

## Deneysel iskemi reperfüzyon modelinde, etil pirüvat uygulamasının sonuçları

*Results of ethyl pyruvate application in an experimental ischemia reperfusion model*

İslam Kaklıkkaya,<sup>1</sup> Ümit Menteşe,<sup>1</sup> İsmail Koramaz,<sup>1</sup> Gökalep Altun,<sup>1</sup>  
Ahmet Menteşe,<sup>2</sup> Yavuz Çakıroğlu,<sup>1</sup> Fahri Özcan<sup>1</sup>

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>Kalp ve Damar Cerrahi Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Biokimya Anabilim Dalı, Trabzon

**Amaç:** Bu çalışmada, deneysel iskemi-reperfüzyon (I/R) modelinde kullanılan etil pirüvat uygulamasının kan ve doku örneklerindeki malondialdehit (MDA) seviyeleri ve etkileri belirlendi.

**Çalışma planı:** Otuz iki Sprague Dawley cinsi 200-250 g ağırlığında dişi sıçan, sekizerli dört gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla grup 1; sham grubu, grup 2; etil pirüvat verilen sham grubu, grup 3; I/R grubu (kontrol grubu), grup 4; etil pirüvat verilen I/R grubu (çalışma grubu) idi. İskemi-reperfüzyon gruplarında üç saat iskemi ve iki saat reperfüzyon uygulandı. Deney başlangıcından beş saat sonra her bir gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi, kan ve akciğer doku örnekleri alındı, MDA seviyeleri ölçüldü.

**Bulgular:** Plazma MDA seviyeleri ve akciğer dokusu MDA seviyeleri grup 4'te, grup 3'e göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırasıyla, p=0.016 ve p=0.039).

**Sonuç:** Sonuçlarımız, etil pirüvatın, iskemi ve reperfüzyon sonucu oluşan akciğer hasarına karşı koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir. Etil pirüvatın klinik tedavide kullanımını için farklı dozlarda ve daha farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinde çeşitli organ (akciğer, böbrek, karaciğer, kalp gibi) hasarları üzerlerine olan etkileri ile ilgili ileri deneysel ve klinik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Hayvan deneyi; etil pirüvat; iskemi reperfüzyon hasarı; malondialdehit; 2-oxopropionat.

**Background:** This study sought to determine the effects of ethyl pyruvate application on malondialdehyde (MDA) levels of blood and tissue samples from experimental ischemia/reperfusion (I/R) models.

**Methods:** Thirty-two Sprague Dawley type female rats weighing 200-250 g were divided into four groups, of eight rats. Group 1 was the sham group; group 2, ethyl pyruvate in the sham group; group 3, the I/R group (control group), and group 4, ethyl pyruvate in the I/R group (study group), respectively. The I/R groups underwent three hours ischemia and two hours reperfusion. Five hours from the beginning of the experiment, the rats in each group were sacrificed and blood and lung tissue samples were taken and MDA levels were measured.

**Results:** Plasma MDA levels and lung tissue MDA levels in group 4 were significantly lower than in group 3 (p=0.016 and p=0.039 respectively).

**Conclusion:** Our results support the protective effect of ethyl pyruvate against lung damage caused by ischemia and reperfusion. Further experimental and clinical trials are recommended to determined the clinical use of ethyl pyruvate, therapeutic doses, and different periods of ischemia and reperfusion, and effects on various organs (lung, kidney, liver, heart, etc.).

**Key words:** Animal experiment; ethyl pyruvate; ischemia reperfusion damage; malondialdehyde; 2-oxopropionat.

Abdominal aort cerrahisinde; aortun klemplenmesi iskemi oluştururken, aortik klempin kaldırılması sonrası aniden alt ekstremitelere dolaşımın yeniden sağlanması reperfüzyon hasarını başlatır ve bu fenomen iskemik reperfüzyon (I/R) hasarı olarak tanımlanır.<sup>[1]</sup>

İskemi-reperfüzyon hasarı oluşumunda serbest oksijen radikalleri (SOR) önemli bir yer tutar.<sup>[2,3]</sup> Serbest

oksijen radikalleri, reperfüze olan dokunun oksijenasyonu sonucu moleküler oksijenin hücre içinde oksidatif enzimler tarafından indirgenmesi ile oluşur. Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren yapılardır.<sup>[4]</sup>

En önemli üç serbest oksijen radikali; süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ve hidroksil

iyonlarıdır (OH<sup>-</sup>). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı Ca<sup>2+</sup> birikimine yol açar.<sup>[5]</sup> Hücre membranı disfonksiyonu da, hücre şişmesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır.<sup>[6-8]</sup>

Pirüvat, 2-oxopropionat'ın (CH<sub>3</sub>COCOOH) genel kullanımındaki adıdır. Pirüvat, pirüvatkinaz enziminin katalizlenen glikolitik yolun son ürünüdür. Pirüvatın, hücre içinde antioksidan görevi vardır. Etil pirüvat umut veren antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajandır. Pirüvatın, kalsiyum ve potasyum içeren dengeli bir solüsyonda; Ringer's etil pirüvat solüsyonu (REPS) bozulmadan ve etkinliğini kaybetmeden uygulanabildiği bildirilmiştir.<sup>[9]</sup>

Bu çalışmada İ/R hasarını göstermede kullanılan MDA seviyelerinin kan ve doku örneklerinde ölçülerek ve etil pirüvat kullanımı ile İ/R'nin neden olduğu hasarların ne derece azaldığını gösterilmesi ile literatüre katkıda bulunmayı planladık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındıktan sonra, KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen, aynı laboratuvarda yetiştirilmiş ve randomize olarak seçilmiş olan Sprague Dawley türü 32 dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar her bir grupta sekiz sıçan olacak şekilde dört gruba ayrıldı: Grup 1'e (sham grubu) sadece laparotomi yapıldı ve beş saat sonra kan ve doku örnekleri alındı; grup 2'ye etil pirüvat verilip sadece laparotomi yapıldı ve beş saat sonra kan ve doku örnekleri alındı; grup 3'e (kontrol grubu) laparotomi yapıldı, abdominal aorta üç saat boyunca klempe konuldu, iki saat reperfüzyon sağlandıktan sonra kan ve doku örnekleri alındı; grup 4'e (çalışma grubu) ise etil pirüvat verilip laparotomi yapıldı ve abdominal aorta üç saat boyunca klempe konuldu, iki saat reperfüzyon sağlandıktan sonra kan ve doku örnekleri alındı.

Standart deney hayvanları laboratuvar koşulları ve 12 saatlik açlık süresi sonrası sıçanlara intramusküler olarak 50 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin verilerek genel anestezi uygulandı. Tüm sıçanlar sağ juguler venden 24G venöz kanül ile kanülide edilerek, 4 ml/kg/serum fizyolojik infüze edildi. İşlem süresince sıçanların solunumları spontan olarak devam ettirildi. Bütün sıçanlarda abdomen temizliği yapıldıktan sonra göbek üstü ve altı median laparotomi yapıldıktan sonra aort eksplorasyonu sağlandı (Şekil 1).

Grup 1'deki sıçanlarda sadece laparotomi yapıldı ve beş saat sonra kan örnekleri alındı ve abdominal aorta kanatılarak ötenazi uygulanıp, akciğerlerinden doku örneği alındı. Grup 2 ve grup 4'e etil pirüvat, işlem öncesi ve 4 ml/kg dozunda (Sigma-Germany), tek doz olarak, işlem öncesi sağ juguler venden yerleştirdiğimiz, 24G venöz kanül yolu ile verildi. Grup 2'deki sıçanlara etil pirüvat verilip sadece laparotomi yapıldı, beş saat sonra kan örnekleri alındı ve abdominal aorta kanatılarak ötenazi uygulanıp akciğerlerinden doku örneği alındı. Grup 3'deki sıçanlarda laparotomi yapıldı ve abdominal aorta üç saat süre ile klempe konuldu daha sonra klempe açıldı iki saat boyunca reperfüzyona maruz bırakıldı ve kan örnekleri alındı, abdominal aorta kanatılmak sureti ile ötenazi uygulanıp akciğerlerinden doku örnekleri alındı. Grup 4'deki sıçanlara da etil pirüvat verildi ve laparotomi yapıldı, abdominal aorta üç saat süre ile klempe konuldu daha sonra klempe açılıp iki saat boyunca reperfüzyona maruz bırakıldı ve kan örnekleri alındı abdominal aorta kanatılarak ötenazi uygulanıp akciğerlerinden doku örneği alındı. Abdominal aort bifurkasyonunda, bulldog klempe ile aort oklüzyonu işlemi yapıldı.

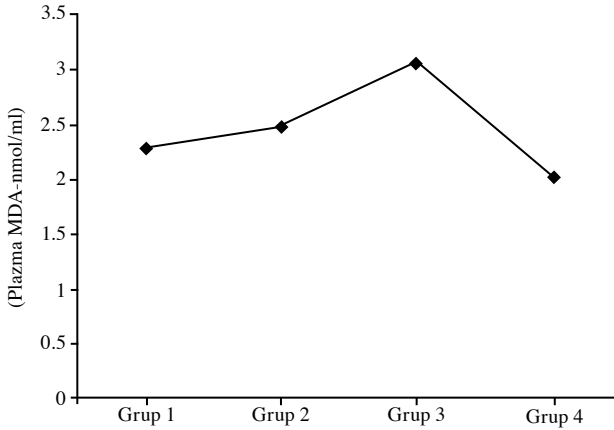
Sıçanlardan elde edilen akciğer ve plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 C°'de saklandı. Akciğer dokularında MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama<sup>[10]</sup> tarafından geliştirilen yöntem ile tayin edildi. Plazma örneklerinde MDA miktarı Yagi<sup>[11]</sup> tarafından geliştirilen, TBARS (Tiobarbituric acid reactive substance) yöntemi kullanılarak, tayin edildi. Lipid peroksidasyon ürünü MDA ile tiyobitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürikasit ile reaksiyona girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungstik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

## İstatistiksel analiz

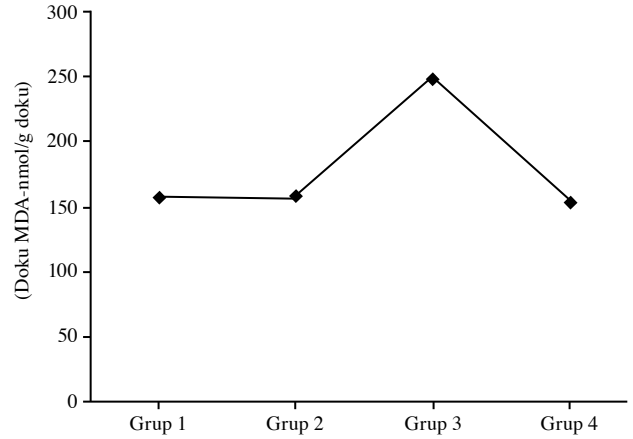
Grupların MDA seviyelerinin değerlendirilmesinde istatistiksel yöntem olarak ANOVA testi ve Bonferroni



Şekil 1. Sıçan abdominal aortunun klempe edilmesi.



Şekil 2. Plazma malondialdehit seviyeleri. MDA: Malondialdehit.



Şekil 3. Doku malondialdehit seviyeleri. MDA: Malondialdehit.

Post-hoc testi uygulandı. Dört grup da parametrik koşulları sağladığından MDA düzeylerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı. Post-hoc ikili karşılaştırmalar için Bonferroni testi kullanıldı.

## BULGULAR

Plazma MDA seviyeleri ortalama olarak, grup 1'de  $2.32 \pm 0.204$ , grup 2'de  $2.48 \pm 0.242$ , grup 3'de  $3.08 \pm 0.539$ , grup 4'de ise  $2.04 \pm 1.08$  olarak tespit edildi. Bizim çalışmamızda grup 3'de plazma MDA seviyeleri, grup 1'e göre yüksek bulundu (Şekil 2).

Gruplar karşılaştırıldığında, plazma MDA seviyeleri etil pirüvat verilip İ/R oluşturulan grup 4'de, grup 3'e göre, anlamlı derecede düşük bulundu ( $p < 0.05$ ; Tablo 1).

Doku MDA seviyeleri ortalama olarak, grup 1'de  $157 \pm 23$ , grup 2'de  $157 \pm 20$ , grup 3'de  $248 \pm 23$ , grup 4'de  $153 \pm 21$  olarak ölçüldü. Çalışmamızda etil pirüvat verilmeden İ/R oluşturduğumuz grup 3'de akciğer dokusu MDA seviyeleri, grup 1'e göre yüksek bulundu (Şekil 3).

Akciğer dokusu MDA seviyeleri etil pirüvat verilip iskemi-reperfüzyon oluşturulan grup 4'de, grup 3'e göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p < 0.05$ ; Tablo 2).

## TARTIŞMA

Bir organın arteriyel kan akımının kısmen veya tamamının kesilmesi sonucu oluşan tablo iskemi, kan akımının tekrar normale dönmesi reperfüzyon ola-

rak bilinir. İskemi ve reperfüzyon sırasında, iskemiye maruz kalan bölgenin yanında (lokal hasar), uzak organ ve dokularda da hasar oluşur. Bu hedef organlardan bir kısmı akciğer, karaciğer, böbrek, miyokard gibi hayati önem taşıyan organlardır.<sup>[12]</sup> Bu uzak organlar arasında en çok etkilenen akciğerdir.<sup>[13]</sup> Özellikle alt ekstremitte İ/R dönemi sonrası meydana gelen uzak organ hasarında akciğerler hedef organ konumundadır ve klinikte büyük önemi vardır.<sup>[14]</sup> Akut alt ekstremitte İ/R dönemi sonrası meydana gelen akciğer hasarı önemli derecede ameliyat sonrası morbidite ve mortaliteye neden olur.

İskemi-reperfüzyon dönemi sonrasında meydana gelen akciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Plazmada ve dokuda artmış çeşitli sitokinler interlökin 6 (IL-6), interlökin 8 (IL-8), tümör nekrozu faktörü (TNF), aktive edici faktör (platelet-activating factor; PAF), SOR, eicosonaid, lökotrien salınımı gibi birçok mekanizma bildirilse de, bu konuda kesin bir konsensus oluşturulamamıştır.<sup>[15-18]</sup> Hasarı başlatan mekanizma ne olursa olsun sonuç olarak artmış polimorfonükleer lökosit (PMNL) aktivitesi, kemoatraksiyonu ve infiltrasyonu en sonunda PMNL degranülasyonuna neden olur. Degranülasyon sonrası artan SOR'ler ve proteazlar akciğer endotel hasarına ve buna bağlı olarak pulmoner kapiller permeabilite artışına neden olur.<sup>[18,19]</sup>

İskemi-reperfüzyon dönemi sonrasında meydana gelen akciğer hasarının azaltılmasında aprotinin,

Tablo 1. Grupların karşılaştırılmasındaki plazma malondialdehit p değerleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Grup 1		1.0	0.137	1.0
Grup 2	1.0		0.415	1.0
Grup 3	0.137	0.415		0.016 *
Grup 4	1.0	1.0	0.016 *	

\*:  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 2. Grupların karşılaştırılmasındaki doku malondialdehit p değerleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Grup 1		1.0	0.052	1.0
Grup 2	1.0		0.053	1.0
Grup 3	0.052	0.053		0.039 *
Grup 4	1.0	1.0	0.039 *	

\*:  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı.

prostosiklin, L-Arginin, takrolimus, askorbik asit gibi maddelerin etkinliği gösterilmiş, ama klinik uygulamada bu maddeler rutin olarak kullanılmamaktadır.<sup>[20-23]</sup> Ayrıca İ/R'nin neden olduğu lokal ve uzak organ hasarına karşı birçok ajanın koruyucu etkinliğini araştıran çalışmalar yapılmıştır.<sup>[24,25]</sup>

Pirüvat, glikoz metabolizmasının önemli bir medyatördür ve alfa-keto karboksilat yapısı pirüvata antioksidan özelliği verir; peroksidaz ve peroksinitriti nötralize eder. Pirüvat ve etanoldan sentezlenen etil pirüvat, kalsiyum ve potasyum ile etkileşim içinde REPS'de stabildir.<sup>[26]</sup> Kalsiyum ve potasyum içeren dengeli solüsyonda stabil olmasının yanında aynı zamanda nontoksiktir.<sup>[27]</sup> Etil pirüvatın endojen metabolitlere yakın benzerliği, hayvanlarda güvenli profilleri göz önüne alındığında insanlara zararlı olması muhtemel değildir ve yemek eki olarak yaygın kullanılmaktadır. Dahası bu ajan Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (Food and Drug Administration; FDA) genel olarak güvenli bileşikler listesindedir.<sup>[28]</sup>

Etil pirüvat, birçok çalışmada gösterilmiş antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir.<sup>[29]</sup> Ancak literatürde etil pirüvatın, alt ekstremitte İ/R'nin neden olduğu akciğer hasarı üzerine etkisi hakkında bir çalışmaya rastlanmadı, bu çalışma bu konuda ilk çalışmadır. Etil pirüvat; İ/R'nin indüklediği hasardan, sitokinlerden, SOR'den miyokardiyal, renal, intestinal, hepatik dokuları korur. Bu faydalı etkileri, SOR'yi temizleme, IL-1, IL-6, cytochrome c oxidase subunit II (Cox-2), TNF-alfa, macrophage migration inhibitory factor (MIF), high mobility group box 1 (HMGB1) üretimlerini önlemeye ve eş zamanlı olarak antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 üretimini artırmasına bağlıdır.<sup>[30]</sup> Birçok araştırmacı hayvan modellerinde etil pirüvat tedavisi ile miyokardiyal, intestinal, hepatik, İ/R'nin indüklediği organ hasarı ve disfonksiyonunu iyileştirdiğini bildirmiştir.<sup>[31-33]</sup> Literatürde ilk kez oftalmolojide uygulanan etil pirüvatın İ/R'nin indüklediği lens hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu görülmüş ayrıca endotoksemik sepsis ve hemorajik şok modelinde etil pirüvatın sitoprotektif etkili olduğu öne sürülmüştür.<sup>[34]</sup>

Bizim çalışmamızda akciğer dokusu MDA seviyeleri, etil pirüvat verilmeden İ/R oluşturduğumuz grup 3'de grup 1'e göre yüksek bulundu (Şekil 3). Akciğer dokusu MDA seviyeleri, etil pirüvat verilerek İ/R oluşturulan grup 4'de ise grup 3'e göre önemli derecede düşük bulundu (Tablo 2). Aynı şekilde plazma MDA seviyeleri grup 3'de, grup 1'e göre yüksek bulundu (Şekil 2). Plazma MDA seviyeleri ise, grup 4'de, grup 3'e göre önemli derecede düşük bulundu (Tablo 1).

Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir

nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı Ca<sup>2+</sup> birikimine yol açar.<sup>[5]</sup> Hücre membranı disfonksiyonu da, hücre şişmesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır.<sup>[6-8]</sup> Plazma MDA ve doku MDA seviyeleri serbest radikallerin bir indikatörü olarak ölçülür.<sup>[35]</sup>

Bu çalışmanın sonuçlarına göre etil pirüvatın, alt ekstremitte İ/R'ye bağlı akciğerlerde lipid peroksidasyonunu azalttığı ve buna bağlı akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğunu düşünüyoruz. Plazma ve doku MDA seviyelerindeki belirgin düşüş lipid peroksidasyonunun azaldığını göstermektedir. Hücre membranlarında bulunan lipidlerin peroksidasyonuna neden olan oksidanların etkisinin etil pirüvat verilmesi ile azaldığını gösteren bu sonuç etil pirüvatın antioksidan etkisini destekler niteliktedir.

Tüm bunlara genel olarak bakacak olursak İ/R'nin neden olduğu akciğer hasarında SOR'nin, inflamatuvar medyatörlerin, PMNL'lerin etkili olduğu bilinmektedir. Etil pirüvat ile İ/R'nin neden olduğu akciğer hasarının azaldığını gösteren sonuçlarımıza göre, etil pirüvat İ/R'nin neden olduğu akciğer hasarını oluşturan mekanizmaların bir veya daha fazlasını ters yönde etkilemiş görünmektedir. Bu oksidan ve inflamatuvar mekanizmaları ters yönde etkilemiş olması etil pirüvatın antioksidan veya antiinflamatuvar olduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma etil pirüvatın, alt ekstremitte İ/R'nin neden olduğu uzak organ hasarlarına karşı, koruyucu etkilerinin varlığına ilişkin yapılacak yeni çalışmalara ışık tutmakla beraber, ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **Çıkar çakışması beyanı**

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanmasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

#### **Finansman**

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Pararajasingam R, Weight SC, Bell PR, Nicholson ML, Sayers RD. Prevention of renal impairment following aortic cross-clamping by manipulation of the endogenous renal nitric oxide response. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19:396-9.
2. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984;222:1-15.
3. Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1991;71:1185-95.

4. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2000;28:1456-62.
5. Kaçmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Ozkan S, Sener G. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *J Gastrointest Surg* 2004;8:113-9.
6. Okutan H, Savas C, Delibas N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2004;3:519-22.
7. Bozkurt AK. Deneysel iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde pentoksifillinin rolü. *Damar Cer Derg* 2001;3:101-4.
8. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997;43:1209-14.
9. Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent. *J Intern Med* 2007;261:349-62.
10. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978;86:271-8.
11. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984;105:328-31.
12. Berkan Ö, Yıldız E, Gökçe G, Koyuncu A, Ayan S, Köylüoğlu G ve ark. İskemik preconditioning yönteminin aortik kros klemp sonrası ortaya çıkan organ hasarlarını önlemedeki rolü. *Damar Cer Derg* 2005;14:15-20.
13. Ekim H, Erdoğan HB, Kutay V, Başel H, Özen S, Hazar A ve ark. Abdominal aortaya kros klemp konmasının neden olduğu iskemi/reperfüzyon hasarının akciğerlere etkisi. *Van Tıp Dergisi* 2005;12:175-78.
14. İşbir S, Akgün S, Ak K, Civelek A, Tekeli A, Çobanoğlu A, ve ark. Akut alt ekstremitte iskemi/reperfüzyon hasarının akciğer serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2000;8:629-31.
15. Fantini GA, Conte MS. Pulmonary failure following lower torso ischemia: clinical evidence for a remote effect of reperfusion injury. *Am Surg* 1995;61:316-9.
16. Groeneveld AB, Raijmakers PG, Rauwerda JA, Hack CE. The inflammatory response to vascular surgery-associated ischaemia and reperfusion in man: effect on postoperative pulmonary function. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;14:351-9.
17. Gaines GC, Welborn MB 3rd, Moldawer LL, Huber TS, Harward TR, Seeger JM. Attenuation of skeletal muscle ischemia/reperfusion injury by inhibition of tumor necrosis factor. *J Vasc Surg* 1999;29:370-6.
18. Bengisun J, Köksoy C, Bengisun JS, Bayraktaroğlu G, Camur A, Aras N. Ischemia and reperfusion injury: prevention of pulmonary hypertension and leukosequestration following lower limb ischemia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56:117-20.
19. Raijmakers PG, Groeneveld AB, Rauwerda JA, Teule GJ, Hack CE. Acute lung injury after aortic surgery: the relation between lung and leg microvascular permeability to <sup>111</sup>indium-labelled transferrin and circulating mediators. *Thorax* 1997;52:866-71.
20. Tekeli A, Akgün S, Civelek A, İşbir S, Ak K, Çobanoğlu A ve ark. Alt ekstremitte iskemi reperfüzyonu sonucunda gelişen akciğer hasarının önlenmesinde farklı bir ajan: FK 506 (takrolimus). *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2001;9:242-6.
21. Gökşin İ, Akbulut M, Baltalarlı A, Saçar M, Kaya Ş, Özcan V ve ark. Normovolemik hemodilüzyonun alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonu sonrası oluşan akciğer hasarı üzerine olan etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2006;14:54-8.
22. Şirin H, Sarıbülbül O, Cerrahoğlu M, Aksoy Ö, Baltalarlı A, Saçar M. Alt ekstremitte iskemi reperfüzyonunun yol açtığı pulmoner hasarda aprotininin koruyucu etkinliği. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2001;9:233-7.
23. Berkan Ö, Katrancıoğlu N, Günay İ, Yıldız E. Alt ekstremitte iskemi reperfüzyona bağlı gelişen akciğer hasarında askorbik asidin etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2001;9:238-41.
24. Bolcal C, Yildirim V, Doganci S, Sargin M, Aydin A, Eken A, et al. Protective effects of antioxidant medications on limb ischemia reperfusion injury. *J Surg Res* 2007;139:274-9.
25. Cowled PA, Khanna A, Laws PE, Field JB, Fitrige RA. Simvastatin plus nitric oxide synthase inhibition modulates remote organ damage following skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *J Invest Surg* 2008;21:119-26.
26. Chung KY, Park JJ, Kim YS. The role of high-mobility group box-1 in renal ischemia and reperfusion injury and the effect of ethyl pyruvate. *Transplant Proc* 2008;40:2136-8.
27. Das UN. Is pyruvate an endogenous anti-inflammatory molecule? *Nutrition* 2006;22:965-72.
28. Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-dependent effects of ethyl pyruvate in mice subjected to mesenteric ischemia and reperfusion. *Intensive Care Med* 2003;29:2050-8.
29. Das UN. Pyruvate is an endogenous anti-inflammatory and anti-oxidant molecule. *Med Sci Monit* 2006;12:RA79-84.
30. Liu YQ, Jetton TL, Leahy JL. beta-Cell adaptation to insulin resistance. Increased pyruvate carboxylase and malate-pyruvate shuttle activity in islets of nondiabetic Zucker fatty rats. *J Biol Chem* 2002;277:39163-8.
31. Bünger R, Mallet RT, Hartman DA. Pyruvate-enhanced phosphorylation potential and inotropism in normoxic and postischemic isolated working heart. Near-complete prevention of reperfusion contractile failure. *Eur J Biochem* 1989;180:221-33.
32. Cicalese L, Lee K, Schraut W, Watkins S, Borle A, Stanko R. Pyruvate prevents ischemia-reperfusion mucosal injury of rat small intestine. *Am J Surg* 1996;171:97-100.
33. Sileri P, Schena S, Morini S, Rastellini C, Pham S, Benedetti E, et al. Pyruvate inhibits hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 2001;72:27-30.
34. Taylor MD, Grand TJ, Cohen JE, Hsu V, Liao GP, Zentko S, et al. Ethyl pyruvate enhances ATP levels, reduces oxidative stress and preserves cardiac function in a rat model of off-pump coronary bypass. *Heart Lung Circ* 2005;14:25-31.
35. Yasa H, Yakut N, Emreçan B, Ergunes K, Ortac R, Karahan N, et al. Protective effects of levosimendan and iloprost on lung injury induced by limb ischemia-reperfusion: a rabbit model. *J Surg Res* 2008;147:138-42.