

Deneysel Akciğer Ototransplantasyonu Sonrası Reperfüzyon Hasar Modelinde N-Asetilsisteinin Etkileri

EFFECTS OF N-ACETYLCYSTEIN IN REPERFUSION INJURY AFTER EXPERIMENTAL LUNG OTOTRANSPLANTATION MODEL

Erhan Ayan, *Necip İlhan

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Elazığ

*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Elazığ

Özet

Amaç: N-Asetilsistein'in iskemi sonrası reperfüzyonun başlamasıyla ortaya çıkan hasar üzerine yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışma, sol akciğer ototransplantasyonu yapılan köpeklerde reperfüzyona bağlı oluşan hemodinamik ve biyokimyasal değişikliklerde N-asetilsistein tedavisinin etkisini göstermeyi amaçlayan deneysel bir çalışmadır.

Materyal ve Metod: Çalışmada rastgele 2 eşit gruba (kontrol ve N-asetilsistein) ayrılan 12 adet yetişkin sokak köpeği kullanıldı. Pulmoner arter ve venin klemplenmesi sonrası sol ana bronkus divize edildi, 2 saatlik iskemi sonrası reperfüzyonun başlamasından önce yeniden anastomoz yapıldı. Kontrol grubuna (n = 6) salin solüsyonu verildi, N-asetilsistein grubuna (n = 6) iskemiden 30 dakika önce 60 mg/kg N-asetilsistein verildi. Ardından iki saatlik süreyle 40°C Euro-Collin's ile yıkandıktan sonra ortotopik tek akciğer ototransplantasyonu uygulandı. Reperfüzyon döneminde sağ pulmoner arterin 5 dakikalık klemplenme testinin ardından sol pulmoner arter basıncı, sol pulmoner vasküler rezistansı, kardiyak debi, sistemik arteriyel oksijen basıncı (PaO₂), alveolo-arteriyel oksijen farkı (A-aDO₂) değerleri ölçüldü. Ayrıca doku beta N-asetil glukozaminidaz ve süperoksiddismutaz düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Sol pulmoner arter basıncı, sol pulmoner vasküler rezistans, kalp debisi, sistemik arteriyel oksijen basıncı, alveolo-arteriel oksijen farkı ölçümleri, serum beta N-asetil glukoz-aminidaz, süperoksit-dismutaz değerleri N-asetilsistein grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı idi (p < 0.05).

Sonuç: N-asetilsistein kullanımının akciğer ototransplantasyonu uygulanan köpeklerde iskemi reperfüzyon hasarı üzerine yararlı etkileri bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Akciğer ototransplantasyonu, reperfüzyon hasarı, N-asetilsistein

Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2004;12:98-105

Summary

Background: N-acetylcystein is known to have beneficial effects in ischemia-reperfusion (I/R) injury through post-ischemic reperfusion injury. The aim of study was to investigate the effects of N-acetylcystein on I/R injury in canine left, single, lung ototransplantation model.

Methods: Twelve adult dogs were divided into two groups. Ischemia was induced for 2 hours by clamping the pulmonary arteries and veins. The left main bronchus was transected and re-anastomosed prior to perfusion. The control group (n = 6) was treated with saline, the N-acetylcystein group (n = 6) was treated with N-acetylcystein which was administered intravenously for 30 minutes before ischemic period. After two hours preservation with 40°C Euro-Collins solution, orthotopic left, single, lung transplantation was performed. During a 5 minute clamping test of the right pulmonary artery, left pulmonary arterial pressure, left pulmonary vascular resistance, arterial oxygen pressure (PaO₂) and alveolar-arterial oxygen pressure difference (A-aDO₂) were measured. Furthermore we measured tissue b N-acetylglucosaminidase and superoxide-dismutase levels.

Results: Left pulmonary arterial pressure, left pulmonary vascular resistance, arterial oxygen pressure (PaO₂), alveolar-arterial oxygen pressure difference measurement and serum beta N-acetylglucosaminidase and superoxide-dismutase levels were significantly better in the N-acetylcystein group than the control group (p < 0.05).

Conclusion: N-acetylcystein appears to generate a protective effect on I/R injury in lung oto-transplantation in dogs.

Keywords: Lung ototransplantation, reperfusion injury, N-acetylcystein

Turkish J Thorac Cardiovasc Surg 2004;12:98-105

Giriş

Böbrek, karaciğer ve kalbin ileri dönem yetmezliklerinde transplantasyon yıllardır başarıyla uygulanmaktadır. Akciğer transplantasyonu konusunda ise çığır açacak gelişmeler yeni yeni başlamıştır. Günümüzde özellikle yoğun sigara içimi ile çevresel toksinlerin giderek artış göstermesi terminal akciğer hastalıklarının morbidite ve mortalitesinde artışlara sebep olmaktadır. Son dönem pulmoner fibrozis amfizem, kistik fibrozis hastaları akciğer transplantasyonu için öncelikli adaylardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, sadece pulmoner transplantasyon ile pulmoner fibrozis sonucu gelişen sağ kalp yetmezliğinin de düzeldiği gözlemlenmiştir [1]. Böylece kalp-akciğer transplantasyonu sahası daralırken, tek akciğer transplantasyonu alanı daha da genişlemiştir.

Transplantasyon yapılan bir organın transplantasyon sonrası görevini yeteri kadar yapamaması, organın yeteri kadar iyi korunamamasına, iskemik sürenin uzamasına, operasyon tekniğine ve yetersiz immünsüpresyona bağlıdır.

İlk araştırmalarda transplante edilen akciğerin erken dönem yetmezliğinde lenfatik, nöral ve bronşiyal yapıların divize edilmesinin etken olduğu düşünülmüştür. Klinik tecrübelerin artmasıyla birlikte patolojik değişimlerin bu yapıların divizyonuna bağlı değil, iskemi ve reperfüzyonla ilgili olduğu görüşü ağırlık kazandı [2]. Akciğer transplantasyonlarında kalıcı postoperatif komplikasyon gelişmese dahi erken postoperatif periyotta geçici kritik bir bozulma olmaktadır. Hem bilateral, hem unilateral akciğer transplantasyonlarında pH artması, normal pCO₂, arteriel oksijen saturasyonunda ve pulmoner fonksiyonlarda geçici bir azalmayla karakterize bir periyod varlığı bildirilmiştir [1,3-5]. Bu durum immünolojik rejeksiyon fenomeni olmaksızın akciğerin çıkarılıp yeniden yerleştirilmesinden dolayı perfüzyon ve ventilasyonun kompleks olarak bozulması şeklinde tanımlanır [1,2]. Postiskemik resirkülasyon veya reperfüzyon, iskemik dokunun oksijenlenmiş kan ile perfüze edilmesiyle enerji desteğinin sağlanması ve sellüler hemostazın yeniden restorasyonu demektir [6]. İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması, enerji gereksiniminin düzenlenmesi (reperfüzyon) ve toksik metabolitlerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. Ancak reperfüzyonla beraber toksik metabolitlerin dolaşıma karışması ciddi metabolik sonuçlar doğurabilir [7]. Transplantasyon sonrası reperfüzyon başladığında vasküler permeabilitede artış ve doku içerisine kanama gibi hasarın lokal bulguları oluşurken, aynı zamanda akciğer vasküler permeabilitesi ve pulmoner vasküler direnç artışı kardiyak fonksiyonlarda bozulmaya yol açmaktadır [8,9]. Bu değişiklikler reperfüzyonun süresi ile doğru orantılı olup, dokudaki nötrofil akümülyasyonu ile ilişkilidir [10-12]. Nötrofillerin aktivasyonu ve bunu takiben akciğerlerde ve diğer organlarda nötrofil sekestrasyonu, multisistem organ yetmezliğinin gelişiminde önemli bir basamaktır [13]. N-asetilsistein mukolitik bir ilaç olarak 1960'lerden itibaren kullanılmaya başlandı. Daha sonraları N-asetilsisteinin etkin bir antioksidan madde olduğu ve hücre içi sülfidrid birikimine sebep olup indirgenmiş glutatyonun öncü maddesi olarak rol oynadığı keşfedildi. N-asetilsistein düşük moleküler ağırlıklı bileşik olup glutatyon prekürsörüdür. Glutatyon stoklarını yeniden doldurmakta, süperoksit-dismutaz aktivitesini arttırmakta ve otokatalitik lipid peroksidasyonunu

engellemektedir [14,15].

Akciğer transplantasyonunda, akciğeri iskemiden korumak için yapılan çalışmalar devam etmektedir. Biz de bu çalışmamızda bir farmakolojik ajan olan N-asetilsisteinin akciğer iskemisi sonrasında ortaya çıkan hemodinamik ve biyokimyasal değişikliklerdeki rolünü araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod

Bu araştırma için Fırat Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nde ağırlıkları 13-16 kg arasında olan, her iki cinsten rastgele 12 yetişkin sokak köpeği kullanıldı. Denekler Grup 1 (n = 6, kontrol iskemiden 30 dakika önce salin solüsyonu verilen grup) ve Grup 2 (n = 6, iskemiden 30 dakika önce 60 mg/kg dozunda N-asetilsistein verilen grup) olmak üzere ikiye ayrıldı.

Anestezi

Bütün hayvanlara premedikasyon olarak operasyondan bir saat önce 5 mg/kg Xylazine hidroklorid (Rhompun 20 ml fl 23.32 mg/mL, Bayer, Türkiye) intramuskuler yolla verildi. Femoral venöz kateter yerleştirilip anestezi indüksiyonu sodyum thiopental ile (Trapanal, 250 mg, Byk Gulden, Germany) başlatıldı. Deneklere endotrakeal tüp ile genel anestezi uygulandı. Volüm kontrollü mekanik ventilatör kullanılarak tidal volüm 10 mL/kg, solunum hızı 14/dakika FiO₂ 0.5, pCO₂ 40-45 mmHg, arteriyel oksijen saturasyonu %90'dan fazla olacak şekilde respiratuvar ayarlamalar yapıldı. Anestezinin devamı 20-25 mg/kg ketamin (Ketalar 20 mL fl, 200 mg/mL, Eczacıbaşı, Türkiye) uygulanarak sürdürüldü.

Cerrahi Teknik

Operasyon için sağ lateral dekübit pozisyonu kullanıldı. Sol dış juguler venden Seldinger tekniği ile perkutanöz termodilüsyonlu Swan-Ganz kateter yerleştirildi. İnvasiv kan basıncının monitörizasyonu için sol femoral arterden bir kateter yerleştirilip monitöre bağlandı. Sol dördüncü interkostal aralıktan lateral torakotomiye takiben sol ana pulmoner arter ve bronkus pulmoner hilumdan izole edildi. Perikardiyum açılıp pulmoner trunkus bifurkasyonunun hazırlanmasının ardından sağ pulmoner arter disseksiyonu yapıldı. Disseksiyon sağ pulmoner arter ve trakeal bifurkasyon arasından sağ ana bronkusun etrafından bant geçirilmesi ile tamamlandı. Tüm bu işlemler sırasında sol akciğer ventilasyonunun korunmasına dikkat edildi. İskemiden 30 dakika önce N-asetilsistein grubuna intravenöz yolla 60 mg/kg dozunda N-asetilsistein verildi. Swan-Ganz kateterin ana pulmoner arterde olduğu palpasyon ile kontrol edildi. Bir başka kateter de sol atriyal apendikse yerleştirilip sol atriyal basıncın sürekli kontrolü sağlandı.

İntravenöz 300 IU/kg heparin (Liquemin 25.000 IU/ 5 mL, Roche) sonrası sol ana pulmoner arterin distaline kanül yerleştirilip kanülün proksimaline kros klemp konuldu. Sol pulmoner venler intraperikardiyal olarak disseke edilip naylon teyp ile döndürüldükten sonra, sol atriya pulmoner venlerin girişi yerinin proksimaline kros klemp yerleştirildi. Sıvı drenajı olacak biçimde klempin distaline venöz kateter yerleştirildi (Şekil 1). Sol pulmoner artere yerleştirilen kanülden modifiye Euro-Collin's solüsyonu (60 mL/kg) ile yıkama işlemine

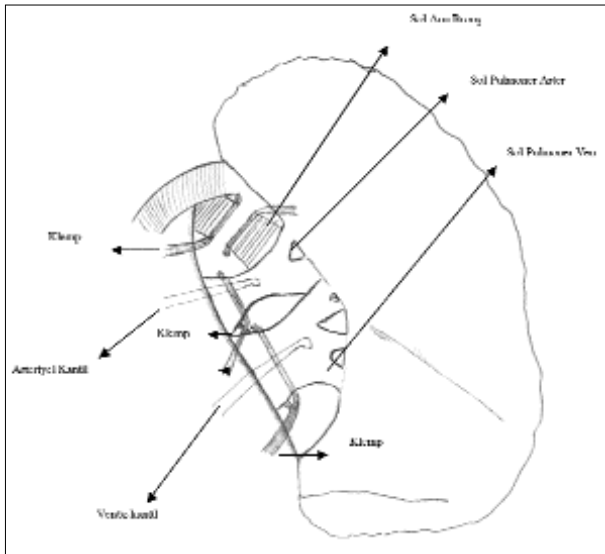
devam edildi. Bu işlemler yapılırken pulmoner arter basıncı 22-25 mmHg arasında tutuldu. Perfüzyon esnasında sürekli ventilasyona devam edildi (Şekil 2). Perfüzyonun tamamlanmasının ardından sol ana bronkus iki vasküler klemp ile akciğer yarı şişirilmiş pozisyonda kapatılarak kesildi. Sol akciğer in situ ve soğuk havlu ile sarılarak korundu (Şekil 3). Sol akciğer iskemi zamanı iki saat olarak planlandı. İskemik periyod bitiminde sol bronkus deklempe edilerek sol akciğer havası boşaltıldı. Tek akciğer ventilasyonunu sağlamak amacıyla entübasyon tüpü sol ana bronkusun proksimaline yerleştirilerek kafi şişirildi ve karşı tarafta solunum seslerinin alınmadığı oskültasyonla doğrulandıktan sonra 4/0 prolene (Ethicon, Germany) sütür ile sürekli olarak rekonstrükte edildi. Sol atriyumdaki kateter kapatıldı ve pulmoner arterdeki klempin kaldırılması ile reperfüzyon başlatıldı. Sağ pulmoner arter ve sağ ana bronş vasküler klemp ile kapatıldığı zaman hayvan sadece sol akciğere bağımlı hale getirildi.



Şekil 2. Pulmoner arter ve pulmoner ven kanüle edilerek klemplenmiş halde.



Şekil 3. Sol ana pulmoner bronkusun divize edilerek klemplenmiş hali.



Şekil 1. Perfüzyon sırasındaki akciğerin şematik görünümü.

Kardiyopulmoner Değerlendirme

Kardiyak debi ölçümü termodilüsyon (Cardiac Verim Computer, Horey, Germany) cihazı ile pulmoner arter, sol atriyal, santral venöz ve arteriyel basınç ölçümü yapıldı. Ölçümler denekler genel anestezi altında iken herhangi bir işlem yapılmadan önce ve reperfüzyonun 30, 60, 120. dakikalarında yapıldı. Aynı dönemlerde arteriyel kan örnekleri alınarak kan gazı analizi yapıldı, pulmoner vasküler direncin hesaplanmasında kullanılan formüller şu şekildedir:

$Effektif\ A-aDO_2 = FiO_2 \times (Pbar - 47) - PaCO_2 - PaO_2$
(Pbar = barometrik basınç, FiO_2 inspiratuvar oksijen fraksiyonu)

$PVR = (PAP - PCWP) \times 80 / CO$

(PAP = pulmoner arteriyel ortalama basınç, PCWP = pulmoner kapiller kama basınç)

Biyokimyasal Değerlendirme

Serum örnek alımları denekler genel anestezi altında iken

herhangi bir işlem yapılmadan önce ve reperfüzyonun 30, 60, 120. dakikalarında yapıldı. Alınan serumlar santrifüj edildikten sonra -80°C saklandı ve tüm örnekler toplandıktan sonra biyokimya laboratuvarına topluca gönderildi.

Beta N-asetil glukozamin (B-NAG)

Beta N-asetil-glukozaminin serbestleşmesi polimorf nüveli lökosit (PNL) ve makrofaj aktivasyonunun önemli bir parametresidir. Flurometrik olarak sitratlı kandan 4-methylumbelliferyl N-asetil-D glukozaminidas ve 4 methylumbelliferone standardı ölçüldü. Floresans ölçümünde (RF-510 Shimodzu, Japan) spektrofotometre kullanıldı.

Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksid dismutaz aktivitesi Sun ve arkadaşlarının, Durak ve arkadaşlarınınca yapılan modifikasyona göre tayin edildi. Bu metotta SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır [16].

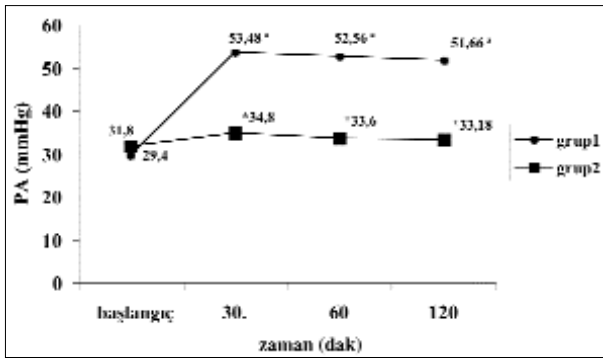
İstatistiksel Değerlendirme

Gruplardan elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. Gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi ve Wilcoxon testi kullanıldı, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 1. Doku NO ve Serum β -NAG ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

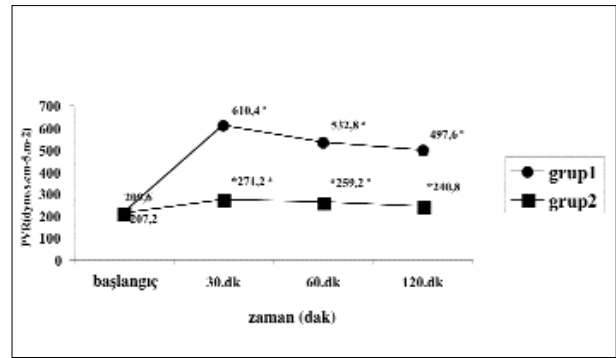
		Başlangıç	30.dakika	60.dakika	120.dakika
Serum SOD (U/mL)	Grup 1	1.91	2.68	2.71	2.74
	Grup 2	1.97	3.35	3.24	3.18
	<i>p</i>	> 0.05	0.002	0.002	0.002
Serum β -NAG (U/mL)	Grup 1	2.27	16.42	15.23	12.3
	Grup 2	2.46	12.3	9.32	8.12
	<i>P</i>	> 0.05	0.008	0.009	0.024

β -NAG = beta N-asetit-glukozomin; SOD = superoksid-dismutaz



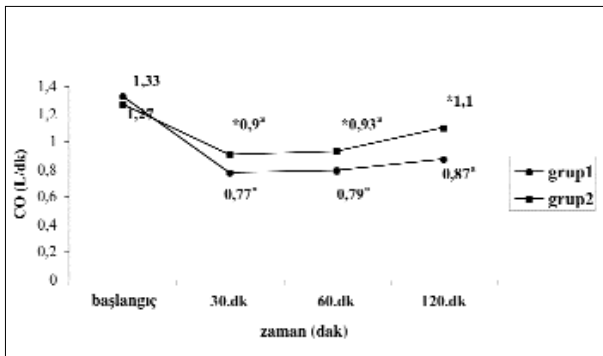
Şekil 4. Pulmoner arter ortalama basınç değişimi.

* $p < 0.05$ Grup 1 ve Grup 2 ortalama değerlerinin karşılaştırılması.
a $p < 0.05$ Grup 1 için başlangıç değeri ile 30, 60, ve 120. dakika ortalama değerlerinin karşılaştırılması.



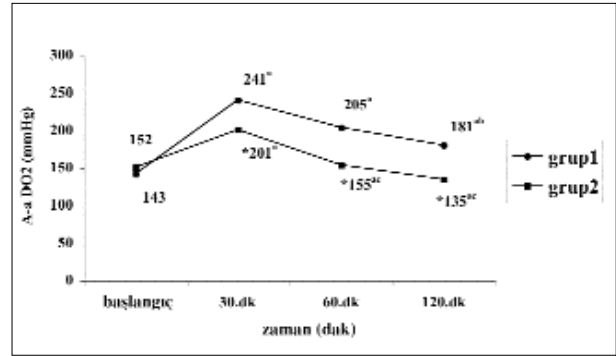
Şekil 5. Pulmoner vasküler rezistans değişimi.

* $p < 0.05$ Grup 1 ve Grup 2 ortalama değerleri karşılaştırıldığında
a $p < 0.05$ Grup 1 için başlangıç değeri ile 30, 60, ve 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında
a $p < 0.05$ Grup 2 için başlangıç değeri ile 30 ve 60. dakika değerleri karşılaştırıldığında



Şekil 6. Kardiyak debi değerleri değişimi.

* $p < 0.05$ Grup 1 ve Grup 2 değerleri karşılaştırıldığında
a $p < 0.05$ Grup 1 için başlangıç değeri ile 30, 60 ve 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında
a $p < 0.05$ Grup 2 için başlangıç değeri ile 30 ve 60. dakika değerleri karşılaştırıldığında



Şekil 7. Alveolo-arteriyel oksijen farkı.

* $p < 0.05$ Grup 1 ve Grup 2 değerleri karşılaştırıldığında.
a $p < 0.05$ Grup 1 ve Grup 2 için başlangıç değerleri ile 30, 60 ve 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında.
b $p < 0.05$ Grup 1 için başlangıç değerleri ile 30 ve 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında.
c $p < 0.05$ Grup 2 için 30. ile 60. dakika ve 30. ile 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında.

Bulgular

Akciğer ototransplantasyonu uygulanarak iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan köpeklerde serum (B-NAG) düzeyleri, serum SOD düzeyleri çalışılmıştır. Kardiyak debi, pulmoner vasküler direnç, pulmoner arter basınç ölçümleri yapılmış ve kan gazı analiziyle de alveolo-arteriyel oksijen farkı (A-aDO₂) belirlenmiştir. Belirtilen parametrelerin düzeylerinde gruplara bağlı olarak görülen değişimler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Serum β N-Asetil-Glukozaminidaz Düzeyleri

Doku β-NAG aktivitelerinin değişimi Tablo 1'de gösterilmiştir. Serum β-NAG enzim aktiviteleri her iki grupta da bazal değerlere göre 30. dakikadan itibaren anlamlı derecede arttı (p < 0.05). Grup 2'deki artış Grup 1'e göre daha azdı. Grup 2 kendi içinde karşılaştırıldığında 30. dakikada zirve yapan değer 60 ve 120. dakikalarda anlamlı olarak azalmaktaydı. Grup 1 kendi içinde karşılaştırıldığında ise 30.dakikadaki zirve değer artışı ancak 120. dakikada anlamlı olarak azalmış bulundu.

Doku Süperoksid-Dismutaz Değerleri

Doku SOD değerlerinin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmada doku SOD enzim aktivitelerinde her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı artış mevcuttu. Grup 2 içinde her üç dönemde de anlamlı artış saptandı. Grup 2'de belirlenen düzeyler her üç dönemde de Grup 1'den yüksekti.

Pulmoner Arter Basıncı Değerleri

Her iki grupta iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası değerler Şekil 1'de gösterilmiştir. Grup 1'de başlangıç pulmoner arter basınç değeri 30. dakikada 31.8 ± 2.3 mmHg'dan 53.48 ± 2.7'ye ulaşmış, 60 ve 120. dakikalarda da yüksek seyretmiştir. Grup 2'deki hafif artışlar ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Her iki grubun 30, 60, 120. dakika değerleri karşılaştırıldığında ise fark anlamlı bulunmuştur.

Pulmoner Vasküler Direnç Değerleri

Her iki grupta iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası değerler Şekil 5'de gösterilmiştir. Pulmoner vasküler direnç her iki grupta da başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştı. Buna karşılık tüm zamanlarda gruplar arası karşılaştırmada Grup 2 değerleri Grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu. Grup 1'de üç dönemde de görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken, grup 2 de sadece 30 ve 60. dakikalardaki artışlar anlamlı bulundu.

Kardiyak Debi Değerlerinin Dağılımı

Her iki grupta elde edilen kardiyak output değerleri Şekil 6'da gösterilmiştir. Kardiyak debi 30. dakikada her iki grupta da başlangıç değerlerine göre anlamlı bir şekilde azalmıştır. Grup 2'de 60. dakikada anlamlı azalma görülürken, 120 dakikadaki azalma anlamlı bulunmadı. Grup 1'de ise üç dönemde de azalma anlamlıydı. Aynı dönemler karşılaştırıldığında ise tüm dönemlerde Grup 2 kardiyak debi düzeyleri daha yüksek ölçüldü.

Alveolo-arteriyel Oksijen Farkı Değerleri

Her iki grupta iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası elde edilen değerler Şekil 7'de gösterilmiştir. Her iki grupta da başlangıç değerlerine göre 30. dakikada A-aDO₂ değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıdır. Bununla birlikte Grup 2 Grup 1

ile karşılaştırıldığında 30, 60, 120. dakikalardaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Grup 2'de gözlenen A-aDO₂ değerlerindeki artışının Grup 1'e göre daha az olduğu, 60 ve 120. dakikanın sonunda başlangıç değerlerine yakın seyrettiği dikkati çekmektedir. Her iki gruptaki artışlar 30. dakikadaki artış zirve yapmakta, 60. ve 120. dakikalarda ise bu artış gerilemektedir.

Tartışma

Akciğer transplantasyonu son dönem pulmoner hastalığı olan kişilerde en uygun tedavi metodu olarak benimsenmeye başlanmıştır. Bununla beraber, greft disfonksiyonu erken morbidite ve mortalitede en önemli rolü oynamaktadır. Greft disfonksiyonuna yol açan nedenlerin başında özellikle erken dönemde gelişen iskemi-reperfüzyon hasarının yol açtığı patolojik değişiklikler gelmektedir. Reperfüzyon hasarı olarak isimlendirilen bu olay klinik olarak artmış pulmoner vasküler direnç, intersitisyel ve pulmoner ödem, bozulmuş gaz değişimi ile kendisini göstermektedir.

Akciğer transplantasyonu konusunda ilk deneysel çalışmaların yapılmaya başlanmasından bu yana büyük gelişmeler olmuştur. Son dönemlerde bu çalışmaların büyük kısmı donör akciğerin korunması, postoperatif kardiyak ve pulmoner fonksiyonları destekleyecek farmakolojik ajanların üzerine yoğunlaşmaya başlamıştır [17].

Akciğer transplantasyonu esnasında donör akciğerinin iskemiye uğraması kaçınılmaz bir olaydır. İskemik dokuda kan akımı yeniden restore edildiğinde reperfüzyona bağlı olarak meydana gelen hasarın o bölgede sınırlı kalmadığı, akciğerlere inflamatuvar hücrelerin akümüasyonu, pulmoner hipertansiyon, hipoksemi ve nonkardiyojenik pulmoner ödem ile karakterize pulmoner disfonksiyon geliştiği bildirilmiştir [18,19]. Transplantasyon sonrası pulmoner arter re-anastomozuyla reperfüzyon sağlandığında kapiller kama basınçtan bağımsız olarak pulmoner vazokonstriksiyon ve respiravtuar disfonksiyon görülür. Benzer pulmoner disfonksiyon durumu hayvanlarla yapılan akciğer transplantasyonu çalışmalarında da gösterilmiştir [17,20-22]. Akciğer transplantasyonu sonrasında mortalite ve morbiditeyi etkileyen faktörlerin büyük çoğunluğu erken postoperatif dönemde görülen reperfüzyon hasarından kaynaklanmaktadır [17,23,24]. Yapılan çalışmalarda reperfüzyon hasarının erken dönemde tedavisinin postoperatif dönemde gelişen mortalite ve morbidite üzerinde azaltıcı etkileri bulunduğu gösterilmiştir [17,24-27].

İskemi sonrasındaki reperfüzyonda aktive nötrofiller akciğer hasarına çeşitli yollarla katkıda bulunur [28,29]. Reperfüzyon hasarındaki ilk basamağı, PNL ve serbest oksijen radikallerinin pulmoner doku içerisine göçü oluşturmaktadır [30]. Endotele yapışmış olan nötrofiller süperoksid anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen metabolitleri üreterek, direkt veya indirekt olarak pulmoner endoteli hasara uğratabilirler [29]. Nötrofillerin akciğer ve diğer organlara sekestrasyonu multisistem organ yetmezliği gelişiminde önemli bir basamaktır [31,32]. Degranülasyona bağlı olarak nötrofiller pulmoner endotel ve parankim hücrelerini hasara uğratan elastaz ve diğer proteazları serbestleştirirler [29,33]. Ayrıca aktive nötrofiller, aktive olmayan hücrelerden daha serttirler. Bu da onları pulmoner kapillerler boyunca ilerlerken

şekil değişikliğine daha dirençli hale getirir [28,34]. Pulmoner mikrovasküler yatakta lökosekestrasyona ilave olarak alveoler boşluklar içerisinde de inflamatuvar hücrelerin varlığı gösterilmiştir [18,35].

Akciğerler aktive nötrofillere karşı özellikle duyarlı olup, seçici olarak bu hücreleri tutarlar [36]. Bu tutulan PNL'in ileri aktivasyonu daha sonra direkt olarak tromboksan A₂ üretimini indükleyebilir, ya da indirekt olarak pulmoner parankimal tromboksan A₂ sentezine neden olarak solunum disfonksiyonuna ve permeabilite değişikliğine yol açabilir.

Pulmoner iskemi-reperfüzyon hasarının oluşmasında hiç bir hücre tipi tek başına sorumlu değildir, ancak nötrofiller bu hasarın artırılmasında major rol oynarlar. Nötrofillerin dışında monosit, makrofaj, eozinofil ve endotel hücreleri gibi diğer fagositik hücrelerin de inflamatuvar mediatörler salarak iskemi-reperfüzyon injurisinde rol aldığı bilinmektedir [37].

Beta N-asetil glukozamin'in serbestleşmesi, PNL ve makrofaj aktivasyonunun iyi bir parametresidir ve plazma düzeyleri PNL elastaza biyolojik olarak benzerlik gösterir, reperfüzyon esnasında da PNL degranülasyonun indüklediği akciğer hasarında anlamlı bir şekilde artış gösterir. Bu enzim, PNL azurofilik granüllerinde lokalizedir. Ancak sadece PNL'lere spesifik olmayıp, benzer şekilde trombosit veya makrofajlar tarafından da serbestleştirilmektedir. Plazmadaki β-NAG düzeyinin küçük bir kısmını makrofajlar serbestleştirmekte, büyük çoğunluğu ise PNL'ler tarafından salınmaktadır. Yapılan çalışmalarda iskemi reperfüzyon hasarında iskemi sonrası dönemde β-NAG düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir [29].

Çalışmamızda β-NAG ölçümleri karşılaştırıldığında her iki grupta da artış olmakla birlikte, kontrol grubuna göre N-asetilsistein grubundaki artış anlamlı derecede düşüktü. Bu durum daha önceki çalışmalarda da gösterildiği gibi N-asetilsisteinin iskemi-reperfüzyon sonrası oluşan lökosit infiltrasyonunu, dolayısıyla reperfüzyon hasarını azaltmaktadır [29,38,39].

Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan süperoksid dismutaz enzimleri, serbest oksijen radikal toksitesine karşı önemli defans mekanizmalarını oluştururlar [40]. Reperfüzyon esnasında oluşumu artan serbest radikalleri ortadan kaldırmaya yönelik SOD enzimi, toksik süperoksid radikallerinin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır [41]. Plazmada üretilen ve eritrosit hücre membranını geçebilen hidrojen peroksid ve süperoksid iyonları eritrositlerde toplanır. Kanda ve homojenize edilmiş dokuların iskemi-reperfüzyon hasarından ne düzeyde etkilendiği belirlenebilir. Biz yapmış olduğumuz bu çalışmada tüm gruplarda kan SOD düzeylerini ölçtük. SOD değerleri N-asetilsistein verilen grupta anlamlı bir şekilde direkt olarak artmıştır. Bu da N-asetilsisteinin hasara bağlı olarak oluşan serbest radikalleri temizlediğini göstermektedir.

Yapılan deneysel çalışmalarda, akciğer transplantasyonu sonrası özellikle ilk 30 dakikada kardiyak debinin azaldığı, pulmoner arter basıncının ve pulmoner vasküler direncin arttığı tespit edilmiştir [29]. Akciğerlere inflamatuvar hücrelerin akümüülasyonu ile birlikte olan, pulmoner hipertansiyon, hipoksemi ve nonkardiyojenik pulmoner ödem ile karakterize pulmoner disfonksiyon tablosu gelişmektedir. Artmış olan pulmoner arter basınçları ve pulmoner vasküler direncin, reperfüzyon hasarındaki artış ile birlikte olduğu gösterilmiştir

[17,21,29]. Yapılan çalışmalarda pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler dirençteki artış ile kardiyak debi düşmesinin engellenmesi durumunda reperfüzyon hasarında belirgin bir düzelme olduğu gösterilmiştir [21,29]. Bizim çalışmamızda da ilk 30 dakika sonucunda kardiyak debi kontrol grubunda iskemi öncesi döneme göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış bulundu. N-asetilsistein grubunda ise iskemi öncesi döneme göre düşüş anlamlı değildi. Tüm dönemlerde elde edilen değerler karşılaştırıldığında N-asetilsistein grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti.

Pulmoner arter basınçları ve PVR değerlerinde kontrol grubunda iskemi öncesi döneme göre gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı idi. N-asetilsistein grubunda ise iskemi öncesi döneme göre artış olmakla birlikte kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüklük mevcuttu. Akciğer transplantasyonu sonrasında alveolo-arteriyel oksijen farkında belirgin artış olduğu yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Bu fark genelde reperfüzyonun başlangıcından 30 dakika sonrasındaki ölçümlerde göze çarpmaktadır [17,29]. Bizim çalışmamızda A-aDO₂ değerleri her iki grupta da artmış olmasına karşın, N-asetilsistein grubundaki artışlar kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. N-asetilsistein etkin bir antioksidan maddedir ve hücre içi sülfhidrid birikimine sebep olup indirgenmiş glutatyonun öncü maddesi olarak rol oynamaktadır. Düşük moleküler ağırlıklı bileşik olan N-asetilsistein, glutatyon prekürsürüdür. Glutatyon stoklarını yeniden doldurmakta, süperoksid-dismutaz aktivitesini arttırmakta, hidroksil radikallerini azaltmakta ve otokatalitik lipid peroksidasyonunu engellemektedir [15,42]. Glutatyon serbest oksijen radikallerinin etkilerine karşı santral bir rol oynamakta, iskemik dokuda intrasellüler olarak çoğalıp reperfüzyon esnasında serbest oksijen radikallerinin destrüktif etkilerini azaltmaktadır [15]. Başlangıçta ideal bir mukolitik olarak kullanılan bu ajan üzerinde in vivo olarak yapılan çalışmalarda N-asetilsisteinin T lenfosit koloni üretimi ile lenfoproliferasyon regülasyonunu sağladığı, kemotaksis ve oksijen ara ürünlerini azaltarak makrofajlar ve PNL'lerin davranışlarına olumlu etkileri olduğunu bildirir sonuçlar elde edilmiştir [43]. Antioksidan ve immün modülatör özellikleri göz önünde bulundurularak klinik uygulamalarda oksidatif stres, akut ve kronik bronşit, akut respiratuvar distress sendromu ve bazı kardiyovasküler hastalık durumlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [36,38]. Son dönemlerde yapılan çalışmalarda da akciğer veya diğer organ hasarlarına bağlı gelişen akciğer reperfüzyon hasarının tedavisinde N-asetilsistein uygulanmasının faydalı etkilerinin olduğu histolojik ve biyokimyasal çalışmalarla gösterilmiş, kardiyak fonksiyonlar üzerinde reperfüzyon sonrasında gözlenen kardiyak debi azalmasını, pulmoner arter basınç ile vasküler direnç artışlarını engellediği gözlenmiştir [15,43-46]. Yaptığımız literatür taramalarında, şimdiye kadar N-asetilsistein akciğer transplantasyonu esnasında oluşan, iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlamadığımız için elde ettiğimiz olumlu verileri karşılaştıracak kesin veriler bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, N-asetilsisteinin reperfüzyon hasarını önlemesi doku içerisinde doğrudan veya dolaylı yollarla toksik etkileri olan nitrik oksid, doku peroksidasyon ürünlerinin oluşumunu ve nötrofil aktivasyonuna bağlı olarak serbestleşen β-NAG düzeylerini azaltmak yoluyla olmaktadır. Ayrıca serbest radikal giderici özelliği ile de vücuttaki antioksidan enzimleri

arttırarak reperfüzyon sonrasında görülen kardiyak ve pulmoner fonksiyonlardaki bozulmayı engellemektedir.

Kaynaklar

1. Siegelman SS, Sinha SBP, Veith FJ. Pulmonary reimplantation response. *Ann Surg* 1973;177:30-6.
2. Guiseppe S, Sonia R, Micaela B, Gianloza P. Influence of acetylcysteine on aggravation of ischemic damage in ex vivo hearts of rats exposed to hyperbaric oxygen. *Arzneim Forsch Drug Resp* 1997;6:710-7.
3. Prop JM, Ehrie MG, Crabo JD. Reimplantation response in isograft rat lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984;87:702-11.
4. Trummer MJ, Commander MC, Christiansen KH. Radiographic and functional changes following autotransplantation of lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1965;49:1006-14.
5. Wagner OA, Edmunds LH, Heilborn DC. Vascular pressure flow relationships in denervated and reimplanted lungs of dog. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966;63:1534-8.
6. Rhodes RS, DePalma RG. Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycaemia in hemorrhagic shock. *Surg Gynecol Obstet* 1980;150:347-52.
7. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Brit Surg* 1994;81:637-47.
8. Blumenstock DA, Hechtman H, Collins JA. Preservation of the canine lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1962;44:771-5.
9. Jianping S. Ischemia, reperfusion and no-reflow phenomenon. In: Svensson LG, Crawford ES, eds. *Cardiovascular and Vascular Disease of The Aorta*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997:194-218.
10. Welles SL, Shepro D, Hechtman HB. Eicosanoid modulation of stress fibres in cultured bovine endothelial cells. *Inflammation* 1985;9:549-56.
11. Seekamp A, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *Agents Actions Suppl* 1993;41:137-52.
12. Labbe R, Lindsay T, Walker PM. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia. *J Vasc Surg* 1987;6:152-7.
13. Anner H, Kaufman RP, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Reperfusion of ischemic lower limbs increases pulmonary microvascular permeability. *J Trauma* 1988;28:607-10.
14. Yogesh T. Effect of N-acetylcysteine on myocardial infarct size following ischemia and reperfusion in dogs. *Indian J Physiol Pharmacol* 1998;42:50-6.
15. Vecchiorelli A, Dotterini M, Pietrella D. COPD in patient N-acetylcystin with macrophage activation. *Chest* 1994;105:806-11.
16. Durak I, Yurtarslanı Z, Canpolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium reduction. *Clin Chim Acta* 1993;214:103-4.
17. Punch J, Rees R, Cashmer B, Oldham K, Wilkins E, Smith D. Acute lung injury following reperfusion after ischaemia in the hind limbs of rats. *J Trauma* 1991;31:760-7.
18. Klausner JM, Anner H, Paterson IS, et al. Lower torso ischaemia-induced lung injury is leukocyte dependent. *Ann Surg* 1988;208:761-7.
19. Anner H, Kaufman RP, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pulmonary leukosequestration induced by hindlimb ischemia. *Ann Surg* 1987;206:162-7.
20. Naoki T, Susumo O, Toshihiro O. The effects of a neutrophil elastase inhibitor and neutrophil depletion using a granulotrop Column on lung reperfusion injury in dogs. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:637-45.
21. Dwenger A, Schweitzer G. Bronchoalveolar lavage fluid and plasma protein, chemiluminescence response and protein contents of polymorphonuclear leucocytes from blood and lavage fluid in traumatized patients. *J Clin Chem Biochem* 1986;24:73-88.
22. Sunose Y, Takeyoshi I, Ohwada S, Iwazaki S, Aiba M. Effects of FR 167653 on ischemia-reperfusion injury in canine lung transplantation. *Transplantation Proceedings* 2000;32:2435-6.
23. Masaaki A, Izumi T, Yutaka S. FR 167653 ameliorates pulmonary damage in ischemia-reperfusion injury in a canine transplantation model. *J Heart Lung Transplant* 2000;19:879-86.
24. Steven M, Curtis G, Stewart M. Pulmonary macrophages are involved in reperfusion injury after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1134-9.
25. Steven M, Curtis G, Stewart M. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;121:1069-75.
26. Yutuka S, Izumi I, Hirofumi T. Effect of cyclooxygenase 2 inhibitor, FK 3311, in a canine lung transplantation model. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1165-72.
27. Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Pattern of injury and role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung. *J Surg Res* 1995;58:713-8.
28. Ward Pa, Till GO, Warren IS. Pathophysiology of leukocyte-mediated tissue injury. *J Crit Care* 1991;6:112-6.
29. Demertzis S, Langer F, Graeter T, Dwenger A. Amelioration for lung reperfusion injury by L and E selectin blockade selektin. *Eur J Cardio Thorac Surg* 1999;16:174-80.
30. Xing Z, Kirpalani H, Torry D, Jordane M, Gaudie J. Polymorphonuclear leukocytes as a significant source of tumour necrosis factor-a in endotoxin challenged lung tissue. *Am J Pathol* 1993;143:1009-15.
31. Strieter RM, Kasahara K, Allen RM. Cytokine-induced neutrophil-derived interleukin-3. *Am J Pathol* 1992;141:397-407.
32. Baird BR, Cheronis JC, Sandhaus RA, Berger EM, White CW, Repine JE. Oxygen metabolites and neutrophil elastase synergistically cause edematous injury in isolated rat lungs. *J Apply Physiol* 1986;61:2224-9.
33. Gee MH, Albertine KH. Neutrophil-endothelial cell interactions in the lung. *Annu Rev Physiol* 1993;55:227-48.
34. Bondo K, Tago M. Oxygen free radical scavenger to prevent pulmonary reperfusion injury after heart-lung transplantation *J Heart Transplant* 1989;8:330-6.
35. Anner H, Kaufman RP, Kobzik L. Pulmonary hypertension and leucoquestration after lower torso ischaemia. *Ann Surg* 1987;206:642-8.
36. Yogesh T, Hegde BM. Effect of N-acetylcysteine on myocardial infarct size following ischemia and reperfusion in dogs. *Indian J Physiol Pharmacol*

- 1998;42:50-6.
37. Klausner JM, Paterson IS, Mannick JA, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Reperfusion pulmonary edema. *JAMA* 1989;261:1030-5.
 38. Spapen H, Zhang H, Demanet C. Does N-acetylcysteine influence cytokine response during early human septic shock. *Chest* 1998;113:1616-24.
 39. Nickander KK, McPee BR, Low AP, Tritschler H. Alpha lipoic acid: Antioxidant potency against lipid peroxidation of neural tissues in vitro and implications for diabetic neuropathy. *Free Rad Biol* 1996;21:631-9.
 40. Ruben Z, Katelijne E.M, Arnold G.H. The protective role of thiols against nitric oxide-mediated cytotoxicity in murine macrophage J774 cells. *European J. Pharmacology* 1997;321:87-96.
 41. Akgül E. Tip II diabetes mellituslu hastalarda oksidan ve antioksidan mekanizmaların incelenmesi. Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, 1996.
 42. Salvatore C, Giuseppina C, Emanuela M. Protective effect of N-acetylcysteine on multiple organ failure induced by zymosan in the rat. *Crit Care Med* 1999;27:1524-32.
 43. Avi A, Yoram K, Ron Ben A, Itzhak S. Lung precondition with N-acetylcysteine Prevents reperfusion injury after liver no flow–reflow: A dose response study. *Biochemistry* 1984;222:1-15.
 44. Jan S, Jiri K, Milan V. Cardioprotective effects of N acetylcystein. The reduction in the extent of infarction and occurrence of reperfusion arrhythmias in the dog. *International J Cardiol* 1990;28:191-6.
 45. Simon S, Cassie R, Susan P. Managing patients with acute myocardial ischemia and reperfusion injury with N acetylcysteine. *Dimensions of critical care nursing*. 1997;3:122-31.
 46. Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.