

# AKUT ALT EXTREMİTE İSKEMİ / REPERFÜZYON HASARININ AKCİĞER SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

## EFFECT OF ACUTE LOWER LIMB ISCHEMIA / REPERFUSION INJURY ON THE FREE OXYGEN RADICAL SYSTEMS IN LUNGS

\*Dr. Selim İSBİR, \*Dr. Serdar AKGÜN, \*Dr. Koray AK, \*\*Dr. Ümit ZEYBEK, \*\*Dr. Makbule AYDIN, \*Dr. Ali CİVELEK, \*Dr. Atike TEKELİ, \*Dr. Adnan ÇOBANOĞLU

\*Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, \*\*İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Anabilim Dalı, İSTANBUL

Adres: Yrd. Doç. Dr. Selim İSBİR, Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Tophanelioğlu Cad. No:13-15 Altunizade / İSTANBUL

### Özet

Akut alt ekstremite iskemilerinden sonra akciğerlerde birçok patolojik değişiklikler oluşmaktadır. Bu çalışmada akut alt ekstremite İskemi / Reperfüzyon ( İ / R ) hasarını takiben akciğer malondialdehit ( MDA ) ve Glutasyon ( GSH ) düzeylerine bakılmıştır.

Onaltı Spraque Dawley cinsi sıçan iki gruba ayrılmıştır. Grup A ( n=8 ) kontrol grubu, bu grupta batın açılarak abdominal aorta eksplore edilmiş ve akciğerlerde bazal MDA ve GSH değerleri ölçülmüştür. Grup B' de ( n=8 ) ise abdominal aorta 45 dakika klemplenmiş ve sonrasında klemp açılarak reperfüzyon sağlanmıştır. Bu grup 48 saat sonra sakrifiye edilmiş ve akciğerde MDA ve GSH değerleri ölçülmüştür.

Çalışma grubundaki MDA değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksekliği ve de GSH değerlerinin anlamlı derecede düşüklüğü akut alt ekstremite iskemisini takiben akciğerlerde serbest oksijen radikallerinde artış olduğunu ve de koruyucu mekanizma olan glutasyonun düştüğünü göstermektedir.

Sonuç olarak akut alt ekstremite İ / R hasarında, akciğerlerde gelişen patolojik değişikliklerin temelinde olası diğer faktörlerle birlikte serbest oksijen radikallerinin de yer aldığını söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Serbest oksijen radikalleri, İskemi / Reperfüzyon hasarı

### Summary

After lower limb ischemia, different pathological changes can be seen in lungs. In this study, we measured the levels of malonyldialdehyde ( MDA ) and Glutathion in lung tissue following the lower limb ischemia / reperfusion injury.

Sixteen Sprague Dawley type rats were divided into two groups. In grup A ( n=8 ) control grup, abdomen was opened and abdominal aorta was explored, and then basal lung MDA and GSH levels were measured. In Grup B ( n=8 ), abdominal aorta was clamped for 45 minutes, then reperfused. In this grup rats were sacrificed after 48 hours and their lungs were taken for MDA and GSH analysis.

In study group, Statistically significant high MDA levels and in control group statistically low GSH levels means that after acute lower limb ischemia, free oxygen radicals within the lungs were increased and glutathion level, as a protective mechanism, was decreased.

In conclusion, with lower limb I / R injury, free oxygen radical system mediates the pathological changes within lungs beside the other factors.

Keywords: Free oxygen radicals, Ischemia / Reperusion injury

### Giriş

Akut alt ekstremite İskemi / Reperfüzyon ( İ / R ) hasarı özellikle aort cerrahisinde aortaya geçici süreyle klemp uygulanması sonucu ortaya çıkmaktadır. Hem iskemik kalan ekstremitede ( lokal hasar ) hem de iskemik alanın dışındaki bölgelerde ( uzak organ hasarı ) hasar ortaya çıkabilmektedir. Özellikle alt ekstremite İ / R dönemi sonrası ortaya çıkan uzak organ hasarında, akciğerler hedef organ konumundadır ve klinik olarak büyük önem taşımaktadır [ 1 ]. Bir çalışmada, Zimon ve arkadaşları, akut alt ekstremite iskemisi gelişen ve cerrahi tedavi uygulanan 70 hastada, erken postoperatif dönemde %64 oranında pulmoner komplikasyon bildirmişler ve pre-operatif iske mi süresi ile oluşan akciğer hasarının şiddeti arasında belirgin bir korelasyon göstermişlerdir [ 2 ]. Akut alt ekstremite İ/R dönemi sonunda ortaya çıkan akciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Plazmada ve dokuda artmış serbest oksijen radikalleri, çeşitli sitokinler ( IL-6 / IL-8 / TNF-<sub>α</sub> ), trombosit aktive edici faktör ( PAF ), eicosanoid ve lökotrien salınımı gibi birçok mekanizma bildirilse de bu konuda kesin bir konsensus ortaya konulamamıştır [ 1, 3-5 ].

Bu çalışmada akut alt ekstremite İ / R olayı ile akciğerde doku hasarı oluşup oluşmadığını tespit etmek amacıyla oksidan bir madde olan MDA ve dokuda oksidan strese karşı koruyucu bir sistem olarak görev yapan GSH seviyesine bakılmıştır. Çalışmadaki amaç akut alt ekstremite İ / R dönemi sonunda akciğerlerde serbest oksijen düzeyini belirlemek ve oluşan uzak organ hasarında serbest oksijen radikal sisteminin önemini ortaya çıkartmaktır.

### Materyal ve Metod

Çalışmada 16 adet 320-370 gram ağırlığında Spraque Dawley cinsi sağlıklı sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar randomize olarak iki gruba ayrılmışlardır. Grup A ( n=8 ); kontrol grubu ve Grup B ( n=8 ); iske mi grubu. Grup A' daki sıçanlar thiopental ( 40 mg/kg, IM ) ile uyutulduktan sonra operasyon masasına alındı ve steril şartlar altında orta hattan laparotomi yapılarak batınları açıldı. Retroperitona girilerek abdominal aorta eksplore edildi, başka hiçbir işlem yapılmadan batın kapatıldı ve hayvanlar kafeslerine alındı. Grup B' deki sıçanlarda distal abdominal aorta ili yak bifürkasyonun hemen proksimalinden koroner bulldog klemp i kullanılarak 45

dakikalık süre ile kleplendi ve bu süre sonunda klemp açılarak reperfüzyon sağlandı. İşlem sonrası batin kapatılarak hayvanlar kafeslerine alındı. 48 saat sonra her iki gruptaki sıçanlar letal thiopental dozu ile sakrifiye edildi ve torakotomi yapılarak akciğerleri MDA ve GSH seviyelerinin tespiti için çıkartıldı.

Verilerimizin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değer  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiş ve  $p < 0.05$  ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arası fark olup olmadığını araştırmak amacıyla Student's t testi kullanılmıştır.

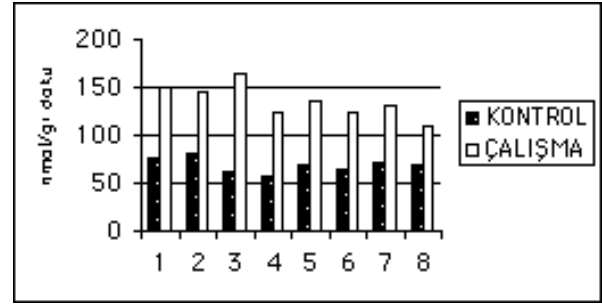
## Sonuçlar

Kırksekizinci saatte Grup A ve Grup B' deki MDA ve GSH değerleri Şekil 1 ve Şekil 2' de gösterilmiştir. Grup A' da ortalama MDA değeri  $69.25 \pm 7.68$  nanomol/gr doku iken grup B' de  $103.5 \pm 12.6$  nanomol/gr doku olarak bulunmuştur ( $p=0.01$ ). Her iki gruptaki ortalama GSH değerleri Grup A' da  $1.01 \pm 0.2$  mikromol/gr doku iken grup B' de  $0.72 \pm 0.12$  mikromol/gr doku olduğu tespit edilmiştir ( $p=0.03$ ). Kırksekizinci saatte grup A ile grup B arasında MDA değerlerinde artma ile GSH değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve akciğerlerde akut alt ekstremité İ / R dönemi sonrası değişen oksidan stresi göstermektedir.

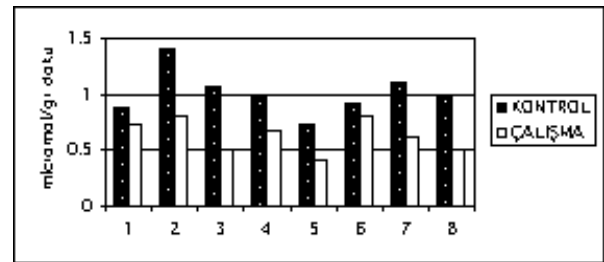
## Tartışma

Akut alt ekstremité İ / R olayı sonrası ortaya çıkan akciğer hasarı önemli derecede postoperatif mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Hipoksemi, pulmoner hipertansiyon, azalmış akciğer kompliansı ve nonhidrostatik pulmoner ödem İ / R hasarı oluşan akciğer hasarının birer bulgusu olarak ortaya çıkmakta ve klinik olarak tamamen subklinik seyreden geçici bir durumdan ( akut akciğer hasarı ) ARDS' ye ( Adult Respiratuar Distress Syndrome ) kadar gidebilen ciddi bir tabloya yol açabilmektedir [ 2 ]. Moleküler olarak akut alt ekstremité İ / R hasarı sonrası vücutta lokal ve sistemik enflamatuvar bir yanıt ortaya çıkmakta ve buna bağlı plazmada artmış pro-enflamatuvar ajanlarla birlikte ( sitokinler, araşidonik asit derivativleri, trombosit aktive edici faktör, kompleman ), artmış serbest oksijen radikalleri ve nötrofil infiltrasyonu oluşan uzak organ hasarında rol oynayan etkenlerdir [ 6, 7 ]. Son yıllarda özellikle aort cerrahisi sonrası iskemi/reperfüzyon hasarına maruz kalmış dokularda artan IL - 8 seviyesi için mRNA genetik ekspresyonundaki artışın sorumlu olduğu gösterilmiştir [ 7, 8 ]. Hasarı başlatan mekanizma ne olursa olsun sonuç olarak artmış polimorfonükleer lökosit ( PMNL ) aktivitesi, kemoatraksiyonu ve infiltrasyonu, en sonunda PMNL degranulasyonuna sebep olmaktadır. Degranulasyon sonrası artan serbest oksijen radikalleri ve proteazlar akciğer endotel hasarına ve buna bağlı gelişen artmış pulmoner kapiller permeabiliteye sebep olmaktadır [ 9, 10 ]. Anti-oksidan maddelerin akut İ / R hasarı sonrası görülen uzak organ hasarına karşı koruyucu etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [ 6 ]. Punch ve arkadaşları serbest oksijen radikal inhibitörlerinin akut alt ekstremité iskemi / reperfüzyon olayı sonrası ortaya çıkan pulmoner mikrovasküler permeabilite artışı ve nötrofil akümülyasyonunu engellediğini göstermişlerdir [ 11 ]. Bizim çalışmamızda, akciğerlerdeki serbest radikal seviyesinin çalışma grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olması ve oksidan strese karşı koruyucu etkisi olan GSH değerlerinin de anlamlı derecede düşük bulunması, akciğerlerde

serbest oksijen radikallerinin de içinde bulunduğu birçok mekanizma ile doku hasarının oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca klinikte özellikle aort cerrahisinde, aort-krosklemp süresinin uzadığı vakalarda postoperatif oksidan strese bağlı akciğer hasarı ve buna bağlı sekeller değişik anti-oksidan ilaçların kullanılması ile azaltılabilir veya engellenebilir. Mevcut literatür bilgisinin yanısıra İ / R hasarı sonrası gelişen uzak organ hasarında anti-oksidan ilaçların etkinliği daha fazla klinik ve laboratuvar çalışması ile desteklenmesi gerekmektedir.



Şekil 1: Doku MDA değerleri. Çalışma grubundaki MDA değerleri kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.



Şekil 2: Doku GSH değerleri. Kontrol grubundaki GSH değerleri çalışma grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.005$ ).

## Kaynaklar

1. Fantini GA, Conte MS: Pulmonary failure following lower torso ischemia: clinical evidence for a remote effect of reperfusion injury. *Am J Surg* 1995; 61:316-9.
2. Zimon IN, Mavlianova NA: Respiratory disorders in patients with acute arterial occlusion of legs and ischemic syndrome. *Khirurgiia* 1997;16-8.
3. Groeneveld AB, Raijmakers PG, Rauwerda JA, et al: The inflammatory response to vascular surgery-associated ischemia and reperfusion in man: effect of postoperative pulmonary function. *Eur J Endovasc Surg* 1997 ;14:351-9.
4. Gregory CG, Burrell, Lyle LM, Thomas SH, et al. Attenuation of skeletal muscle ischemia / repletion by tumor necrosis factor. *J Vasc Surg* 1999;29:370-6.
5. Bengisun U, Köksoy C, Bengisu JS, et al: Ischemia and reperfusion of pulmonary hypertension and

- leukosequestration following lower limb ischemia. *Prost Leuko Essen Fatty Acids* 1997;56: 117-20.
6. McGuire, Liu P, Jaeschke H. Neutrophil-included lung damage after hepatic ischemia and endotoxemia. *Free Radic Biol Med* 1996;20: 189-97.
  7. Graeme MR. Ischemia / reperfusion, inflammatory responses and acute lung injury. *Thorax* 1997;52:841-2.
  8. Karakurum M, Shreeniwas R, Chen J, et al: Hypoxic induction of interleukin - 8 gene expression in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93:1564-70.
  9. Raijmakers PG, Groeneveld AB, Rauwerda JA, et al: Acute lung injury after aortic surgery: the relation between lung and leg microvascular permeability to 111indium-labelled transferrin and circulating mediators. *Thorax* 1997 ;52:866-71
  10. Van Griensven M, Stalp M, Seekamp A: Ischemia-reperfusion directly increases pulmonary endothelial permeability in vitro. *Shock* 1999;11: 259-63.
  11. Punch J, Rees R, Cashmer B, et al: Acute lung injury following reperfusion ischemia in the hind limbs of rats. *J Trauma* 1991; 31: 760-5.