüler çok sayıda ve birbiriyle ilişkili sistemi aynı anda etkiler. Bunlar;

- **$Na^+$ - $K^+$  ATPaz pompasının bozulması:** Fizyolojik koşullarda hücreden 3  $Na^+$  iyonunun ekstraselüler ortama, 2  $K^+$  iyonunun intraselüler ortama iletilmesi işlemi bir ATP molekülünün adenzin difosfat (ADP)'ye yıkılmasıyla metabolik enerjinin harcanmasını gerektirmektedir. Özellikle hücrede ATP aktivitesinin azalması membranda aktif  $Na^+$  pompasının yetersizliğine yol açarak intraselüler  $Na^+$  artışı ve hücreden  $K^+$  dışarı atılmasına neden olur. Solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik eder ve akut hücresel şişme oluşur (Kumar et al. 2000).
- **İntraselüler asidoz oluşumu ve buna bağlı olarak pH'nın düşmesi:** Doku  $O_2$  düzeylerindeki azalma laktat birikimine neden olur ve doku pH'sı düşer.
- **İntraselüler ortamda  $Ca^{+2}$  birikimi:** Fizyolojik koşullarda sitozolik serbest  $Ca^{+2}$  ekstraselüler düzeyi ile karşılaştırıldığında, intraselüler düzeyi düşük seviyelerde bulunur ve bunun da çoğunluğu mitokondri ve endoplazmik retikulum içinde tutulur. Bu denge membran  $Ca^{+2}$  ATPaz pompası tarafından düzenlenir. İskemi veya toksinler erken dönemde sitozolik  $Ca^{+2}$  seviyelerinde artış oluşturur, bu durum mitokondri ve endoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  salınımı ve plazma membranından  $Ca^{+2}$  geçişi ile ilişkilidir. Hücrede  $Ca^{+2}$  artışı membran geçirgenliğinde spesifik olmayan artışla desteklenir. Artmış  $Ca^{+2}$  çok sayıda enzimin aktivasyonuna yol açar. Bunlar; fosfolipaz (membran hasarını başlatır), proteaz (membran ve hücre iskeleti proteinlerini parçalar), ATPaz (ATP'nin azalmasını hızlandırır) ve endonükleaz (kromatin parçalanması ile birlikte) dir (Yıldar 2008).
- **Pürin metabolitlerinin birikimi:** İskemi zamanı uzadıkça ATP yıkımı başlar, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitleri birikimi

şekillenir. Hipoksi ve intraselüler  $Ca^{+2}$  artışı aynı zamanda KDH, KO aktivasyonuna yol açar. KDH'nın, KO'ya aktivasyonu  $Ca^{+2}$  bağımlı proteaz katalizörlüğünde gerçekleşir. İskemi sırasında bu proteazların aktivasyonu; tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), nötrofillerden salınan elastaz ve kompleman sistem aktivasyonu tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin (lökosit adhezyon molekülleri ve sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal NO sentetaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO) yapımı baskılanır (Davies et al. 1999). Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durumu başlatır (Yıldar 2008).

İskemi/reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunların birbirleriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve hümoral olaylar serisidir (Homer-Vanniasinkam et al. 1997, Monsinjon et al. 2001).

Özellikle;

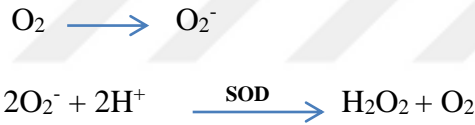
- Serbest oksijen radikalleri
- Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- Kompleman sistemi
- Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır.

#### **2.4.1 Serbest Radikaller**

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir (Acworth and Bailey 1997).

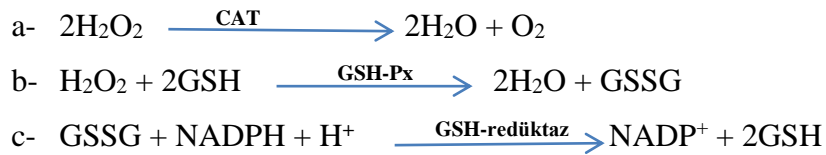
Organizma sürekli olarak serbest radikal ataklarıyla karşı karşıyadır. Atmosferin %21'ini teşkil eden O<sub>2</sub>'nin aerobik organizmanın yaşamı için gerekliliği kaçınılmazdır. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunması sırasında da belirli oranda oluşur ve içsel mekanizmalarla organizmaya olabilecek zararlı etkileri önlenir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları O<sub>2</sub>, NO, uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan O<sub>2</sub>'nin %95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5'i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerir ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir (Reiter 1995).

Süperoksit radikali, O<sub>2</sub> molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan SOD aracılığı ile hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'e indirgenir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir (Davies et al. 1995).

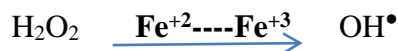


Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolizması birkaç şekilde olabilir.

1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür:



2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> geçiş metallerinin varlığında toksik hidroksil (OH•) radikaline dönüşür: Fenton reaksiyonu;



OH• radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir. OH• radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi

makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur. Makromoleküller hücrelerde kısıtlı miktarlarda bulduklarından bu yapılarda oluşan hasar oldukça önemlidir. İn vivo herhangi bir OH• radikal süpürücüsünün etkili olabilmesi için mevcut hedef moleküllerin önemli bir bölümünü kapsayacak kadar yüksek konsantrasyonda bulunması gerekir. Bu nedenle OH• radikalının oluşumunun önlenmesi, bu radikalın yok edilmesinden daha etkilidir (Reiter et al. 2001).

Hücrel hasar oluşumunda özellikle üç tip reaksiyon önem taşımaktadır (Davies et al. 1995, Schiller et al. 1991);

**1. Lipid Peroksidasyonu:** SOR'ler, plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olurlar. OH• radikali membran lipidleri ile çift bağ yapar ve böylece lipid-radikal etkileşimi ile zincirleme reaksiyon sonucu birçok lipid peroksidasyon ürünü (MDA gibi) oluşur. Eritrosit membranlarının, lipozomal membranların okside olması ile bu yapıların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir. Membranın iyon geçirgenliği bozulur. Eritrositlerde hemoliz olur. Sonuç olarak; membran, organel ve hücre hasarı meydana gelir.

**2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu:** SOR'ler, aminoasit yan zincirlerinin oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Bununla birlikte protein yapısında, ana zinciri okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olurlar. Sonuç olarak; hücrede fonksiyonel açıdan önemli olan enzimlerde bozulmalar meydana gelir.

**3. DNA hasarı:** SOR'ler, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Sonuç olarak, hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü olur. Reoksidasyon sırasında allopurinol (KO inhibitörü), SOD veya CAT uygulamasının endotel hücre hasarını önlediği gösterilmiştir (Davies et al. 1995, Schiller et al. 1991).

#### 2.4.2 Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adhezyon moleküllerine karşı monoklonal antikörlerle yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabiledaki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir (Lopez-Neblina et al. 1996). İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir (Frangogiannis 2007). Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İ/R hasarında PMNL'nin rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (Eltzschig and Collard 2004). Bunlar; 1) Mikrovasküler oklüzyon; 2) SOR salınması 3) Sitotoksik enzim salınması 4) Vasküler permeabilite artışı ve 5) Sitokin salınmasında artıştır.

Polimorf nüveli lökositlerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile, trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (Woodfin et al. 2007).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve IL-1, lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve TNF- $\alpha$  sentezine yol açar (Frangogiannis 2007). Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarırlar. Aktif nötrofiller salıverdikleri maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif

trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar. Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur.

Dokuda aktive lökositlerin başlattığı yanıt şu mekanizmalar ile gerçekleştirilir (Schoenberg and Beger 1993, Weight et al. 1996);

- Fosfolipaz A2 aktivasyonu sonucu araşidonik asit metabolitleri (PG'ler ve lökotrienler) üretilir.
- Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır.
- SOR üretimi gerçekleşir.

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirirler. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya yoğunluğunu azaltmaya yönelik bu inflamatuvar yanıt sonucu, mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve makrofajlar aracılığıyla lenfatik dolaşım yoluyla ortamdan uzaklaştırılırlar (Zimmerman and Granger 1992, Schoenberg and Beger 1993).

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O<sub>2</sub> oluşurken, NO oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur (Weight et al. 1996, Chatterjee 2007).

Serbest radikallerin oluşumunda ve İ/R hasarında önemli bir kaynak olan nötrofiller azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz

enzimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde KO'nun artması ile SOR'nin salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen perokside dönüşür. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kolajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır (Korthuis and Granger 1993).

### **2.4.3 Komplemanın rolü**

Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır (Thrane et al. 2007);

- Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)
- İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)
- E-selektin
- P-selektin

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar (Suzuki et al. 1991, Zhang et al. 1999).

Kompleman sistemi üç yol ile aktive olur.

1. Antikor bağımlı klasik yol
2. Antikor bağımsız alternatif yol
3. Lektin yolu

**1. Antikor bağımlı klasik yol:** Antijen-antikor immun kompleksler, fibronektin ve fibrinojen klasik yolun aktivatörleridir. Salmonella gibi düşük virulanslı bazı bakteriler, gram negatif bakteriler, parainfluenza virüs gibi virüsler C1q ile direkt olarak etkileşime girerek klasik yolu antikor yokluğunda aktive edebilir. Klasik yolun immunolojik olmayan aktivatörleri de bulunmaktadır. Ürat kristalleri, denatüre DNA, RNA tümör virusleri, bakteri endotoksini, bazı polianyonlar, eş-molar heparin-protamin klasik yolu direkt olarak aktive edebilirler. İmmunglobulin G (IgG) ve alt grupları, IgM grubu Ig'ler de klasik yolu aktive edebilir. Bir tek IgM veya iki IgG'nin bakteri veya virüsle enfekte olmuş host hücresi yüzeyine bağlanması, aktivasyon için yeterlidir. Çözünür antijenler ise ancak büyük multimoleküler antijen-antikor kompleksleri (immunkompleks) halinde kompleman sistemini aktifleştirirler. Sistem aktivasyonu C1 proteinin bu maddelerden birine direkt bağlanması ile ya da plazmin gibi bazı fibrinolitik enzimlerin C1 üzerine doğrudan enzimatik saldırısıyla başlar. Antikoru C1'e bağlanması ile serin proteaz aktive olur. Bu; C4C2'nin C4bC2a'ya dönüşümünü sağlar. C4bC2a ise C3'ün C3a ve C3b dönüşümünü sağlar. C3b fagositler için opsonin görevi yapar. Ayrıca C3b, C5'in bağlanması için yer oluşturur. C5 membran atak kompleksin oluşumunu başlatır ve hücre zarında porlar meydana getirerek hücre lizisine neden olur (Yavuzer 2008).

**2. Antikor bağımsız alternatif yol (Properdin Yolu) :** E.koli, tripanosoma, diğer parazitler, virüsle enfekte olmuş hücreler, maya hücre duvarı, kobra venom faktörü, nefritik faktör, dekstran sülfat, polivinil sülfat, nöraminidaz ile muamele edilmiş eritrositler, insanda diğer memelilerin eritrositleri, antijen-antikor kompleksleri, Ig A ve klasik yolu aktive eden immunglobulinler, lipopolisakkarid ve diğer bakteri ürünleri kompleman sistemini alternatif yol aracılığı ile aktive ederler. Alternatif yol bakteri hücumunda en önde yer alır ve henüz konağın antikor üretimi için yeterli zaman bulamadığı dönemde devreye girer. Klasik yolun etkinleştirilmesi sonucunda aktifleşen C3 de, alternatif yolu aktifleştirebilmektedir. C3 klasik ve alternatif yolun



birleştigi noktada yer alır ve kompleman sisteminin en önemli üyelerinden biridir. Dolaşımında C3 proteolitik enzimlerin etkisi ile C3a ve C3b'ye ayrılmakta, ancak faktör I ve H ile sürekli olarak inaktive edilerek düşük düzeyde tutulmaktadır. Patojen mikroorganizmaların polisakkarid ve lipopolisakkaridleri varlığında bu denge bozulduğunda C3b, faktör B ve D ile etkileşime girer. Dolaşımında devamlı olarak hidrolize uğrayarak farklı bir konformasyona çevrilen C3, faktör B'ye bağlanır, C3-faktör B kompleksine de faktör D bağlanır ve sonuçta faktör B kırılır. Geride kalan kompleks, alternatif yol C3 konvertazdır. Properdin, bu konvertaza bağlanır ve onu stabilize eder ve kompleman kaskadının devamını sağlar. Faktör D, plazmada aktif halde bulunan bir proteazdır (Yavuzer 2008).

**3. Lektin Yolu:** Doğal bağışıklıkta, henüz kazanılmış immun cevap oluşmadan önceki devrede önemli rol üstlenir. Mikroorganizmaların yüzeylerindeki mannoz ve N-asetilglukozamin gibi karbonhidratları tanıyan kollektin ailesinin bir üyesi olan mannoz bağlayıcı lektin (MBL) de klasik kompleman yolunu aktive edebilmektedir (Yavuzer 2008).

Yapılan çok sayıda çalışma da İ/R hasarında kompleman sisteminin her 3 yolunun da aktive olduğu gösterilmiştir (Arumugam et al. 2008, Link et al. 1999, Stahl et al. 2003). Kalp kasında reperfüzyon sırasında kompleman aktivasyonunu gösteren bir çalışmada komplemanın klasik yolu C1 inhibitörü kullanılarak inhibe edilmiş ve iskemik miyokardın reperfüzyon hasarından efektif olarak korunduğu gözlenmişti (Buerke et al. 1995).

#### **2.4.4 Endotel hücresinin rolü**

İskemi/reperfüzyon hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'yi ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımında ET'nin vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında ET/NO oranı ET lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur (García-Villalón et al. 2008).

Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, PG'ler (PG I<sub>2</sub>, PG E<sub>2</sub>), GM-CSF, büyüme faktörleri, ET, NO ve tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılama yeteneğindedir (Weight et al. 1996). NO'ların radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, NO'yu ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir NO sentaz enziminin induksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nun dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (Phillips et al. 2009).

## 2.5 Antioksidanlar

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesi normal bir yaşamın sürdürülebilmesi için çok önemlidir. SOR'lerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için organizmayı koruyan "antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki göstermektedir;

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme "süpürücü etki". Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler (Karihtala and Soini 2007, Reiter 1995).
- 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya "inaktif şekle dönüştürücü etki". Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (Cherubini et al. 2008).
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller "zincir kırıcı etki" gösterirler (Mickle and Weisel 1993).

- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler (Virág and Szabó 2002).

Endojen veya eksojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında İ/R hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Antioksidan özelliği öne sürölmüş pek çok madde çeşitli İ/R modellerinde test edilerek değerlendirilmiştir.

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere 2 gruba ayrılırlar. Enzimatik olanlar; CAT, SOD, GSH-Px, GST, glukoz 6- fosfat dehidrogenaz ve glutatyon redüktazdır (Pellegrini et al. 2009, Ratnam et al. 2006). Non-enzimatik olanlar ise; karotenoidler (lutein, β-karoten, zeaksantin likopen), polifenoller, mineraller (Se, Zn) düşük moleköl ağırlıklı antioksidanlar (GSH-Px, ürik asit), vitaminler (A, C, E ve K) ve antioksidan ko-faktörlerdir (Koenzim Q10) (Pellegrini et al. 2009, Cemeli et al. 2009, Ratnam et al. 2006). Ayrıca antioksidanlar; eksojen (karoten, A, C ve E vitamini), endojen (melatonin, SOD, GSH-Px, CAT), vitamin (C vitamini), eser elementler (Mg, Se), protein (melatonin), hidrofilik (askorbik asit, urat), kompleks bileşik, hidrofobik (β-karoten, α-tokoferol), direkt etkili (SOD, CAT), indirekt etkili (E vitamini) olanlar şeklinde ayrılabilereği gibi, membran (vitamin A ve E, β-karoten), sitozol (Koenzim Q10), dolaşım (C vitamini, aminoasitler ve polifenoller) ve sistem (Se, Zn) antioksidanları şeklinde de ayrılabilirler (Pellegrini et al. 2009, Cemeli et al. 2009, Ratnam et al. 2006, Cornelli 2009, Gülçin ve ark. 2008, Giacco et al. 2010, Stahl et al. 2002).

Oksidanlar hedef hücrelerde çeşitli farklı biyokimyasal değişiklikleri kapsar ve lökositlerin uyarılmasıyla oluştururlar. Hipoklorik asit, klorid iyonlarının varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerinde peroksidaz aktiviteyle düşük molar konsantrasyonlarda (10-20 μM) üretilerek hücre membran proteinlerine zarar vererek fonksiyonlarını bozarlar. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hızlı bir şekilde hücrelere nüfuz ederek hem glikolitik ve hem de oksidatif fosforilasyon (mitokondrial) yolları üzerinden ATP sentezinin inhibisyonuna neden olur. Glikolitik yolda hasar; gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) içeren basamakta sınırlıdır. Bu durum hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin GAPDH üzerine hücumundan hem de GAPDH kofaktörü NAD konsantrasyonunda azalmadan kaynaklanmaktadır. Bu etkilerin DNA onarımında rol alan (ADP)-riboz polimeraz

enziminin aktivasyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Cochrane 1991). Hem hücre hasarı hem de hücre ölümü veya amino asitlerin ve baz sırasında meydana gelen mutasyonlar DNA hasarına neden olmaktadır.  $O_2^{\bullet-}$  gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu  $O_2$ , hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş GSH bağımlı Se içeren bir enzim olan GSH-Px tarafından lipid alkollere dönüştürülüp inaktive edilirse de, gerek  $O_2^{\bullet-}$  gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi hem Se eksikliği hem de ortamdaki GSH'nın tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddelerin bulunması, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid grupların oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının çoğunluğunda, doğrudan doku hasarı oluştururlar. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksisite, metabolik disfonksiyon ve  $Ca^{+2}$  intraselüler homeostazisinde bozulma gibi çoğul mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler (Güven ve ark. 2003, Facchinetti 1998, Kaya ve arl. 1998, Mates 2000).

### 2.5.1 Antioksidan enzimler

#### Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalinin ( $O_2^{\bullet-}$ ),  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda  $O_2$  üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafında düşük tutulur. Ancak,  $H_2O_2$  geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile son derece aktif  $OH^{\bullet}$  radikaline dönüşmektedir. Bu durumda CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesi artarak  $H_2O_2$  düzeylerini kontrol altına almaktadır (Rodriguez et al. 2004).

## **Katalaz**

Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi oksijen ve suya parçalar. Böylece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin OH<sup>•</sup> oluşumunu önlemek için ortadan kalkmasını sağlar (Rodriguez et al. 2004).



## **Glutasyon**

Glutasyon, hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içi en önemli antioksidan bileşiktir. Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Sentezde  $\gamma$ -glutamil sistein sentaz ve GSH sentaz enzimleri katalizördür. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz merceğini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Reiter et al. 1995). GSH homeostazı için diyetle yeterli protein alınmasının gerekli olduğu ve enteral veya parenteral alınan sistin, metiyonin ve N-asetilsistein'in GSH biyosentezinde sisteinin prekürsörü olarak önemli rol oynadığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Yaşamsal fonksiyonlarda öneme sahip GSH'nın hayvan çalışmalarında yeterli konsantrasyonlarda lenfositlerin ve ince barsak epitel hücrelerinin proliferasyonu için gerekli olduğu belirtilmiştir. Spermatogenez ve sperm olgunlaşmasında önemli rol oynadığı, influenza enfeksiyonunu inhibe ettiği, T-lenfositlerin, PMNL'lerin ve sitokinlerin aktivasyonu için gerekli olduğu ve immün sistemin önemli bir elemanı olarak fonksiyon gösterdiği ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalar GSH eksikliğinin oksidatif strese yol açtığını ve Alzheimer, Parkinson, epilepsi, karaciğer hastalıkları, kistik fibrozis, orak hücreli anemi, AIDS, kanser, koroner kalp hastalığı, inme, diyabet gibi pek çok hastalığın nedeni olabileceğini ortaya koymaktadır (Ross 1988).

### **Glutatyon S-Transferaz**

Glutatyon S-transferaz dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder (Reiter et al. 1995).



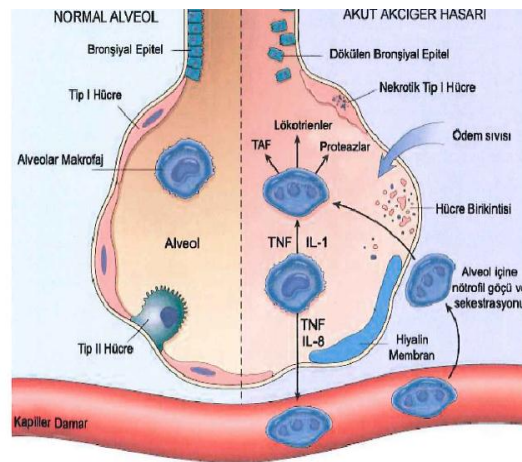
### **Malondialdehit**

Lipid peroksidasyonu, SR'ler tarafından başlatılan, membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olay veya lipid moleküllerindeki iki doymamış bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir H<sub>2</sub> atomunun çıkması ile başlatılan kompleks bir fenomendir. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali (L•) oluşur (Kalender ve ark. 2004, Slater 1987). Oluşan lipid radikali dayanıksızdır. Lipid radikalinin moleküler O<sub>2</sub> ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikali (LOO•) meydana gelmektedir. Bu radikaller de membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan H<sub>2</sub> atomlarını alarak Lipid hidroperoksitler'ine (LOOH) dönüşmektedir. LOOH, fenton tipi bir reaksiyonla aldehit ve alkanlar oluşur. Üretilen hidroperoksitler daha fazla radikali yıkararak, lipid peroksit, etan ve pentan gibi uçucu gazlar oluşur. Aldehitler en toksik ürünlerdir (Halliwell and Chirico 1993). Bu son ürünler nispeten daha stabil bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun markeri olarak kullanılabilen MDA'ya dönüşür (Slater 1987). Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Kalender ve ark. 2004, Niki 1987, Placer et al. 1990).

## 2.6 İskemi/reperfüzyonda sistemik etki ve uzak organ hasarı

İskemi/reperfüzyondan kaynaklanan doku hasarı, olduğu bölgeyle kalmayıp diğer organ sistemleri üzerinde de değişik seviyelerde hasar oluşturabilir. Mekanizması henüz tam anlaşılamamış olsa da; akciğer dokusu, böbrekler, karaciğer, iskelet kasları, kalp ve gastrointestinal sistem gibi organlarda meydana gelen İ/R'de uzak organ hasarı olduğu gösterilmiştir (Hirsch et al. 2008, Vega et al. 2000, He et al. 2011, Carden and Granger 2000). Uzak organ hasarına neden olan etmenler direkt olarak primer hasarlanan dokudan kaynaklanabileceği gibi dolaşımdaki aktive lökositler ve inflamatuvar mediyatörlerden de kaynaklanabilir (Şekil 2). Özellikle gastrointestinal sistemde (GİS), alt ekstremitede ve karaciğerde meydana gelen İ/R hasarının başlıca akciğerlerde uzak organ hasarına yol açtığı gösterilmiştir ve bu hasardan endotelial KO'ya bağlı artmış SOR üretimi sorumlu tutulmuştur (Özcan ve ark. 2015).

İddia edilen diğer bir mekanizma da, dokuda bölgesel olarak oluşan oksidanların indüklediği sitokinler veya kemotaksis faktörlerinin sistemik dolaşıma katılarak uzak organlarda PMNL migrasyonu oluşturmasıdır. Uzak dokulara PMNL toplanması, lokal doku hasarlanmasına benzer şekilde solunumsal patlama ile SOR üretimine ve sonuçta oksidatif hasara yol açar (Özcan ve ark. 2015).



Şekil 2. Alt ekstremitte iskemi/reperfüzyonuna bağlı akciğer hasarı patofizyolojisi (Kaçmaz ve ark. 2005)

## 2.7 Amantadin:

Amantadine Immediate release (IR) 1966 yılında Asya İnfluenzasına karşı koruyucu bir ajan olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylandı (Hubsher et al. 2012). 1969'da Schwab ve arkadaşları, amantadin hidroklorür (HCl) 'ün motor semptomlar üzerindeki olumlu etkisini keşfetti ancak antidiskinetik etkisini keşfetmek 30 yıldan fazla zaman aldı. Nispeten kısa süreli çalışmalar amantadin IR ile antidiskinetik bir etki göstermiştir (Schwab et al. 1969, Ory-Magne et al. 2014). Bununla birlikte, bu etki iyi kontrollü, randomize, uzun dönemli klinik çalışmalarda geniş bir şekilde incelenmemiştir. Bu kanıta rağmen, levodopa kaynaklı diskinezi tedavisinde amantadin kullanımı ile ilgili farklı kılavuz önerileri bulunmaktadır (Pahwa et al. 2006, Fox et al. 2011). Amerikan Nöroloji Akademisi yönergeleri amantadinin "muhtemelen etkili" olduğu sonucuna varmış fakat buna karşın Hareket Bozuklukları Derneği'ne ait kanıta dayalı bir inceleme, amantadin IR'nin diskinezi tedavisinde "etkili" olduğunu bildirmiştir (Fox et al. 2011, Crosby et al. 2003). Levodopa ile indüklenen diskinezinin azaltılmasında amantadinin etki mekanizması bilinmemektedir.

Amantadin, bir glutamaterjik reseptör türü olan NMDA reseptörünün (Ki 5 10 1M) yarışmasız (açık kanallı) bir antagonistidir, glutaminerjik reseptör tipidir, direk ve indirek glutaminerjik ve dopaminerjik sinyal etkisine sahiptir (Danysz et al 1997, Farnebo et al. 1971). Amantadinin ön görülebilir antikolinergik (örn; ağız kuruluğu, üriner retansiyon ve kabızlık) ve NMDA reseptörü antagonist etkinlikleri (örn; halüsinasyonlar) mevcuttur (Metman et al. 1999). Amantadinin güvenli doz aralığı belirlenmiştir (Symmetrel and Ford 2009). Her ne kadar çoğu parkinson hastası günde 200 mg amantadin IR'yi (amantadin HCl, 162 mg amantadine eşdeğer) tolere edebilse de, yüksek dozlarda; 300 mg/gün (243 mg amantadine eşdeğer) veya daha yüksek dozlarda, özellikle merkezi sinir sistemi olaylarında (uyku bozuklukları dahil) yan etkilerin artmış olması amantadin IR'nin rutin kullanımını sınırlar (Symmetrel and Ford 2009).



## 2.8 Ketamin:

Ketamin, yaklaşık 50 yıldır kullanılmakta olan iyi bir intravenöz anestezi ilaçtır (Domino et al. 1965). Volatil anesteziye kıyasla belirgin biçimde farklı bir anestezi şekli ile sonuçlanan bir dizi anestetik etki üretir. "Disosiyatif anestezi" olarak adlandırılan bu durum; (a) düşük konsantrasyonlarda psikotomimetik etkileri içeren hipnoz, daha yüksek dozlarda sedasyon ve bilinç kaybı; (b) yoğun analjezi (veya anti-nosisepsiyon); (c) arttırılmış sempatik aktivite; ve (d) solunum yolu tonusu ve solunumun baskılanmasıdır. 1980'lerin ortalarından beri ketaminin NMDA reseptör blokajına neden olduğu bilinmektedir (Mac Donald et al. 1987). Bununla birlikte yapılan yeni çalışmalar ketaminin geniş bir yelpazede farklı moleküler etkiler sergilediğini ve klinik yararlılığının akut ve kronik ağrı da dahil olmak üzere geniş bir yelpazede kullanıldığını göstermiştir (Hirota 2006, Duman et al. 2012).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu tarafından, G.Ü.ET-17.020 kod numarası ve 17.04.2017 tarihli etik onayı alan bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2016-40-02-008 kod numarası ile desteklenmeye uygun bulunmuştur. Çalışmamız Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nde Haziran-2017'de gerçekleştirildi.

#### 3.1 Denek Seçimi

Çalışmada 24 adet 250-330 g ağırlığında Wistar cinsi erişkin erkek ratlar kullanıldı. Ratlar, araştırma başlangıcına kadar 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda barındırılarak ortama adaptasyonları sağlandı. Denekler ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortamda bakıldı. Standart sıçan gıdası (pellet yemi) alan hayvanlara sıvı ve yem kısıtlaması uygulanmadı.

#### 3.2 Kullanılan Yöntemler

Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Birinci gruba ksilazin+ketamin verilerek orta abdominal insizyon yapıldı fakat iskemi-reperfüzyon uygulanmadı (Sham grubu-Grup S). İkinci gruba ksilazin+ketamin ve amantadin verilerek orta abdominal insizyon yapıldı fakat İ/R uygulanmadı (Amantadin grubu-Grup A). Üçüncü gruba ksilazin+ketamin verilerek orta abdominal insizyon yapıldı ve İ/R uygulandı (İ/R grubu-Grup İ/R). Dördüncü gruba ksilazin+ketamin ve amantadin verilerek orta abdominal insizyon yapıldı ve iskemi-reperfüzyon uygulandı (İ/R+amantadin grubu-Grup İ/R-A).

Anestezi verilmeden önce ağırlıkları ölçülen ratların abdominal bölgeleri cerrahi insizyondan önce tıraş edildi (Resim 1). Tüm ratlara 100 mg/kg ketamin (Ketalar 1 ml:50 mg, Pfizer, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal, 15 mg/kg ksilazin (Xylazinbio %2 , Bioveta, Çek Cumhuriyeti) intramusküler ve 0.01 mg atropin (Atropin Sülfat 0.5 mg/ml ampul, Biofarma, İstanbul, Türkiye) intramusküler uygulanarak anestezileri sağlandı. Isı kaybının engellenmesi ve hipotermiden kaçınılması amacıyla ısıtıcı blanket (Resim 2) ve ısı monitörizasyonu için de rektal termometre kullanıldı. Yeterli anestezi kriteri olarak ağırlı uyarana yanıtızsızlık sağlandıktan sonra

hidrasyon sağlamak amacıyla kuyruk veninden 24 Gauge (G) intravenöz kanül (Ar-Es IV Neo, İzmir, Türkiye) ile kanülasyon yapıldı (Resim 3). Anestezi idamesi aralıklı olarak intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile sağlandı.



**Resim 1. Ratların tıraşlanması**



**Resim 2. Isıtıcı blanket**



**Resim 3. Kuyruk veni kanülasyonu**

Kuyruk veni kanülasyonu sonrasında Grup A'ya ve Grup İ/R-A'ya 45 mg/kg Amantadin (Amantadine hydrochloride, A1260-5G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) intraperitoneal olarak uygulanırken diğer gruplara herhangi bir ilaç uygulanmadı. Tüm gruplar için orta abdominal insizyon öncesi 15 dk herhangi bir işlem yapılmadan beklendi. Daha sonra tüm ratlara %1'lik lidokain HCl (Jetmonal %2, 5 mL ampul, Adeka, Samsun, Türkiye) ile cilt infiltrasyonu sonrası orta abdominal insizyon yapıldı (Resim 4).

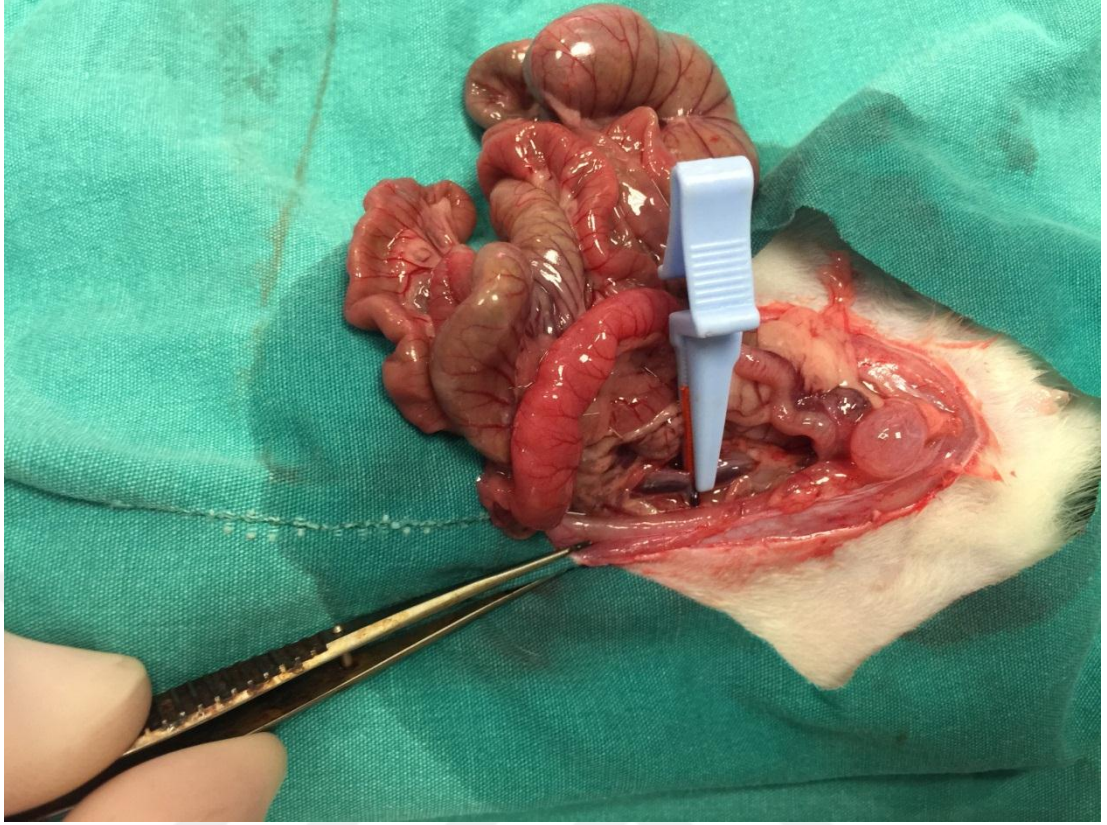
Grup İ/R ve İ/R-A'daki ratlara orta abdominal insizyon yapıldıktan sonra cerrahi sahadan barsaklar uzaklaştırılarak infrarenal abdominal aorta eksplore edildi ve aortaya atravmatik vasküler klemp konuldu (Resim 5). Klemp 120 dk sonra alındı ve 120 dk süreyle reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun 2. saatinde ratlar alınarak kan ve organ örneklemeleri için ötenazi uygulandı. Grup S ve A'daki ratlara ise orta

abdominal insizyon sonrası herhangi bir işlem uygulanmadı. 4 saat sonunda ratlara kan ve organ örneklemeleri için ötenazi uygulandı.



**Resim 4. Orta abdominal insizyon**





**Resim 5. İnfra renal aortaya klemp konulması**

Alınan akciğer doku örnekleri %10 formaldehit solüsyonu içerisinde +4°C'de muhafaza edildi. Dokular Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Patoloji Kliniği laboratuvarında hematoksilin-eozin ile boyanıp ışık mikroskopisiyle değerlendirildi. Grade 0 (Hasar belirtisi yok), Grade 1 (Hafif hasar), Grade 2 (İleri hasar), Grade 3 (Şiddetli hasar varlığı) şeklinde iskemi derecelendirilmesi nötrofil/lenfosit infiltrasyon ve alveol duvar kalınlaşması skorları baz alınarak yapıldı.

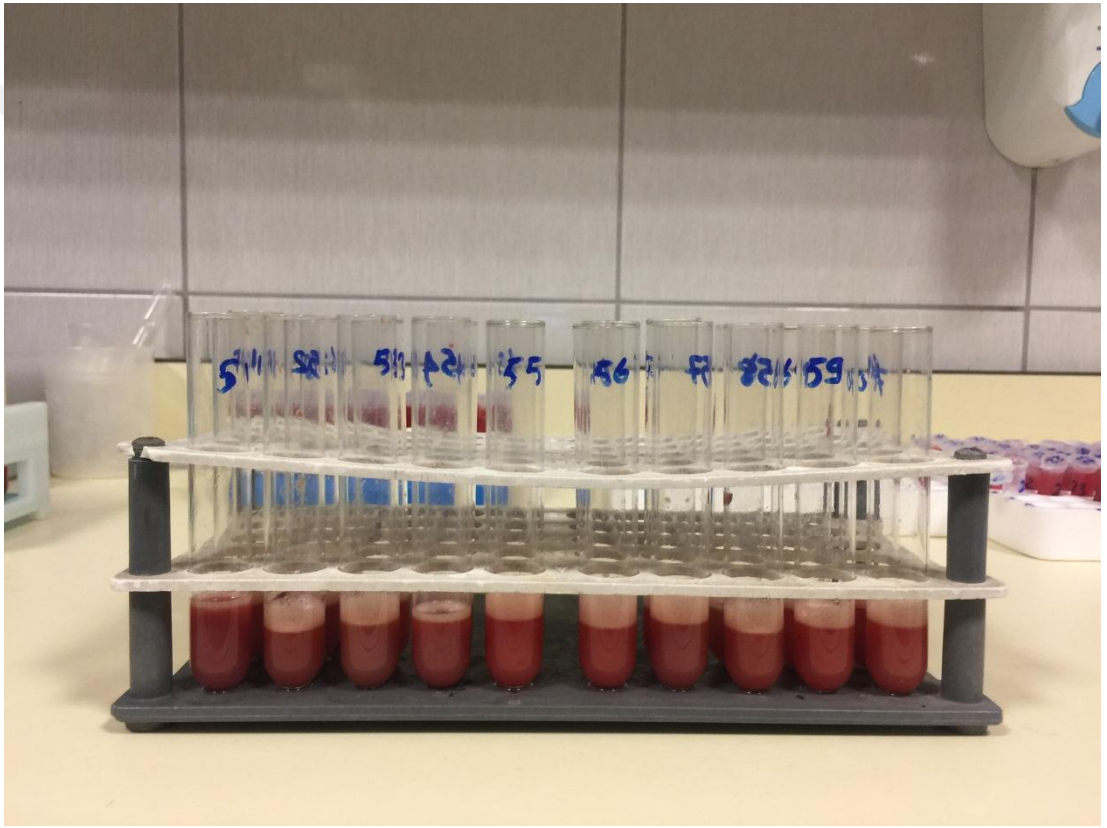
### **3.3 Homojenizasyon**

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında, doku homojenizasyonu için -80°C'de muhafaza edilen akciğer örneklerinin buz üzerinde yağ ve bağ dokuları uzaklaştırılarak küçük parçalara ayrıldı. Örnekler tartıldı ve son konsantrasyonu 100 mg doku/mL olacak şekilde soğuk fosfat tamponu (pH 7.4, 50 mmol/L) içeren cam tüplere konuldu. Homojenizasyon işlemi mekanik homojenizatör (Isolab, Laborgerate GmbH, Germany) buz üzerinde yapıldı ve Isolab

homojenizasyon cihazı kullanıldı (Resim 6). Elde edilen homojenat 10.000 g'de, 4°C, 10 dk santrifüj edilerek debrisler ve diğ er partik ullerinden ayrıldı (Resim 7). T m parametreler santrif j sonrası elde edilen s pernatantlardan  alışıldı (Resim 8).

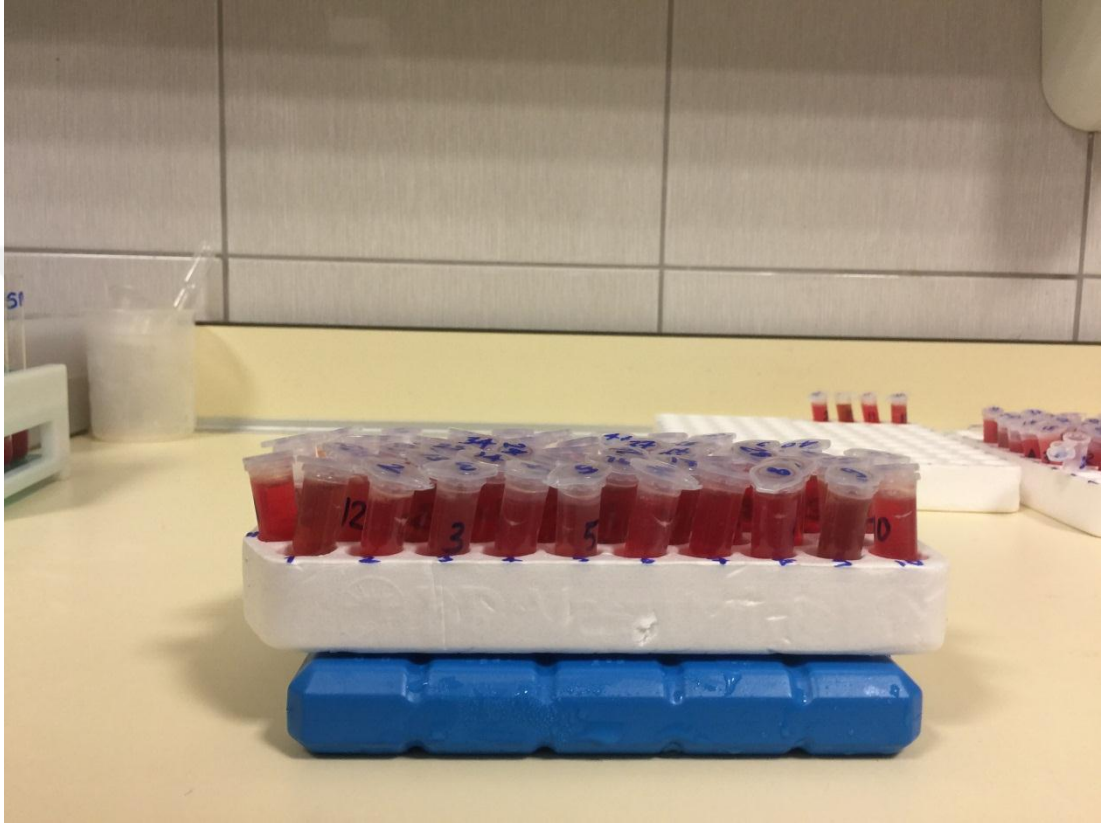


**Resim 6. Homojenizasyon cihazı**



**Resim 7. Homojenatlar**





**Resim 8. Süpernatantlar**

### 3.4 Antioksidan Enzimlerin Analizi

Antioksidan enzim düzeyleri Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında çalışılmıştır.

**Katalaz düzeyleri** ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kite ait ölçüm içi varyasyon katsayısı (CV) <%10 idi. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı.

**Glutasyon-S-transferaz düzeyleri** ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kite ait ölçüm içi CV<%10 idi. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı.

**Süperoksid dismutaz düzeyleri** ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kite ait ölçüm içi CV<%10 idi.. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı.

### 3.5 Lipid Peroksidasyon Durumunun Analizi

Lipid peroksidasyon durumunu belirlemek için MDA düzeyleri Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında çalışılmıştır. **MDA düzeyleri** ELİSA (Elabscience Biotechnology Co. Ltd, Wuhan, China) yöntemi ile ölçüldü. Kite ait ölçüm içi CV<%10 idi. Ölçümler üretici firma protokollerine uyularak otomatik ELİSA analizöründe (Triturus, Grifols, Spain) yapıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar hesaplandı

### 3.6 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma 24 deneğe ait veriler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Veriler IBM SPSS Statistics 23 programına aktarılarak tamamlanmıştır.

Çalışma verileri değerlendirilirken sayısal değişkenler için merkezi eğilim ölçülerinden minimum, maksimum, medyan ve eyreklikler arası genişlik değerleri verilmiştir. Kategorik değişkenler için frekans dağılımları (sayı, yüzde) verilmiştir. İki den fazla grup arasında fark olup olmadığına Kruskal Wallis testi ile bakılmıştır.

$p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

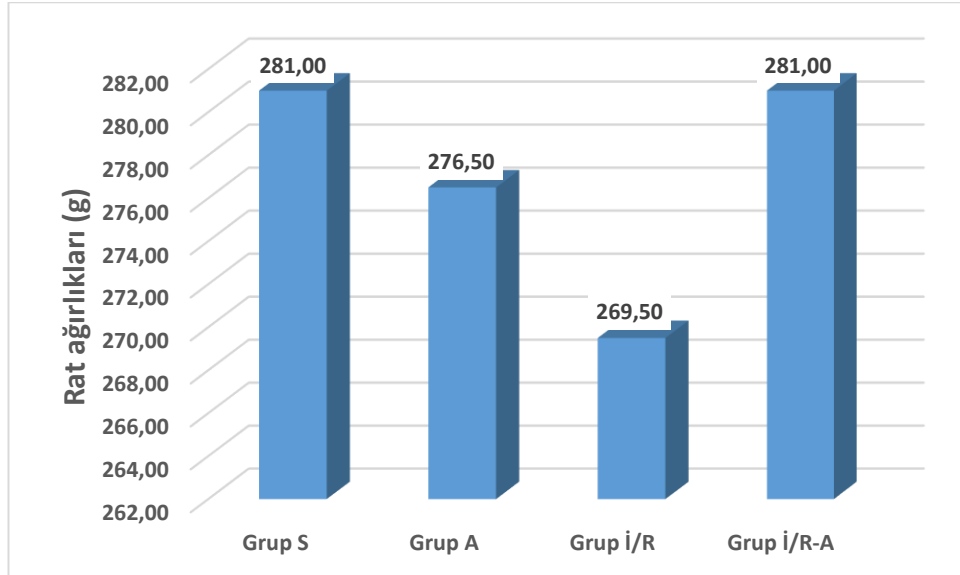


#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda incelenen 24 denekten oluşan 4 grup arasında ratların ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplarda ağırlık medyanlarının benzer olduğu saptandı ( $p=0,997$ ).

**Tablo 1. Ratların ağırlıkları, [Medyan  $\pm$  IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
Ağırlık (g)	281,00 $\pm$ 42,00 (255-312)	276,50 $\pm$ 26,00 (260-303)	269,50 $\pm$ 47,00 (255-310)	281,00 $\pm$ 31,00 (258-297)	0,997

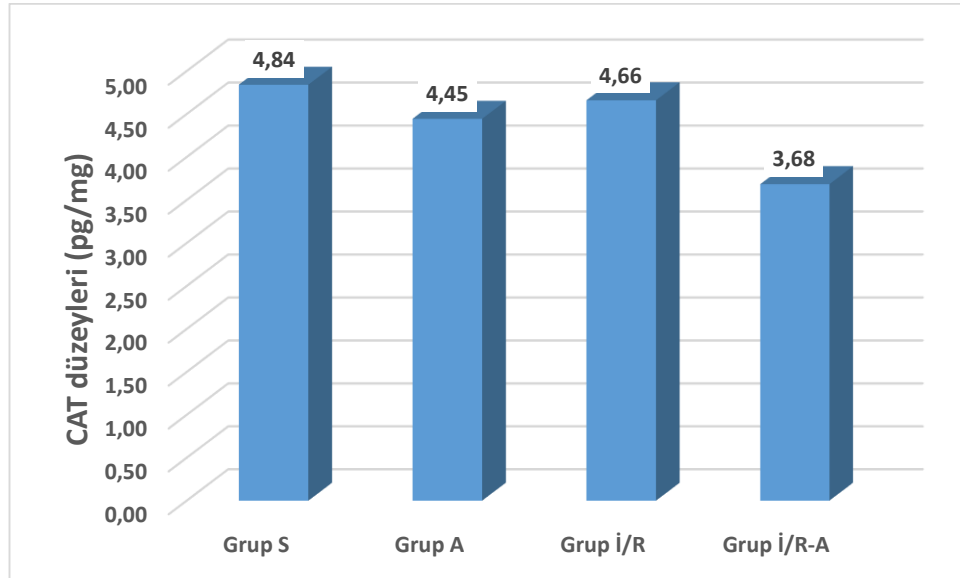


**Şekil 3. Rat ağırlıkları**

Gruplara ait CAT düzeyleri Tablo 2’de verilmiştir. CAT düzeyleri Grup İ/R-A’da Grup S, Grup A ve Grup İ/R’ye göre düşüktü. Ancak gruplar arasındaki CAT düzeyleri farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 2. Doku CAT Düzeyleri, pg/mg [Medyan  $\pm$  IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
CAT	4,84 $\pm$ 1,00 (3,78-5,61)	4,45 $\pm$ 0,21 (3,46-4,80)	4,66 $\pm$ 0,79 (3,89-4,81)	3,68 $\pm$ 0,54 (3,55-4,57)	0,064

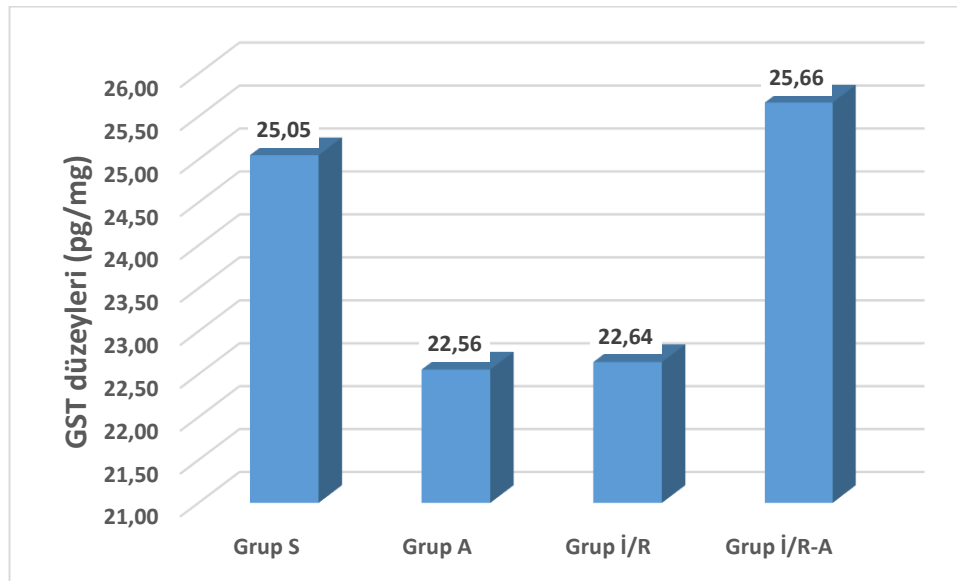


**Şekil 4. CAT düzeyleri**

Gruplara ait akciğer dokusu GST düzeyleri Tablo 3’te verilmiştir. GST düzeylerinin Grup İ/R ve Grup A’da Grup S’ye göre azalmış olduğu, Grup İ/R-A’da ise GST düzeylerinin Grup İ/R’ye göre artmış olduğu saptandı. Fakat gruplar arasında GST düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,052$ ).

**Tablo 3. Doku GST Düzeyleri (pg/mg) [Medyan  $\pm$  IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
<b>GST</b>	25,05 $\pm$ 4,07 (21,00-27,41)	22,56 $\pm$ 2,38 (20,47-24,00)	22,64 $\pm$ 4,88 (19,66-26,54)	25,66 $\pm$ 2,00 (23,90-28,00)	0,052

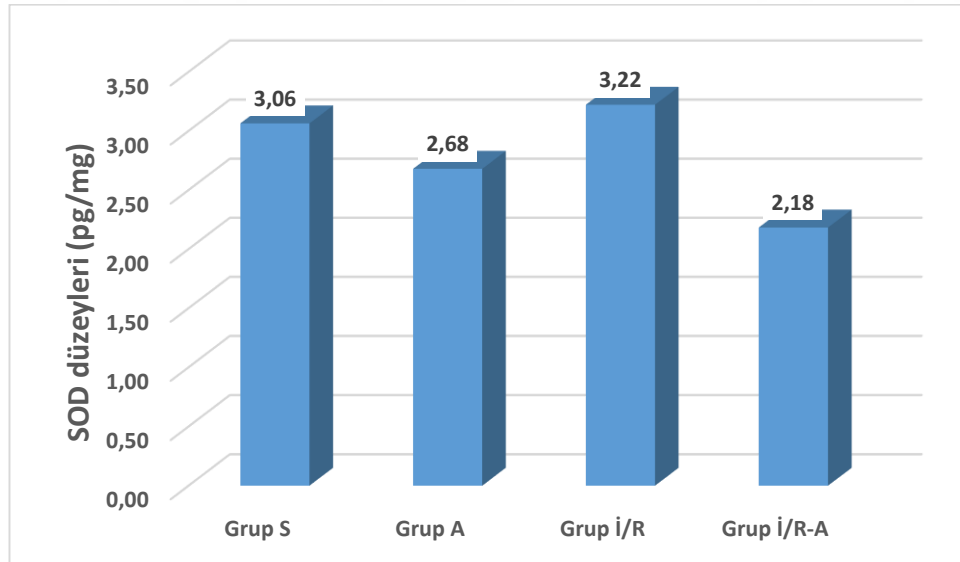


**Şekil 5. GST Düzeyleri**

Gruplara ait akciğer dokusu SOD düzeyleri Tablo 4’te verilmiştir. SOD düzeyleri Grup İ/R’de Grup S’ye göre yüksekti. Grup İ/R-A’da ve Grup A’da Grup S’ye ve Grup İ/R’ye göre SOD düzeylerinin azalmış olduğu saptandı. Ancak gruplar arasındaki SOD düzeyleri farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,090).

**Tablo 4. Doku SOD Düzeyleri (pg/mg) [Medyan ± IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	P
<b>SOD</b>	3,06±0,52 (2,10-3,40)	2,68±0,68 (2,12-2,90)	3,22±2,03 (2,35-4,61)	2,18±0,84 (1,70-2,92)	0,090

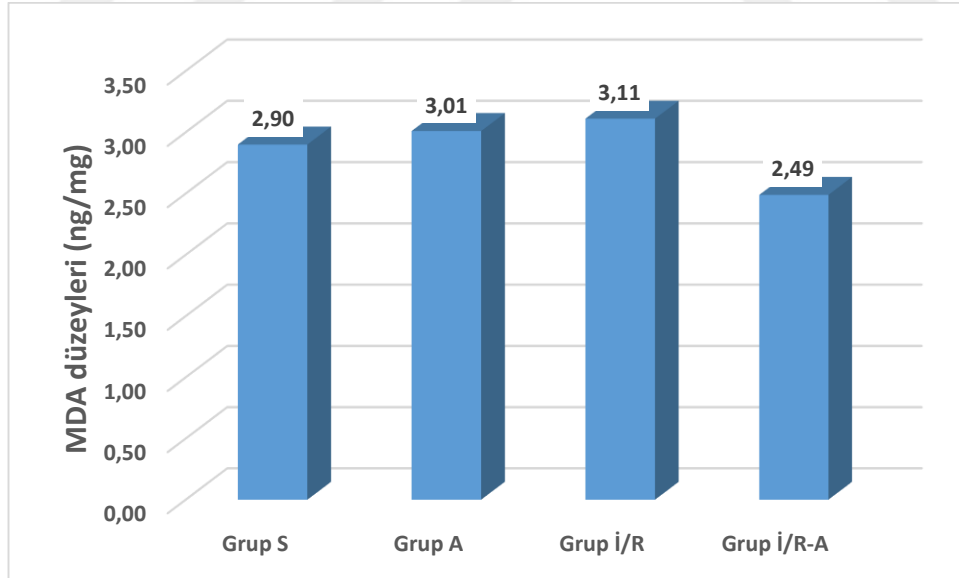


**Şekil 6. SOD Düzeyleri**

Gruplara ait akciğer dokusu MDA düzeyleri Tablo 5'te verilmiştir. MDA düzeylerinin Grup İ/R ve Grup A'da Grup S ve Grup İR-A'ya göre artmış olduğu, Grup İ/R-A'da ise Grup S'ye göre azalmış olduğu saptandı. Fakat gruplar arasında MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,193).

**Tablo 5. Doku MDA Düzeyleri ng/mg [Medyan  $\pm$  IQR (en az – en çok)]**

	<b>Grup S (n=6)</b>	<b>Grup A (n=6)</b>	<b>Grup İ/R (n=6)</b>	<b>Grup İ/R-A (n=6)</b>	<b>P</b>
<b>MDA</b>	2,90 $\pm$ 0,36 (2,71-3,14)	3,01 $\pm$ 0,70 (2,68-3,47)	3,11 $\pm$ 0,86 (2,37-3,50)	2,49 $\pm$ 0,16 (2,36-3,84)	0,193



**Şekil 7. MDA düzeyleri**

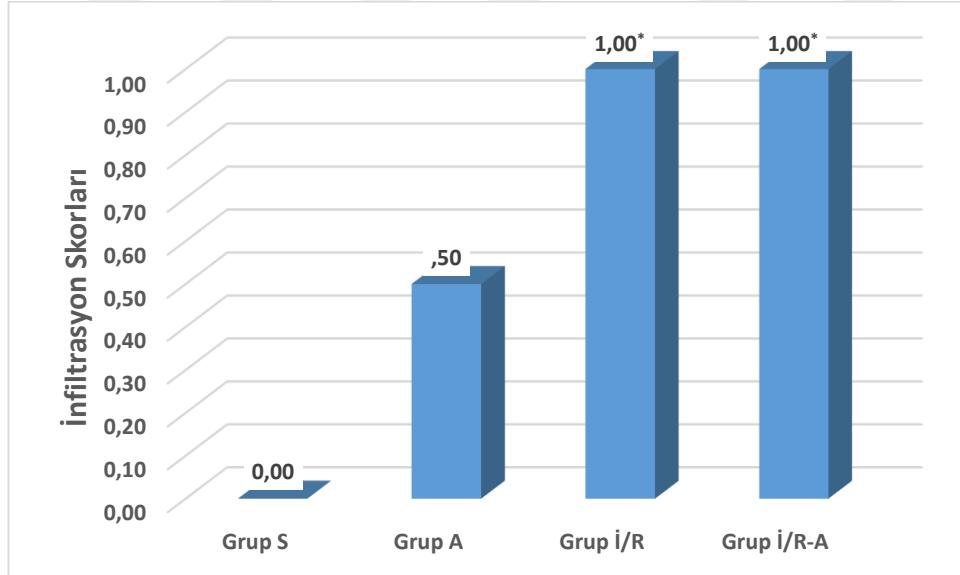


Gruplara ait akciğer dokusu nötrofil/lenfosit infiltrasyon skoru düzeyleri Tablo 6’da verilmiştir. Grup S’de infiltrasyon skoru Grup İ/R ve Grup İ/R-A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü (p=0,009, 0,011, sırasıyla)

**Tablo 6. İnfiltrasyon Skorları [Medyan ± IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
<b>İnfiltrasyon skoru</b>	0,00±1,00 (0-1)	0,50±1,00 (0-1)	1,00±1,00* (1-3)	1,00±1,00* (1-2)	<b>0,010</b>

\*p<0,05; Grup S ile karşılaştırıldığında



**Şekil 8. İnfiltrasyon Skorları**

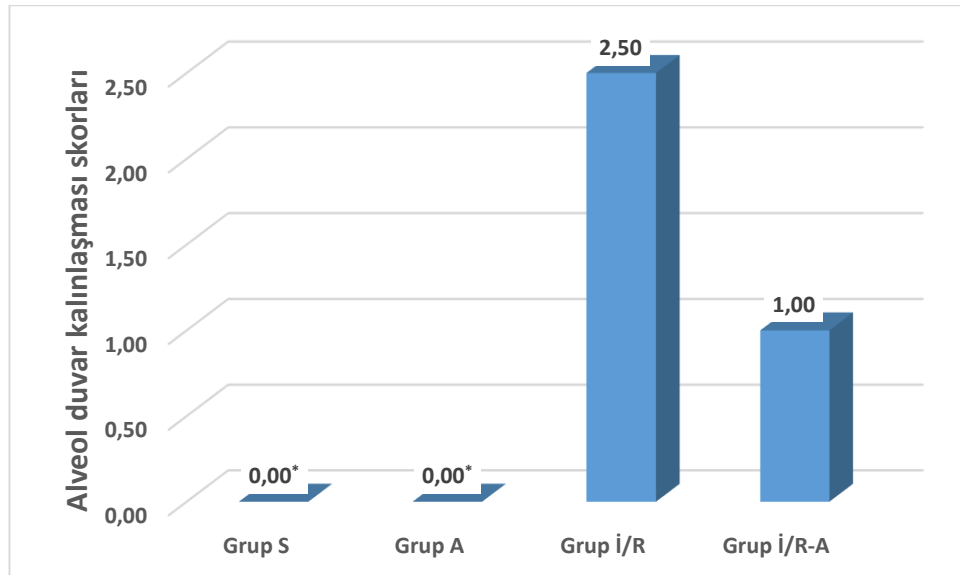
\*p<0,05; Grup S ile karşılaştırıldığında

Gruplara ait akciğer dokusu alveol duvar kalınlaşması skorları Tablo 7’de verilmiştir. Grup İ/R’de alveol duvar kalınlaşması skoru Grup S ve Grup A’ya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,001$ ,  $0,001$ , sırasıyla). Grup A ve Grup S’de ise sonuçlar benzerdi ( $p>0,05$ ). Grup İ/R-A’da ise Grup İ/R’den düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ )

**Tablo 7. Alveol Duvar Kalınlaşması Skorları [Medyan  $\pm$  IQR (en az – en çok)]**

	Grup S (n=6)	Grup A (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup İ/R-A (n=6)	p
<b>Alveol duvar kalınlaşması</b>	0,00 $\pm$ 1,00* (0-1)	0,00 $\pm$ 1,00* (0-1)	2,50 $\pm$ 1,00 (1-3)	1,00 $\pm$ 1,00 (1-2)	<b>0,001</b>

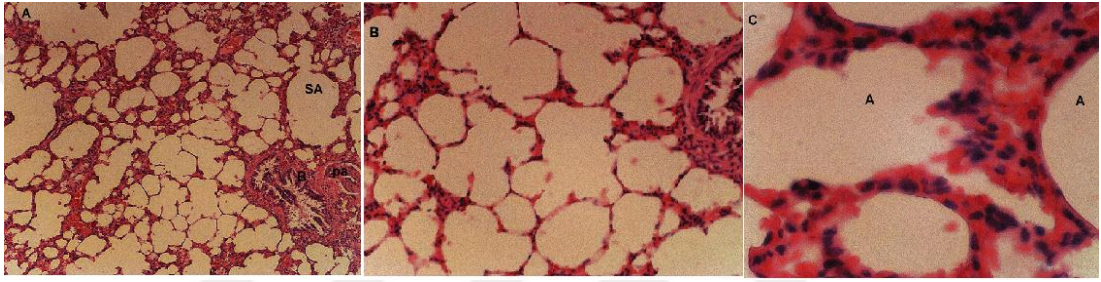
\* $p<0,05$ ; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



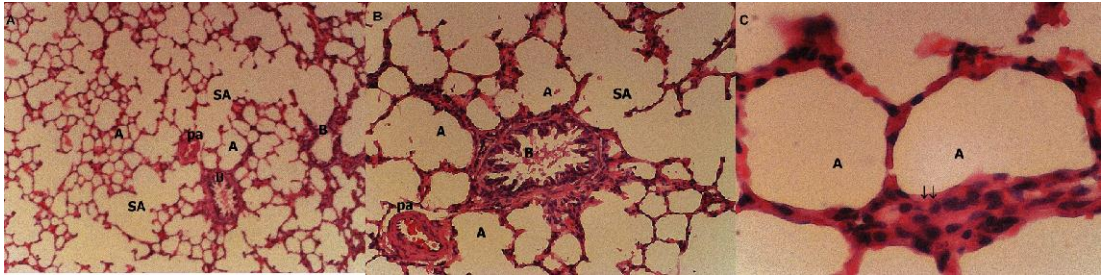
**Şekil 9. Alveol Duvar Kalınlaşması Skorları**

\* $p<0,05$ ; Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

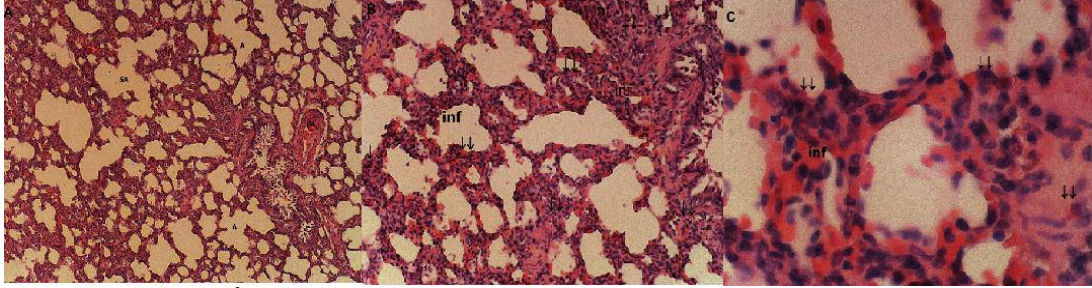
Gruplarda elde edilen akciğer doku preparatlarının yapılan histopatolojik incelemesi Resim 9, 10, 11, 12’de verildi. Grup S’de normal akciğer doku parankimleri gözlemlendi (Resim 9). Grup A’da akciğer dokusunda nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 10). Grup İ/R’de yoğun nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında ciddi artış gözlemlendi (Resim 11). Grup İ/R-A’da hafif kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında hafif artış gözlemlendi (Resim 12).



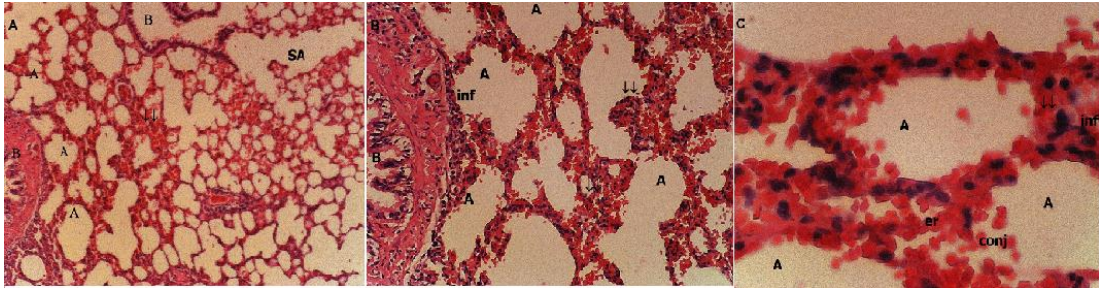
**Resim 9. Grup S’de normal akciğer dokusu parankimi, hematoxilen-eozin; A-X40; B-X100; C-X400.**



**Resim 10. Grup A’da akciğer dokusunda nötrofil infiltrasyonu, hematoxilen-eozin, A-X40; B-X100; C-X400.**



**Resim 11. Grup İ/R’de yoğun nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında ciddi artış, hematoxilen-eozin, A-X40; B-X100; C-X400.**



**Resim 12. Grup İ/R-A’da hafif kapiller konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve alveol duvar kalınlığında hafif artış, hematoxilen-eozin, A-X40; B-X100; C-X400.**

## 5. TARTIŞMA

Akut alt ekstremite İ/R hasarı özellikle aort cerrahisinde aortaya geçici olarak klemp konulmasıyla ve tek veya çift taraflı akut femoral arter tıkanıklıklarında oluşmaktadır. İ/R sonrası; hem iskemik alanda lokal hasar oluşabilmekte, hem de iskemik alan dışındaki bölgelerde yani uzak organlarda hasar oluşabilmektedir. Uzak organ hasarında akciğer hedef organ durumunda olup klinik olarak büyük önem taşımaktadır (Fantini and Conte 1995). Bu nedenle, biz de bu çalışmamızda ratlarda infrarenal aortayı klempleyerek alt ekstremite İ/R modeli oluşturduk ve İ/R'nin akciğer dokusu üzerindeki etkilerini araştırdık.

Akciğer hasarına sebep olan durumlar akciğerden uzak bir alanda başlar. İ/R hasarının temelinde reperfüzyon sırasında dokunun oksijenizasyonu sonucu meydana gelen oksijen radikalleri yatmaktadır (Prem et al. 1999). Reaktif oksijen radikalleri birçok kaynaktan salınabilirken bunların arasında en önemlisi aktive olmuş nötrofillerdir (Pararajasingam et al. 1999, Cavanagh et al. 1998). Reperfüzyon süreci, iskemik alanda oluşan SR'lerin sistemik dolaşıma karışmasına neden olur. Bunlar da ya direkt olarak hasarı başlatır ya da indirekt olarak nötrofillerin aktivasyonu ve sitokinlerin üretimi için bir uyarıcı etki oluşturur. Bu mediatörlerin çoğu nötrofil-endotel etkileşimini sağlayarak nötrofillerin dokulara migrasyonuna neden olmakta ve göç eden nötrofiller degranüle olarak dokuya hasar vermektedir (Pararajasingam et al. 1999, Carden et al. 1998, Windsor et al. 1993). Degranülasyon sonrasında artan SOR'ler ile proteazlar, akciğer endotel hasarına ve buna bağlı olarak artmış pulmoner kapiller permeabiliteye sebep olurlar (Bengisun ve ark. 1997).

İskemi/reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan SOR'lerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için SOD, allopürinol, CAT, mannitol, vitamin C, pravastatin, alfa tokoferol, L-karnitin, pentoksifilin gibi çeşitli maddeler tedavide kullanılmış ve etkili oldukları gösterilmiştir. Bu antioksidan maddelerin ya pulmoner mikrovasküler permeabilite artışı ve nötrofil akümüülasyonunu önleyerek ya da antioksidan sistemi aktive etmek suretiyle, İ/R sonrasında ortaya çıkan uzak doku-organ hasarına karşı koruyucu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (Joyce et al. 2001).

Antioksidan enzim grubu olan oksidoredüktazlar, en önemli serbest radikal temizleyici sistemlerden birini temsil eder ve antioksidan işlev ötesinde bir hücre koruyucu rol oynar. CAT da bu antioksidan enzimlerden biridir. Vücutta doğal olarak oluşan bir metalloproteindir ve in vivo olarak SOD ile kombine bir şekilde etki eder. CAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yıkımını katalize eder. Bu enzimin yüksek kan düzeyleri antioksidan etkinliği gösterir. Deneysel çalışmaların birçoğunda, İ/R hasarında doku ve serum örneklerinde, CAT aktivite düzeylerinin kontrol gruplarına göre azalmış olduğunu göstermişler ve bu azalışın oksidan mekanizmaların baskın oluşundan kaynaklandığını düşünmüşlerdir (Atahan ve ark. 2010, Xiao et al. 2017). Bir rat alt ekstremitte İ/R hasarı model çalışmasında, İ/R grubunda gastrokinemius kası CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu, İ/R ile birlikte naringin uyguladıkları grupta gastrokinemius kası CAT aktivitesinin İ/R grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir (Atahan ve ark. 2010). Xiao ve arkadaşları, ratlardan elde ettikleri hippokampal kesitlerde kortikosteronla indüklenen CA3-CA1 yolağının anormal glutamaterjik sinaptik iletimine amantadinin nöroprotektif etkisini araştırdıkları deneysel çalışmada, kortikosteron verilen grupta CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu, kortikosteronla oksidatif stres oluşturulduktan sonra amantadin verilen grupta CAT aktivitesinin kortikosteron verilen gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir (Xiao et al. 2017).

Bazı çalışmalarda ise, İ/R hasarında doku ve serum örneklerinde, CAT aktivite düzeylerinin kontrol gruplarına göre artmış olduğunu göstermişler ve bu artışın yükselmiş SOD aktivitesi ile oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin elimine edilmeye çalışılmasından kaynaklandığını savunmuşlardır (Kiriş ve ark. 2005, Kapan ve ark. 2009). Kapan ve arkadaşları, rat alt ekstremitte İ/R hasarı modelinde, İ/R grubunda akciğer dokusu CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, eritropoietin verdiklerinde CAT aktivitesinin İ/R grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir (Kapan ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda ise, İ/R grubunda CAT düzeyi kontrol grubuna göre düşüktü. Bununla birlikte, amantadin vererek İ/R yaptığımız grubun CAT düzeyi de İ/R grubuna göre daha düşüktü fakat CAT düzeyleri açısından tüm gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü.



Glutasyon S-transferaz dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize ederler. GSH, hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki en önemli antioksidan bileşiktir (Reiter et al. 1995). Proteinlerdeki (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. İ/R hasarında GST'nin azaldığı birçok hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Shorouk ve arkadaşları, ratlarda intestinal İ/R hasarı oluşturarak karaciğer dokusu hasarını inceledikleri bir çalışmada, İ/R grubunda GST aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, İ/R ile birlikte mangiferin verdikleri grupta GST aktivitesinin İ/R grubuna göre yüksek olduğunu bulmuşlardır (Shorouk et al. 2017). Benzer şekilde, Gökalp ve arkadaşları, ratlarda over İ/R hasarı oluşturarak yaptıkları bir çalışmada, İ/R grubunda over dokusu GST aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, İ/R ile birlikte hidrojenden zengin salin solüsyonu uyguladıkları grupta over dokusu GST aktivitesinin İ/R grubuna göre yüksek olduğunu göstermiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (Gökalp ve ark. 2016). Biz de çalışmamızda, İ/R sonrasında akciğer dokusu GST aktivitesinin azaldığını, amantadin uyguladığımızda İ/R sonrasında GST aktivitesinin arttığını gözlemledik. GST aktivitesindeki bu artış bize amantadinin İ/R'de koruyucu etkilerinin olabileceğini düşündürdü. Fakat gruplar arasında GST düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinde antioksidan enzimler önemli rol oynar. Bu enzimlerden biri olan SOD, antioksidan etkisini süperoksitin hidrojen peroksite dönüşümünü katalizleyerek gösterir. Yapılan deneysel çalışmaların birçoğunda, İ/R hasarında doku ve serum örneklerinde, SOD aktivite düzeylerinin kontrol gruplarına göre azalmış olduğunu göstermişler ve bu azalışın oksidan mekanizmaların baskın halde olmasından kaynaklandığını savunmuşlardır (Çavdar ve ark. 2017, Xia et al. 2017, Zhang et al. 2017). Çavdar ve arkadaşları, ratlarda renal İ/R hasarı oluşturarak yaptıkları deneysel çalışmada, İ/R grubunda renal doku SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, İ/R ile birlikte taurin uygulanan grupta İ/R grubuna göre SOD aktivitesinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (Çavdar

ve ark. 2017). Xia ve arkadaşları, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı modeli oluşturmuşlar, İ/R grubunda plazma SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, İ/R ile birlikte lipid emülsiyon uyguladıkları grupta İ/R grubuna göre SOD aktivitesinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (Xia et al. 2017). Zhang ve arkadaşları, ratlarda renal İ/R hasarı oluşturarak simvastatinin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, İ/R grubunda renal doku SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, İ/R ile birlikte simvastatin verdikleri grupta renal doku SOD aktivitesinin İ/R grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir (Zhang et al. 2017).

Bazı çalışmalarda ise, İ/R hasarında doku ve serum örneklerinde, SOD aktivite düzeylerinin kontrol gruplarına göre artmış olduğunu göstermişler ve bu artışın oksidatif stres durumundaki stresi bastırabilmek için bir cevap olduğunu savunmuşlardır (Kirişçi ve ark. 2013, Kapan ve ark. 2009). Kapan ve arkadaşları, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı modelinde, İ/R grubunda akciğer dokusu SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu, İ/R ile birlikte eritropoietin verdikleri grupta SOD aktivitesinin İ/R grubuna göre düşük olduğunu göstermişlerdir (Kapan ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda da Kapan ve arkadaşlarının çalışmasındaki bulgulara benzer olarak, İ/R sonrasında akciğer dokusu SOD aktivitesinin artış gösterdiğini ve amantadin uyguladığımızda İ/R sonrasında akciğer dokusu SOD aktivitesinde azalma olduğunu gözlemledik. Amantadinin neden olduğu SOD aktivitesindeki azalma ile İ/R sonrası artan oksidatif stresin azaltılmaya çalışıldığını düşünüyoruz.

İskemi/reperfüzyonda oluşan SOR'ler yüksek aktiviteleri nedeniyle membranlardaki lipidlere saldırarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Bu SOR'ler; membran lipidlerini, hücrel proteinleri ve DNA'yı okside ederek hücrel hasara neden olurlar. MDA lipid peroksidasyon son ürünüdür ve SOR'lerin aracılık ettiği lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilir (Gutteridge 1995). Plazma ve doku MDA düzeyleri artmış sistemik oksidatif stresin iyi bir göstergesidir. Biz de çalışmamızda, lipid peroksidasyon düzeyini tayin etmede akciğer dokusunda MDA düzeylerini araştırdık.



Literatürde İ/R hasarı ile ilgili yapılmış çalışmalarda, İ/R hasarı sonrasında MDA seviyelerinin yükseldiği ve antioksidan ajan uygulaması ile de MDA seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (Uysal ve ark. 2006, Alaçam ve ark. 2010, Önem ve ark. 2012, Kapan ve ark. 2009). Tavşanlarda alt ekstremitte İ/R hasarı oluşturularak yapılan bir çalışmada, İ/R uygulanan gruplarda, kontrol grubuna göre akciğer dokusunda MDA seviyelerinin yükseldiğini göstermişlerdir. Bununla birlikte reperfüzyondan hemen önce melatonin uygulamasının İ/R hasarının kan ve akciğer üzerindeki hasar oluşturucu etkilerini azalttığını fakat iskemiden önce uygulanan melatoninin bu hasarı azaltmada etkisiz kaldığını göstermişlerdir (Uysal ve ark. 2006). Alaçam ve arkadaşları, ratlarda oluşturdukları alt ekstremitte İ/R hasarı modelinde İ/R grubunda akciğer dokusu MDA seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu; İ/R'de karnozin verdikleri grupta MDA seviyesinin azalmış olduğunu göstermişlerdir (Alaçam ve ark. 2010). Benzer şekilde bir başka çalışmada, İ/R grubunda akciğer dokusu MDA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişler, İ/R ile birlikte silostazol, levosimendan ve bu iki ilacın kombinasyonlarını uyguladıklarında İ/R grubuna göre bu gruplarda akciğer dokusu MDA seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğunu saptamışlardır (Önem ve ark. 2012). Kapan ve arkadaşları da, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı oluşturmuşlar ve İ/R grubunda akciğer dokusu MDA seviyesini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. İ/R ile birlikte eritropoietin verdikleri grupta akciğer dokusu MDA seviyesinin İ/R grubuna göre düşük olduğunu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (Kapan ve ark. 2009). Tüm bu çalışmalara benzer şekilde, çalışmamızda biz de, İ/R'den sonra akciğer dokusu MDA düzeylerinde kontrol düzeyine göre artış olduğunu gözlemledik. Ayrıca İ/R-A grubunda İ/R grubuna göre MDA düzeylerinde azalma olduğunu da saptadık. MDA düzeyindeki bu azalma bize amantadinin İ/R'de koruyucu etkilerinin olabileceğini düşündürdü. Fakat bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi.

NMDA antagonistlerinin, çeşitli organ ve dokularda İ/R hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiş ve bu ajanların antioksidan aktiviteyi arttırdığı, oksidan etkiyi azalttığı gösterilmiştir (Camara-Lemarroy et al. 2009, Özdemir ve ark. 2013, Özsüer ve ark. 2005). Bu çalışmalardan birinde, rat intestinal İ/R hasarı modelinde, İ/R sonrasında artan serum MDA seviyesinin NMDA antagonistleri olan ketamin ve

memantin uygulaması ile azaldığını ve özellikle de ketamin ile bu etkinin daha da belirgin olduğunu bildirmişlerdir (Camara-Lemarrooy et al. 2009). Ratlarda serebral İ/R hasarı modeli oluşturulan bir başka çalışmada, İ/R grubunda total oksidan status (TOS) değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, İ/R ile birlikte memantin verilen grupta TOS değerinin İ/R grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir (Özdemir ve ark. 2013). Ratlarda kapalı kafa travması oluşturulan bir diğer çalışmada, kafa travmasında beyin dokusu MDA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, kafa travması ile birlikte memantin verilen grupta beyin dokusu MDA seviyesinin kafa travması oluşturulan gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (Özsüer ve ark. 2005).

Literatürde amantadinin İ/R hasarı üzerindeki etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlamadık. Ancak; amantadinin nöroprotektif etki mekanizması ile ilgili olarak ratlardan elde edilen hippocampal kesitlerde kortikosteron ile indüklenen CA3-CA1 yolağının anormal glutamaterjik sinaptik iletiminde amantadinin oksidatif stresi azalttığı ve bunu antioksidan özellikteki SOD ve CAT aktivitelerini düzenleyerek oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca yazarlar, amantadinin bu etkiyi hücre içine  $Ca^{+2}$  girişini azaltarak ve apoptozisi önleyerek yaptığını öne sürmüşlerdir (Xiao et al. 2017). Biz de, amantadinin bir NMDA antagonisti olması sebebiyle İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olabileceğini düşünerek bu çalışmayı planladık.

Alt ekstermite İ/R'si sonrasında iskelet kasında oluşan lokal hasara bağlı olarak kas dokusundan kan dolaşımına geçen inflamatuvar mediatörler uzak organ hasarına neden olurlar. Uzak organ hasarı olarak nitelendirilen bu durumdan en çok etkilenen organlar akciğer ve böbreklerdir. Bunların yanı sıra karaciğer, kalp ve beyin gibi organların da etkilenmesiyle multiorgan yetmezliği tablosu meydana gelebilir (Homer-Vanniasinkam et al. 1997, Klausner et al. 1988). Alt ekstremitte İ/R hasarı sonrasında meydana gelen akciğer hasarının temelinde, iskemik doku tarafından uyarılmış inflamatuvar mediatörler ile aktive edilmiş nötrofillerin kan dolaşımı yoluyla akciğere geçip pulmoner yatakta birikimi şeklinde oluşan nötrofil sekestrasyonu önemli rol oynar (Klausner et al. 1988). Akciğerlerde meydana gelen hasar histopatolojik olarak, alveol duvar kalınlaşması, nötrofil ve lenfositlerin infiltrasyonu, interstisyel ödem olarak kendini göstermektedir (Önem ve ark. 2011).

Literatürde ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarına bağlı akciğer dokusunda oluşan patolojik değişikliklerin incelendiği birçok deneysel çalışma vardır (Önem ve ark. 2011, Akahane et al. 2017, Küçükebe ve ark. 2015, Kapan ve ark. 2009). Önem ve arkadaşları, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı oluşturarak yaptıkları deneysel çalışmada, İ/R grubunda akciğer dokusu hasar skorunun (inflamatuvar hücre infiltrasyonu, intersitisyel ödem ve alveol duvar kalınlaşması) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, İ/R ile birlikte cilostazol, levosimendan ve bu iki ilacın kombinasyonlarını verdikleri gruplarda akciğer dokusu hasar skorunun İ/R grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir (Önem ve ark. 2011). Bir diğer çalışmada, İ/R grubunda akciğer dokusu hasar skorunun kontrol grubuna göre yüksek olduğu, İ/R ile birlikte allopurinol verdikleri grupta akciğer dokusu hasar skorunun İ/R grubuna göre düşük olduğu gösterilmiştir. Yine aynı şekilde akciğer dokusu nötrofil infiltrasyon derecesi İ/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek ve İ/R+allopurinol grubunda İ/R grubuna göre düşük bulunduğu bildirilmiştir (Akahane et al. 2017). Küçükebe ve arkadaşları, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı oluşturarak dexmedetomidinin akciğer hasarına etkisini araştırdıkları bir çalışmada, İ/R grubunda akciğer dokusu hasar skorunun kontrol grubuna göre yüksek olduğunu, İ/R ile birlikte dexmedetomidinin farklı dozlarını (50 mg/kg, 100 mg/kg) verdikleri gruplarda akciğer dokusu hasar skorunun İ/R grubuna göre düşük olduğunu göstermişlerdir (Küçükebe ve ark. 2015). Kapan ve arkadaşları, ratlarda alt ekstremitte İ/R hasarı yaparak akciğer dokusundaki değişikliklere eritropoietinin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, İ/R grubunda akciğer dokusu hasar skorunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, İ/R ile birlikte eritropoietinin uyguladıkları grupta akciğer dokusu hasar skorunun İ/R grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir (Kapan ve ark. 2009).

NMDA antagonistlerinin çeşitli şekillerde literatürde akciğer hasarına yönelik koruyucu etkileri gösterilmiştir (Yang et al. 2011, Wang et al. 2007) NMDA antagonisti olan amantadin ile ilgili literatürde böyle bir çalışmaya rastlamadık. Yang ve arkadaşları, endotoksemik ratlarda ventilatör ilişkili akciğer hasarına dexmedetomidin-ketamin kombinasyonunun etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, dexmedetomidin-ketamin kombinasyonunun ventilatör ilişkili akciğer hasarında koruyucu etkilere sahip olduğunu ve inflamasyon derecesini düşürdüğünü

göstermişlerdir (Yang et al. 2011). Wang ve arkadaşları, ratlarda lipopolisakkaritle indüklenmiş akut akciğer hasarına ketaminin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, ketaminin akciğer dokusu hasarında nötrofil infiltrasyonu azaltarak, bronkoalveoler lavaj sıvısında protein içeriğini azaltarak koruyucu etki ettiğini göstermişlerdir (Wang et al. 2007). Ketamin bu etkilerini TNF- $\alpha$ , IL-8 ve NO üretimlerini inhibe ederek ve NF-kappaB protein sentezini azaltarak göstermektedir. Bizim çalışmamızda da, İ/R sonrasında nötrofil/lenfosit skoru ve alveol duvar kalınlaşması anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da amantadin uygulaması ile İ/R hasarına bağlı oluşan alveol duvar kalınlaşmasında azama olduğunu gördük.



## 6. SONUÇ

Sonuç olarak; bir NMDA antagonisti ve nöroprotektif etkileri gösterilmiş olan amantadinin; akciğer dokusu CAT, GST, SOD, MDA düzeylerine ve İ/R hasarına bağlı akciğer dokusu hasarına olan etkileri göz önüne alınarak, diğer NMDA antagonisti ajanların etkisine benzer olarak İ/R hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmada, denek sayısının azlığından dolayı akciğer dokusu biyokimyasal değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamasak da akciğer dokusunun histopatolojik olarak İ/R hasarından etkilenmiş olduğunu ve bu hasarın amantadin kullanımıyla geri döndürülebildiğini gözlemledik. Amantadinle ilgili İ/R hasarına bağlı uzak organ hasarı çalışmalarının sayısı yetersiz olup bu konuyla ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

Acworth IN, Bailey B. (1997). Reactive Oxygen Species. In: The handbook of oxidative metabolism. Massachusetts: ESA Inc. p. 1-1 to 4-4

Akahane HGK, Gomes RZ, Paludo KS, Linhares F, Lopes L. (2017). The influence of allopurinol and post-conditioning on lung injuries induced by lower limb ischemia and reperfusion in Wistar rats. *Acta Cir. Bras.* 32(9): 746-754

Alaçam B, Ek RO, Yıldız Y, Serter M, Boylu NT, Temoçin S. (2010). Abdominal aorta iskemi-reperfüzyonuna bağlı gelişen akciğer hasarında karnozinin etkisi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 11(3) : 41 - 47

Alizan A, Khalil C, Farah A, John C. (2006). Reperfusion injury. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117: 1024-1033.

Amantadin Stadavr. (Amantadinhydrochlorid) Bad. (2006). Vilbel, Germany: Stadapharm GmbH.

Atahan E, Ergun Y, Kurutas EB, Alici T. (2010). Protective effect of zinc aspartate on long-term ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle. *Biological Trace Element Research*, 137: 206-215.

Arasa O, Dilsizian V. (2007). Targeting ischemic memory. *Current Opinion in Biotechnology*, 18: 46-51. 86

Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. (2004). The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 21: 401-409.

Aruoma OI, Kaur H, Halliwell B. (1991). Oxygen free radicals and human diseases. *Journal of the Royal Society of Health*, 111: 172-177.

Bengisun J, Koksoy C, Bengisun JS, Bayraktaroglu G, Camur A, Aras N. (1997). Ischemia and reperfusion injury: prevention of pulmonary hypertension and leukosequestration following lower limb ischemia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 56: 117-20.

Blaisdell FW. (2002). The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovascular Surgery*, 10: 620-630.

Buerke M, Murohara T, Lefer AM. (1995). Cardioprotective effects of a C1 esterase inhibitor in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*, 91: 393-402.

Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Fernández-Garza NE. (2009) The effects of NMDA receptor antagonists over intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *European Journal of Pharmacology* 621: 78–85

Carden DL, Granger DN. (2000). Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 190: 255–66.

Carden D, Xiao F, Moak C, Willis BH, Robinson-Jackson S, Alexander S. (1998). Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. *Am J Physiol.* 275: H385-92.

Cavanagh SP, Gough MJ, Homer-Vanniasinkam S. (1998). The role of the neutrophil in ischaemia-reperfusion injury: potential therapeutic interventions. *Cardiovasc Surg.* 6: 112-8

Cavdar Z, Ural C, Celik A, Arslan S, Terzioglu G, Ozbal S, Yildiz S, Ergur UB, Guneli E, Camsari T & Akdogan G. (2017). Protective effects of taurine against renal ischemia/reperfusion injury in rats by inhibition of gelatinases, MMP-2 and MMP-9, and p38 mitogenactivated protein kinase signaling. *Biotechnic & Histochemistry Early Online*: 1–12

Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research*, 681: 51-67.

Chatterjee PK. (2007). Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 376: 1-43.

Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. (2008). Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem.* 15: 1236-1248.

Chiaradia E, Avellini L, Rueca F, Spaterna A, Porciello F, Antonioni MT, Gaiti A. (1998). Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 119: 833-836.

Cochrane CG. (1991). Cellular injury by oxidants. *American Journal of Medicine*, 91: 23-30.

Collard CD, Gelman S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 94: 1133-1138.

Cornelli U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27: 175-194.

Crosby NJ, Deane KH, Clarke CE. (2003). Amantadine for dyskinesia in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* (2): CD003467

Dammers R, Wehrens XH, oude Egbrink MG, Slaaf DW, Kurvers HA, Ramsay G. (2001). Microcirculatory effects of experimental acute limb ischaemia-reperfusion. *British Journal of Surgery*, 88: 816-824.

Danysz W, Parsons CG, Kornhuber J, Schmidt WJ, Quack G. (1997). Aminoadamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents--preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 21(4): 455-468

Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. (1995). Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Experimental Nephrology*, 3: 348-354.

Domino EF, Chodoff P, Corssen G. (1965). Pharmacologic effects of Ci-581, a new dissociative anesthetic, in man. *Clin Pharmacol Ther.* 6:279-91. Epub 1965/05/01.



Duman RS, Li N, Liu RJ, Duric V, Aghajanian G. (2012). Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine. *Neuropharmacology* 62(1): 35e41.

Duru S, Koca U, Oztekin S, Olguner C, Kar A, Coker C, Ulukus C, Tascl C, Elar Z. (2005). Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung and skeletal muscle tissues in the rat model of bilateral lower limb ischemia and reperfusion: a pilot study. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 49: 1142-1148.

Eltzschig HK, Collard CD. (2004). Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 70: 71-86.

Ergün Y, Üremiş M, Kılınc M, Alici T. (2016). Antioxidant effect of Legalon SIL in ischemia/reperfusion injury of rat skeletal muscle. *Acta Cirúrgica Brasileira – Vol.* 31 (4)

Erkanli K, Kayalar N, Erkanli G, Ercan F, Sener G, Kirali K. (2005). Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *J Pineal Res.* 39: 238-242.

Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. (1998). Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 18: 667-682.

Fantini GA, Conte MS. (1995). Pulmonary failure following lower torso ischemia: clinical evidence for a remote effect of reperfusion injury. *Am J Surg.* 61: 316-9.

Farnebo LO, Fuxe K, Goldstein M, Hamberger B, Ungerstedt U. (1971). Dopamine and noradrenaline releasing action of amantadine in the central and peripheral nervous system: a possible mode of action in Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol.* 16(1): 27-38

Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY. (2011). The Movement Disorder Society evidence-based medicine review update: treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 26 (suppl 3): S2-S41

Frangogiannis NG. (2007). Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 97: 738-747.

García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. (2008). Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 48:109-114.

Giacco R, Clemente G, Cipriano D, Luongo D, Viscovo D, Patti L, Di Marino L, Giacco A, Naviglio D, Bianchi MA, Ciati R, Brighenti F, Rivellese AA, Riccardi G. (2010). Effects of the regular consumption of wholemeal wheat foods on cardiovascular risk factors in healthy people. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 20: 186-194.

Girotti AW. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39: 1529-1542.

Gökalp N, Başaklar AC, Sönmez K, Türkyılmaz Z, Karabulut R, Poyraz A, Gülbahar Ö. (2017). Protective effect of hydrogen rich saline solution on experimental ovarian ischemia reperfusion model in rats. *Journal of Pediatric Surgery* 52: 492–497

Grace PA. (1994). Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*, 81: 637-647.

Granger DN, Rutili G, McCord JM. (1981). Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 81: 22-29.

Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. (1989). The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun*, 7: 255-64.

Gul M, Kutay FZ, Temocin S, Hanninen O. (2000). Cellular and clinical implications of glutathione. *Indian The Journal of Experimental Biology*, 38: 625-634.

Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. (1998). Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 179: 169-187.

Gutteridge JM. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41: 1819-28.

Gülçin İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86: 345-391.

Gülçin İ, Oktay M, Köksal E, Şerbetçi H, Beydemir S, Küfrevioğlu Öİ. (2008). Antioxidant and radical scavenging activities of uric acid. *Asian Journal Chemistry*, 20: 2079-2090.

Güçin İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Science*, 78: 803-811.

Gülçin İ, Oktay M, Kirecci E, Küfrevioğlu Öİ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemical*, 83: 371-382.

Güven A, Erginsoy S, Kaya N. (2003). Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9: 131-136.

Halliwell B, Chirico S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57: 715-724.

Hassimotto NMA, Pinto MDS, Lajolo FM. (2008). Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 11727–11733.

He GZ, Dong LG, Chen XF, Zhou KG, Shu H. (2011). Lymphduct ligation during ischemia/reperfusion prevents pulmonary dysfunction in a rat model with omega-3 polyunsaturated fatty acid and glutamine. *Nutrition* 27: 604–14.

Hirota K. (2006) Special cases: ketamine, nitrous oxide and xenon. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 20(1): 69-79.

Hirsch J, Niemann CU, Hansen KC, Choi SJN, Su X, Frank JA. (2008). Alterations in the proteome of pulmonary alveolar type II cells in the rat after hepatic ischemia-reperfusion. *Crit Care Med*. 36: 1846–54.

Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. (1997). Post-ischæmic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 14: 195-203.

Hubsher G, Haider M, Okun MS. (2012) Amantadine: the journey from fighting flu to treating Parkinson disease. *Neurology* 78(14): 1096-1099

Jennings RB, Reimer KA. (1991). The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 42: 225-246

Joyce M, Kelly CJ, Chen G, Bouchier-Hayes DJ. (2001). Pravastatin attenuates lower torso ischaemia-reperfusion-induced lung injury by upregulating constitutive endothelial nitric oxide synthase. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 21: 295-300.

Kaçmaz A, User EY, Sehirli AO, Tilki M, Ozkan S, Sener G. (2005). Protective effect of melatonin against ischemia/reperfusion-induced oxidative remote organ injury in the rat. *Surg Today* 35: 744-750.

Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F. (2004). Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 202: 227-235.

Kapan Ş, Kiriş İ, Kılbaş A, Altuntaş İ, Karahan N, Okutan H. (2009) The effect of erythropoietin on lung injury in rat aortic ischemia-reperfusion. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 17(2): 110-116

Kapoor VK, Dureja J, Chadha R. (2009). Herbals in the control of ageing. *Drug Discovery Today*, 14: 992-998.

Karihtala P, Soini Y. (2007). Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 115: 81-103.

Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. (1998). *Veteriner Hekimliginde Toksikoloji*. Ankara, 1.Baskı. Medisan Yayın Serisi, 272-355.

Kiriş İ, Okutan H, Savaş Ç, Yönden Z, Delibaş N. (2005). Deneysel aortik iskemi-reperfüzyon modelinde renal hasara gadolinyum klorürün etkisi. *Damar Cerrahisi Dergisi*, 14: 13-8.

Kirişçi M, Oktar GL, Özoğul C, Oyar EO, Akyol SN, Demirtaş CY, Arslan M. (2013). Effects of adrenomedullin and vascular endothelial growth factor on ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle in rats. *Journal of Surgical Research* 185: 56-63.

Korthuis RJ, Granger DN. (1993). Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol.* 16(4 Suppl 1): I19-26.

Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN. (1988). Leukocyte depletion attenuates vascular injury in postischemic skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 254: 823-827.

Köksal C, Bozkurt AK, Üstündağ N, Konukoğlu D, Müsellim B, Şirin G. (2006). Attenuation of acute lung injury following lower limb ischemia/reperfusion; the pharmacological approach. *J Cardiovasc Surg.* 47: 445-9

Kumar V, Cotran R, Robbins SL. (2000). *Basic Pathology*. In: Wi B. (ed). 6 th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 10, 30-36.

Küçüköbe ÖB, Özzeybek D, Abdullayev R, Ustaoglu A, Tekmen I, Küme T. (2017). Effect of dexmedetomidin on acute lung injury in experimental ischemia-reperfusion model. *Rev Bras Anesthesiol.* 67(2): 139-146

Laudat A, Foucault P, Palluel AM. (1997). Relationship between seminal LDH-C4 and spermatozoa with acrosome anomalies. *Clinica Chimica Acta*, 265: 219-224.

Link C, Hawlisch H, Meyer zu Vilsendorf A, Gyleruz S, Nagel E, Kohl J. (1999). Selection of phage-displayed anti-guinea pig C5 or C5a antibodies and their application in xenotransplantation. *Molecular Immunology*, 36: 1235-1247.

Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. (1996). Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J SurgRes* 61: 469-472.

MacDonald JF, Miljkovic Z, Pennefather P. (1987). Use-dependent block of excitatory amino acid currents in cultured neurons by ketamine. *J Neurophysiol.* 58(2): 251-66. Epub 1987/08/01.

Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16: 577-586.

Mates JM. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83-104.

Meister A, Anderson ME. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52: 711-760.

Metman LV, Del Dotto P, LePoole K, Konitsiotis S, Fang J, Chase TN. (1999). Amantadine for levodopa-induced dyskinesias: a 1-year follow-up study. *Arch Neurol*. 56(11): 1383-1386

Mickle DA, Weisel RD. (1993). Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol*. 9: 89-93.

Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. (2001). Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 15: 293-306.

Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. (2000). *Harper's Biochemistry*. In: 25.th ed. Appleton and Lange Publications.

Niki E. (1987). Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 227-253.

Okutan H, Savaş C, Özgüner İF, Yönden Z, Eren VC, Delibaş N.(2004). Lung injury after aortic occlusion/reperfusion in rats; the role of gadolinium chloride. *Tohoku J Exp. Med*. 203: 267-73

Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. (1992). Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol*, 32 Suppl: S33

Ory-Magne F, Corvol JC, Azulay JP. (2014). Withdrawing amantadine in dyskinetic patients with Parkinson disease: the AMANDYSK trial. *Neurology* 82(4): 300-307

Önem G, Saçar M, Aybek H, Kocamaz E, Adalı F, Saçkan KG, Baltalarlı A, (2012). Alt ekstremite iskemi reperfüzyonuna bağlı akciğer hasarında silostazol ve levosimendanın koruyucu etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 20(3): 577-583

Özcan O, Erdal H, Yönden Z. (2015). İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış. *Mustafa Kemal Üniv. Tıp Derg.* 6(23): 27-33

Özdemir HH, Demir CF, Berilgen MS, Akgün B, Kuloğlu T, Kapan O, İlhan S, Balduz M. (2013). Protective Effects of Memantine Induced by Cerebral Ischemia and Reperfusion Injury in Rats. *Turkish Journal of Neurology* 19: 3

Özsüer H, Görgülü A, Kırış T, Çobanoğlu S. (2005). The effects of memantine on lipid peroxidation following closed-head trauma in rats. *Neurosurg Rev.* 28: 143–147

Pahwa R, Factor SA, Lyons KE. (2006). Practice Parameter: treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 66(7): 983-995

Pararajasingam R, Nicholson ML, Bell PR, Sayers RD. (1999). Noncardiogenic pulmonary oedema in vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 17: 93-105.

Pahwa R, Factor SA, Lyons KE. (2006). Practice Parameter: treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 66(7): 983-995

Parks DA, Williams TK, Beckman JS. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 254 (5 Pt 1): G768-74.

Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, Salvatore S, Serafini M, Brighenti F. (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2: 12-22.

Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. (2009). Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg.* 22: 46-55.

Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. (1990). Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16: 259-264.

Porter NA. (1984). Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymology*, 105: 273-282.

Prem JT, Eppinger M, Lemmon G, Miller S, Nolan D, Peoples J. (1999). The role of glutamine in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in the rat hind limb model. *Am J Surg.* 178: 147-50.

Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113: 189-207.

Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuna-Castroviejo D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research*, 18: 1-11.

Reiter RJ. (1995). Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*, 9: 526-533.

Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter RJ. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36: 1-9.

Ross D. (1988). Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Mechanisms of free-radical induced toxicity and glutathione-dependent protection. *Pharmacology and Therapeutics*, 37: 231-249.

Schlag MG, Harris KA, Potter RF. (2001). Role of leukocyte accumulation and oxygen radicals in ischemia-reperfusion-induced injury in skeletal muscle. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 280: 1716-1721.



- Schoenberg MH, Beger HG. (1993). Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Critical Care Medicine*, 21: 1376-1386.
- Schwab RS, England AC Jr, Poskanzer DC, Young RR. (1969). Amantadine in the treatment of Parkinson's disease. *JAMA* 208(7): 1168-1170
- Sen CK. (1999). Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 196: 31-42.
- Sener G, Sakarcan A, Yegen BC. (2007). Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury. *Mol Nutr Food Res*. 51: 1345-1352.
- Shorouk M, El-Sayyada, Ayman A, Soubhb, Azza S, Awad, Hanan S, El-Abhar (2017). Mangiferin protects against intestinal ischemia/reperfusion-induced liver injury: Involvement of PPAR- $\gamma$ , GSK-3 $\beta$  and Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *European Journal of Pharmacology* 809; 80–86
- Slater TF. (1987). Free radicals and tissue injury: fact and fiction. *British Journal of Cancer*, 8: 5-10.
- Stahl GL, Xu Y, Hao L, Miller M, Buras JA, Fung M, Zhao H. (2003). Role for the alternative complement pathway in ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Pathology*, 162: 449-455.
- Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, Gartner C, Haenen G, Hollman P, Holst B, Kelly FJ, Polidori MC, Rice-Evans C, Southon S, van Vliet T, Vina-Ribes J, Williamson G, Astley SB. (2002). Bioavailability and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 23: 39-100.
- Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. (1991). Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res*. 42: 125-138.
- Symmetrel (amantadine hydrochloride, USP) [prescribing information]. (2009). Chadds Ford, PA: Endo Pharmaceuticals Inc.

Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Abu Amara M, Seifalian AM, Davidson BR. (2008). Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. *Journal of Surgical Research*, 150: 304-330.

Terzi C, Kuzu A, Tanık A, Kale T, Aşlar K, Elhan A. (2000). Sıçanlarda intestinal iskemi modelinde proflaktik kısa ve uzun süreli yüksek doz Allopurinol kullanımının mortaliteye etkisi. *Klinik ve Deneysel Cerrahi*, 8: 10-16.

Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. (2007). A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 68: 1363-1370.

Tokito A, Silva J. (2005). Ischemia and reperfusion syndrome of hind limbs functional and histological renal changes in rats. *Medicine Riberio Preto*, 38: 294-300.

Uysal A, Burma O, Akar İ, Özsin KK, Rahman A, Üstündağ B, Özercan Hİ. (2006). Protective effect of melatonin on lung injury caused by ischemia-reperfusion of the lower extremities. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*. 14(4): 308-314

Vega VL, Mardones L, Maldonado M, Nicovani S, Manriquez V, Roa J. (2000). Xanthine oxidase released from reperfused hindlimbs mediate kupffer cell activation, neutrophil sequestration, and hepatic oxidative stress in rats subjected to tourniquet shock. *Shock* 14: 565-71.

Vinten-Johansen J. (2004). Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 61: 481-497.

Virág L, Szabó C. (2002). The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev*. 54: 375-429.

Wang XD, Lu YL, Lai RC, Li YP, Huang W, Xu M. (2007). Protective effect of ketamine against acute rat lung injury induced by lipopolysaccharide and its mechanism. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 27(12): 1848-50

Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. (1996). Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 83: 162-170.

Wilhelm J. (1990). Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 137:1-53.

Windsor AC, Mullen PG, Fowler AA, Sugerman HJ. (1993). Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome. *Br J Surg.* 80: 10-7

Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. (2007). PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27: 2514-2523.

Xia F, Xia Y, Chen S, Chen L, Zhu W, Chen Y, Papadimos TJ, Xu X, Liu L. (2017). Lipid emulsion mitigates impaired pulmonary function induced by limb ischemia/reperfusion in rats through attenuation of local cellular injury and the subsequent systemic inflammatory. *BMC Anesthesiology* 17:83

Xiao X, Zhang H, Wang H, Li Q, Zhang T. (2017). Neuroprotective effect of amantadine on corticosteron-induced abnormal glutamatergic synaptic transmission of CA3-CA1 pathway in rat's hippocampal slices. *Synapse.* 71: e22010

Yang JCS, Lin MW, Rau CS, Jeng SF, Lu TH, Wu YC, Chen YC, Tzeng SL, Wu JC, Hsieh CH. (2015). Altered exosomal protein expression in the serum of NF- $\kappa$ B knockout mice following skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Journal of biomedical science*, 22(1): p.

Yang CL, Chen CH, Tsai PS, Wang TY, Huang CJ. (2011). Protective effects of dexmedetomidine-ketamine combination against ventilator-induced lung injury in endotoxemia rats. *J Surg Res.* 15; 167(2): e273-81

Yıldar M. (2008). Deneysel Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarında Splenektomi Ve Gadolinium Chloride (GdCl<sub>3</sub>)'in Koruyucu Etkisi. Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi.

Zhang Y, Rong S, Feng Y, Zhao L, Hong J, Wang R, Yuan W. (2017). Simvastatin attenuates renal ischemia/reperfusion injury from oxidative stress via targeting Nrf2/HO-1 pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine* 14: 4460-4466

Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. (1999) Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 101:148-160.

Zimmerman BJ, Granger DN. (1992) Reperfusion injury. *Surg Clin North Am.* 72: 65-83.



## 8. ÖZGEÇMİŞ

<b>Ad:</b>	MUSTAFA
<b>Soyad:</b>	ORHAN
<b>Doğum Yeri:</b>	Akşehir
<b>Doğum Tarihi:</b>	25.04.1986
<b>Görev Yeri:</b>	Sakarya
<b>Yabancı Dil:</b>	İngilizce
<b>E-Posta Adresi:</b>	<a href="mailto:mm.orhan@hotmail.com">mm.orhan@hotmail.com</a>

<b>Tarih</b>	<b>Eğitim</b>
2004 - 2010	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
2013 - 2018	Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD
<b>Varsa, İyi Klinik Uygulamalar Kapsamında Aldığı Eğitimler</b>	
2017	İleri Yaşam Destekleği Uygulayıcı Kursu (ERC) Uygulayıcı Sertifikası
<b>Akademik Ünvanları</b>	
2013 - 2018	Araştırma Görevlisi
<b>İş Tecrübesi</b>	
2010 - 2012	Konya İlgın Devlet Hastanesi Acil Servis (2 yıl)
2013 - 2018	Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD. (5 yıl)
<b>Varsa, Araştırmacı Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar</b>	
<b>Varsa, Monitör/İzleyici Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar</b>	
<b>Varsa, Saha Görevlisi Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar</b>	

## YAYIN LİSTESİ

1. Tas Tuna A, Palabiyik O, **Orhan M**, Sonbahar T, Sayhan H, Tomak Y. Does Sugammadex Administration Affect Postoperative Nausea and Vomiting After Laparoscopic Cholecystectomy: A Prospective, Double-Blind, Randomized Study. Surg Laparosc. Endosc. Percutan Tech. 2017 Aug;27(4):237-240. doi: 10.1097/SLE.0000000000000439.
2. Beyaz SG, Sayhan H, İnanmaz ME, **Orhan M**. Cervical vertebroplasty under sedoanalgesia using combined ultrasonography and fluoroscopy guidance: a novel technique. Eur Spine J. 2017 Sep 8. doi: 10.1007/s00586-017-5276-3.

## KATILDIĞI KONGRELER VE SEMİNERLER

1. X. Basic Course Of Clinical Nutrition ACCN COURSE 28-30 Mart 2014
2. 48. Ulusal Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi 25-29 Ekim 2014 (TARK)
3. Yeşim Ateş Ağrı Günleri – III 23-24 Mayıs 2015
4. 18. Ulusal Yoğun Bakım Kongresi (Uluslararası katılımlı) 6-10 Nisan 2016
5. 14. Ulusal Ağrı Kongresi 03-06 Kasım 2016
6. Türk Yoğun Bakım Derneği Akademi Yoğun Bakım Toplantısı "Sepsis Atölyesi" 14 Nisan 2017
7. Kanamalı Cerrahilerde Perioperatif Hematolojik Sorunlar ve Çözümler 'TARD Farkındalık Toplantısı' 2 Aralık 2017