

KALSİYUM DOBESİLATIN İSKELET KASI İSKEMİ - REPERFÜZYON HASARINDAKİ ROLÜ

THE EFFECTS OF CALCIUM DOBESILATE ON SKELETAL MUSCLE ISCHEMIA REPERFUSION INJURY

Dr. Davit SABA, Dr. Hasan YAVUZ, Dr. Işık ŞENKAYA, Dr. Musa AĞRIŞ, *Dr. Melahat DİRİCAN, *Dr. Zehra SERDAR, **Dr. Hülya ÖZTÜRK, Dr. Ziya ÖZER, Dr. Hayati ÖZKAN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, BURSA

* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, BURSA

** Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, BURSA

Adres: Dr. Davit SABA, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 16059, Görükle / BURSA

Özet

Amaç:

Kalsiyum dobesilatın kapiller fonksiyon bozukluklarını düzelttiği, lenfatik akımı artırdığı, trombosit agregasyonu ve trombojenizi inhibe ettiği bilinmektedir. Bu deneysel çalışmada venotonik bir ajan olarak kullanılan kalsiyum dobesilatın, iskelet kasında iskemi - reperfüzyon hasarına etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metod:

Sprague - Dawley cinsi 25 rat 5 gruba ayrıldı. Grup 1'de sadece anestezi, Grup 2'de turnike yöntemiyle sağ arka ekstremiteye 4 saat iskemi uygulandı. İskemi lazer dopler ile gösterildi. Grup 3 ve Grup 4'de 5 gün süre ile oral kalsiyum dobesilat verildi. Grup 3'de 4 saat iskemi, Grup 4 ve Grup 5'de 4 saat iskemiyi takiben 2 saat reperfüzyon yapıldı. Tüm gruplarda soleus kası, akciğer ve karaciğer dokusu lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit seviyelerinin ölçümü için çıkarıldı. Serum kreatin fosfokinaz düzeyleri çalışıldı. Ayrıca histopatolojik inceleme amacıyla soleus kasından alınan doku kesitleri nitroblue tetrazolium boyası ile boyanarak oksidatif enzimlerde kullanımı gösteren menekşe renkli hücrelerin sayımı yapıldı.

Bulgular:

İlaçsız iskemi grubu ile kalsiyum dobesilat alan iskemi grubu karşılaştırıldığında, kalsiyum dobesilatlı iskemik grupta adale ve karaciğer malondialdehit düzeylerinde ve kreatin fosfokinaz düzeylerinde istatistiksel anlamlı azalma vardı ($p < 0.05$). Kalsiyum dobesilatlı iskemi - reperfüzyon ile ilaçsız iskemi - reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında, kalsiyum dobesilatlı iskemi - reperfüzyon grubunda serum kreatin fosfokinaz ve adale malondialdehit düzeylerinde anlamlı azalma görüldü ($p < 0.05$).

Sonuç:

Şu anda klinik kullanımda yalnızca oral formu bulunan ve venöz hastalıkların tedavisinde kullanılan bu ilacın iskeminin etkilerini ayrıca kladikasyonun oluşturduğu iskemi reperfüzyon hasarını azaltabileceği için kronik arteriyel iskemili hastaların tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kalsiyum dobesilat, reperfüzyon, kladikasyon intermittant

Summary

Background:

It's known that calcium dobesilate improves capillary dysfunction and lymphatic flow, inhibits thrombogenesis and thrombocytic aggregation. In this experimental study the effects of calcium dobesilate, a venotonic agent, on skeletal muscle ischemia - reperfusion injury is investigated.

Method:

Sprague-Dawley type 25 rats were divided into 5 groups. In Group 1 only anesthesia was performed. Ischemia was obtained in right lower extremity using tourniquet method in Group 2. Ischemia was documented by laser doppler. In group 3 and 4, oral calcium dobesilate was given for five days. In Group 3 four hours of ischemia, in Group 4 and 5 two hours of reperfusion following 4 hours of ischemia was performed. Soleus muscle, lung and liver tissues were extracted for measurement of malondialdehyde levels which is the last product of lipid peroxidation. Serum creatine phosphokinase levels were also studied. In addition, tissue samples of soleus muscle were dyed with nitroblue tetrazolium and then purple colored cells were counted in order to show the usage of oxidative enzymes.

Results:

When ischemia groups without calcium dobesilate and with calcium dobesilate were compared, in latter group there was a decrease in malondialdehyde levels of soleus muscle and liver tissues and also in serum creatine phosphokinase levels, which was statistically significant ($p < 0.05$). When comparing ischemia-reperfusion groups with and without calcium dobesilate, there was statistically significant decrease in serum creatine phosphokinase and muscular malondialdehyde levels in the former group ($p < 0.05$).

Conclusion:

Even though calcium dobesilate is available only in oral form and used in treatment of venous diseases, it can also be used in the treatment of patients with chronic arterial disease to prevent ischemia and ischemia-reperfusion injury induced by claudication.

Keywords: Calcium dobesilate, reperfusion, claudication intermittant

Giriş

İskemi - reperfüzyon (IR) hasarı, kalp, adale, karaciğer, akciğer, böbrek ve barsaklarda sık rastlanan ve ciddi patolo-

jilere yol açabilen olaylar dizisidir. Hangi organda olursa olsun I R sistemik enflamatuvar bir cevaba yol açar, iskelet kasında olduğunda ekstremitede fonksiyon kaybı ve amputasyonla sonuçlanabilir [1,2]. Hatta kardiyovasküler sistem, respiratuvar, hepatik ve renal disfonksiyonlara bağlı ölüm görülebilir [3]. İskemi - reperfüzyon hasarını açıklayabilmek amacıyla birçok hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar arasında en kabul gören mekanizma reperfüzyon anında ksantin oksidazdan üretilen hızlı serbest oksijen radikalleridir. Ayrıca kapiller düzeyde nötrofil ya da trombosit agregasyonları, hipoksik vazokonstrüksiyon, kapiller geçirgenlikte artış ve endotelde yapısal değişiklikler olduğu gösterilmiştir [4]. Bu oksidatif stresi azaltmak amacıyla vücutta geliştirilen mekanizmalar arasında katalaz ve glutatyon sistemleri sayılabilir, ayrıca iskemi ya da iskemi - reperfüzyon aşamalarında birçok ajan kullanılmıştır [5]. Kalsiyum dobessilatın kapiller fonksiyon bozukluklarını düzelttiği, serbest oksijen radikallerini azalttığı, nitrik oksit (NO) sentez ve salınımını artırdığı, endotel hücrelerinde deskuamasyonu önlediği ve bu etkilerinden dolayı venöz hastalıkların tedavisinde kullanıldığını biliyoruz [6,7]. Bu çalışmada kalsiyum dobessilatın bu etkilerinden dolayı ekstremitelerde iskemi - reperfüzyon hasarındaki rolü araştırıldı.

Materyal ve Metod

Çalışma, Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada Sprague -

Grup 1	Anestezi (kontrol)
Grup 2	Anestezi + 4 saat iskemi
Grup 3	5 gün oral Ca-dobessilat + anestezi + 4 saat iskemi
Grup 4	5 gün oral Ca-dobessilat + anestezi + 4 saat iskemi +2 saat reperfüzyon
Grup 5	Anestezi + 4 saat iskemi + 2 saat reperfüzyon

Tablo 1: Kontrol, iskemi, iskemi - reperfüzyon gruplarının

Dawley cinsi 250 - 300 gr ağırlığında dişi ratlar kullanıldı. Toplam 25 rat 5 gruba eşit şekilde ayrıldı (Tablo 1). Grup 1'de (G1 - kontrol) sadece anestezi, Grup 2 'de (G2) anestezi sonrası turnike yöntemiyle sağ arka ekstremiteye 4 saat iskemi uygulandı. Grup 3'deki (G3) ratlara 5 gün süre ile günde 2 doz halinde 50 mg/kg/gün kalsiyum dobessilat serum fizyolojik (SF) içinde sulandırılıp nazogastrik kanül ile verildi, anestezi sonrası sağ arka ekstremiteye turnike yöntemiyle 4 saat iskemi yapıldı. Grup 4'de (G4) ratlara 5 gün süre ile nazogastrik kanül ile 50 mg/kg/gün kalsiyum dobessilat günde 2 doz olarak SF ile sulandırılıp verildikten sonra, anestezi ardından sağ arka ekstremiteye turnike yöntemiyle iskemi uygulandı, sonrasında turnike açılarak sağ arka ekstremitede 2 saatlik reperfüzyona bırakıldı. Grup 5'de (G5) anesteziyi takiben sağ arka ekstremiteye turnike yöntemiyle 4 saat iskemi yapıldıktan sonra 2 saat reperfüzyon uygulandı. Anestezi oda havasında (20°C) Ketamin HCL (Ketalar) 30 mg/kg sol ön ayak adalesine intramüsküler yolla uygulanarak sağlandı. Anestezi idamesi Ketamin HCL (20 mg/kg) ile yapıldı. İskemi - reperfüzyon modeli, Hardy ve Gough'ın [8] yöntemine benzer şekilde turnike yöntemiyle yapıldı. Deneklerin sağ arka ekstremitesi kalça hizasından turnike ile sıkılarak 4 saatlik iskemi oluşturuldu. Ekstremitede perfüzyonu lazer dopler ile kontrol edildi ve iskemi varlığı ispatlandı. Reperfüzyon gruplarında, 4 saat iskemiden sonra turnike kesilerek sağ arka ekstremitede 2 saatlik reperfüzyona bırakıldı. İşlemler tamamlandıktan hemen sonra tüm deneklerde

etkilenen ekstremiteden soleus adale örneği, karaciğer ve akciğer dokusu sırasıyla çıkarılarak lipit peroksidasyonunun son ürünü olan doku malondialdehit seviyelerinin (MDA) ölçümü yapıldı. Vena kava inferiordan alınan kan örneklerinden serum kreatin fosfokinaz (CPK) düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik inceleme amacıyla soleus kasından alınan doku kesitleri nitroblue tetrazolium boyası ile boyanarak hücre içi oksidatif enzimlerin tüketimini göstermek amacıyla menekşe rengi ile boyanan hücreler ışık mikroskopunda sayıldı.

Biyokimyasal İnceleme:

Tüm deneklerin soleus kaslarında, karaciğer ve akciğer dokularında lipit peroksidasyonunu göstermek amacı ile doku malondialdehit düzeyi ölçüldü. Dokular %1.15 potasyum klorür ile homojenize edildi. Takiben %0.8'lik tiyobarbitürik asit ile 60 dakika 100°C'de bekletildikten sonra oluşan kromojen n-butonole ekstrakte edildi. Malondialdehit konsantrasyonunun hesaplanmasında molar absorbtivite katsayısı (1.56 x 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹) kullanıldı ve nmol malondialdehit / mg doku olarak ifade edildi [9].

Histopatolojik Yöntem:

Çıkarılan soleus adalesi doku örneklerine hiç bekletilmeden frozen kesit yapıldı, 5 mikron boyutundaki frozen kesitlere nitroblue tetrazolium enzim boyası uygulandı. Tetrazolium tuzları kas hücrelerindeki oksidatif enzimleri göstermek için kullanıldı. Bu tuzlar bir hidrojen alıcısı olarak rol oynamakta olup, indirgendiklerinde yani hücrede oksidatif enzimler azaldığında bu boyalarla menekşe renkli depozitler oluşmaktadır, menekşe renkli hücrelerin sayısındaki artış artan oksidatif enzim kullanımını yani reperfüzyona karşı korunmayı göstermektedir [10].

İstatiksel Yöntem:

Tüm gruplardaki sayısal verilere ait mean, median ve standart sapma değerleri bulundu. Grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. p < 0.05 değeri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Grup 2 (iskemi) ve G5 (iskemi-reperfüzyon) ile G1(kontrol) karşılaştırıldığında adale MDA ve serum CPK düzeylerinde G2 ve G5'te anlamlı bir artma saptandı, (192.2 ± 9.36 ve 202.4 ±

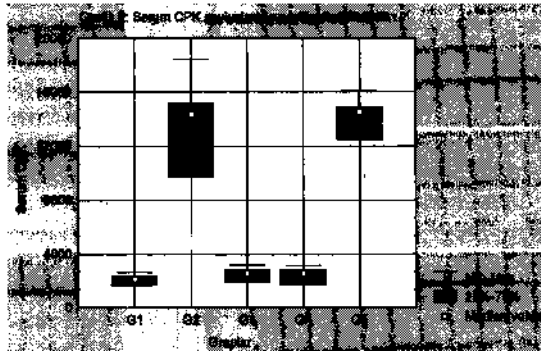
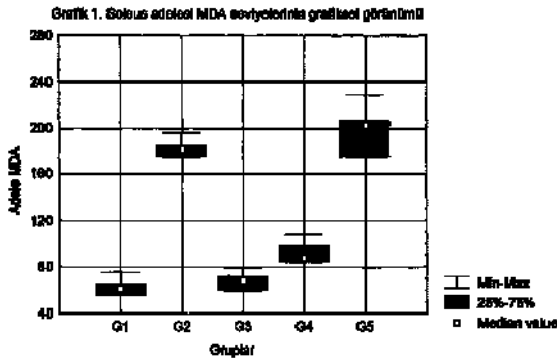
	G1	G2	G3	G4	G5
Adele MDA****	62.9±16.5	192.2±9.36	65.8±14.25	87.6±15.8	202.4±15.1
Karaciğer MDA	191±28	234.2±14.6	203.8±10.4	195.2±37.8	227.6±10
Akciğer MDA	105.2±21	124.4±13	104.2±34.97	137.0±18.6	160.8±1
Seum CPK*****	2125±465	13721.6±4393.2	2665±384.9	2669.4±334.31	13261±1379.05

Tablo 2: Kalsiyum dobessilat verilen ve verilmeyen iskemi, iskemi -

* p < 0.05 kontrol grubuna karşı anlamlı ** p < 0.05 G2 ve G3 grupları karşılaştırıldığında anlamlı, *** p<0.05 G4 ve G5 grupları karşılaştırıldığında anlamlı, **** MDA: malondialdehit (nmol/mg), ***** CPK: kreatin fosfokinaz

15.1'e karşın 62.9 ± 16.5 ile 13721.6 ± 4393.2 ve 13261 ± 1379.5'e karşın 2125 ± 465; p < 0.05) (Tablo2).

Ayrıca Grup 5'te akciğer MDA seviyesi Grup 1'e göre daha yüksekti (161.8 ± 15.1'e 105.2 ± 21 p < 0.05). Kalsiyum dobessilatlı iskemi (G3) ve kalsiyum dobessilatlı IR (G4)'te



adele MDA (Grafik 1) ve serum CPK (Grafik 2) düzeyleri kontrol grubu düzeylerine geriledi. Kalsiyum dobesilat verilmeyen ve verilen iskemi grupları (G2, G3) karşılaştırıldığında kalsiyum dobesilatlı iskemi grubunda adale, karaciğer malondialdehit düzeylerinde istatistiksel anlamlı azalma saptanırken (192.2 ± 9.36; 65.8 ± 14.25 p < 0.05, 234.2 ± 14.65; 203.8 ± 10.01 p < 0.05), akciğer malondialdehit düzeylerindeki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (124.4 ± 13.08 ile 104.2 ± 34.97 p > 0.05). Serum CPK düzeylerindeki fark ise istatistiksel olarak G3 lehine anlamlı bir azalma gösteriyordu (13721.6 ± 4393.29'e karşın 2665.0 ± 384.95; p < 0.05). Kalsiyum dobesilat verilen ve verilmeyen reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında (G4, G5), kalsiyum dobesilat verilen grupta adale malondialdehit düzeylerinde anlamlı bir azalma görülürken (87.6 ± 15.82'e karşın 202.4 ± 15.14; p < 0.05), karaciğer ve akciğer malondialdehit düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmadı (195.2 ± 37.83'e karşın 227.6 ± 10.01; p > 0.05 ile 137.0 ± 18.66'e karşın; 160.8 ± 18.71; p > 0.05), serum CPK düzeyleri arasında ise ilaç verilen grupta istatistiksel anlamlı bir azalma görüldü (2669.4 ± 334.31'e karşın 13261.4 ± 1379.05; p < 0.05) (Tablo 2).

Histopatolojik kesitlerde depozit oluşan ve oluşmayan yani menekşe ve beyaz renkli hücreler sayıldığında, iskemi ve IR

	İSKEMİ Menekşe renkli hücre sayısı (yüzde)	İSKEMİ - REPERFÜZYON Menekşe renkli hücre sayısı (yüzde)
Kalsiyum dobesilatlı grup	69.4 ± 10.66	63.4 ± 20.36
Kalsiyum dobesilatlı grup	72.6 ± 16.51	68.2 ± 16.85
Kontrol grubu	74.2 ± 15.42	74.2 ± 15.42

Tablo 3: Kalsiyum dobesilat verilen ve verilmeyen iskemi, iskemi - reperfüzyon ve kontrol gruplarının histopatolojik inceleme ile hücre sayıları

* p > 0.05 kontrol grubuna karşı anlamlı değil.
** p > 0.05 kalsiyum dobesilatlı ve ilaçsız iskemi grupları karşılaştırıldığında anlamlı değil. *** p > 0.05 kalsiyum dobesilatlı ve ilaçsız IR grupları karşılaştırıldığında anlamlı değil.

grupları kendi aralarında ve kontrol grubuna karşı kıyaslandığında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmedi (p > 0.05) (Tablo 3).

Tartışma

Akut ekstremitte iskemisini takiben ekstremitenin yeniden perfüzyonu şiddetli lokal doku hasarı ve sistemik komplikasyonları beraberinde getirmektedir. Buna bağlı ölüm oranı %25-50, amputasyon ise %15-40 olarak belirtilmiştir [11]. Bunun nedeni iskemisinin kendisinden çok reperfüzyon anında ortaya çıkan toksik metabolitlerdir. İskemi - Reperfüzyon hasarındaki temel mekanizma iskemi sonrası reperfüzyon olduğunda dokulara oksijenin ulaşması ile serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır, oluşan serbest oksijen radikalleri, hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu oluşturur ve malondialdehit seviyeleri artar [1]. Ayrıca endojen tümör nekroz faktörü (TNF), interleukin 8, elastaz, a sub I ve antitripsin seviyelerinde artış görülmesi nötrofil ve makrofaj aktivasyonuna sekonder olarak gerçekleşir [5]. Sonuçta majör organlarda mikrovasküler endotel hasarına bağlı geçirgenlik artışı, trombosit agregasyonu ve nekroz alanları oluşmaktadır. Öte yandan Hardy ve arkadaşlarının [12] akut alt ekstremitte iskemi modelinde, reperfüzyon sonunda düşük reflow'un nedeni iskemiye bağlı vazokonstriksiyon, nötrofil agregasyonu, endotel kaynaklı relaksan faktörün oksijen radikalleri tarafından ortadan kaldırılmasıdır. Bu noktada serbest oksijen radikallerinin etkisini azaltmada enzimatik temizleyicilerden süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz inhibitörleri, nonenzimatik temizleyicilerden mannitol, dimetil sulfoksit, dimetilüre ve demir şelatörleri ayrıca intraselüler antioksidan sistemlerden olipraz ve glutatyon sistemleri sayılabilir [13]. Klodikasyon intermitanltı kronik periferik tıkaçıcı arter hastalığı olan olgularda ekzersizle iskemi reperfüzyon oluştuğu, oksijen serbest radikalleri ile hastalığın seyrinin olumsuz yönde etkilendiği klinik bir çalışmayla bildirilmiştir [14]. Bu çalışmada klas IIB klodikasyon intermitanltı olgularda ayak sırtı venlerinden alınan kanda ekzersizde MDA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda kullanılan ve venotropik bir ajan olan kalsiyum dobesilatın kapiller geçirgenliği azalttığı, serbest hidroksil radikallerine karşı temizleyici rolü oynadığı, glutatyon üretimi ile antioksidan özelliği olduğu, NO sentezini arttırdığı, trombosit agregasyonunu inhibe ettiği, prostaglandin sentetazı inhibe ettiği, endotel deskvamasyonunu önlediği ve kapiller duvarı güçlendirdiği gösterilmiştir [6,7]. Ayrıca kalsiyum dobesilatın miyokard infarktüsü boyutlarını azalttığı da bildirilmiştir [15]. İlaçlı iskemili ve ilaçsız iskemili gruplar karşılaştırıldığında ilaç verilen grupta adale ve karaciğer malondialdehit düzeylerinde istatistiksel anlamlı azalma saptanırken, serum CPK düzeylerinde de istatistiksel anlamlı azalma vardı. Bu azalma kalsiyum dobesilatın iskemi aşamasında da etkili olduğunu gösteriyordu. Szlavay'ın [15] çalışmasında erken akut miyokardiyal infarktüs evresinde, kalsiyum dobesilatın lenfatik kan akımını artırarak enfarkt sahasını küçülttüğü gösterildi. Burada da benzer bir etki mekanizması düşünülebilir. Ayrıca Hardy ve Gough'un [8] çalışmasında iskemi döneminde vazokonstriksiyon olduğu ve NO fonksiyonlarının serbest oksijen radikalleri tarafından inhibe olduğu gösterilmiştir. Ancak kalsiyum dobesilat, NO sentez ve salınımını arttırdığından vazokonstriktif etkiyi önlemiş olabilir. Serum CPK seviyesi iskemide yükselmektedir ve doğrudan çizgili kas hasarını gösterir, oysa ilaçlı iskemi grubunda ilaçsız iskemi grubuna göre CPK seviyesindeki azalma, kalsiyum dobesilatın

vazokonstriktif etkiyi azalttığını ve lenfatik kan akımını artırarak iskemik adale sahasını küçülttüğünü düşündürebilir. İlaçlı iskemik reperfüzyon ve ilaçsız iskemik reperfüzyon grupları G4, G5 karşılaştırıldığında, ilaçlı grupta adale malondialdehit ve serum CPK düzeylerinde anlamlı azalmalar görülmesi kalsiyum dobesilatın reperfüzyon aşamasında da l i p i t peroksidasyonuna maruz kalmış kas dokusunda, antioksidan özelliği ve serbest oksijen radikallerine karşı temizleyici rolü üstlenerek lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi olduğunu düşündürür. Serum CPK seviyesinin revaskülarizasyon sonrası normale düşmesi 10-12 gün alabilmektedir [4]. Oysa bizim çalışmamızda ilaçlı reperfüzyon grubunda CPK seviyelerinin azalması, kalsiyum dobesilatın adale hasarını ve doku yıkımını azalttığını göstermektedir.

Akut alt ekstremitte iskemik reperfüzyonundan sonra akciğerlerde oluşan patolojilerin temelinde yatan ana etmen henüz tam olarak gösterilememiştir. Nötrofillerden oluşan reaktif oksijen metabolitleri [16], TNF-a gibi proinflatuar stokinler [17,18] bu olaydan sorumlu tutulmuştur. Akciğer miyeloperoksidaz düzeyleri ölçülen bir deneysel çalışmada, hasarın esas olarak iskemik bazında geliştiği, TNF inhibitörleri ile bu hasarın geri döndürülemediği belirtilmiştir [19]. Bizim çalışmamızda kalsiyum dobesilat verilen iskemik - reperfüzyon grubunda ilaçsız iskemik - reperfüzyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan ama sayısal olarak düşük malondialdehit düzeyleri ölçülmüştür. Yine de kalsiyum dobesilatın akciğer hasarına erken dönemde mutlak bir etkisi olmadığı ancak bu etkileşimin 24-48 saat sonraki akciğer malondialdehit seviyeleri göz önünde tutularak araştırılması gerektiği söylenebilir. Ayrıca endojen koruyucu mekanizmalar da unutulmamalıdır.

Karaciğer malondialdehit seviyeleriyle ilgili literatürden yeterli bilgi edinilememiştir. Bizim çalışmamızda kalsiyum dobesilat verilen ve verilmeyen iskemik grubunda karaciğer malondialdehit seviyeleri açısından anlamlı bir fark elde edilirken kalsiyum dobesilat verilen ve verilmeyen iskemik - reperfüzyon grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak karaciğerden yapılan histopatolojik kesitlerde iskemik ve iskemik - reperfüzyon yapılan tüm gruplarda klasik iskemik bulguları gözlenmiş olup kayda değer bir histopatolojik değişiklik saptanmamıştır. Bu da karaciğere ait iskemik ve reperfüzyon süreleri ile ilgili daha başka deneysel çalışmalarını gerekli kılmaktadır.

Adale dokusunun histopatolojik kesitlerde menekşe boyanan hücrelerin sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmediyse de ilaçsız iskemik - reperfüzyon grubuna göre kalsiyum dobesilatlı iskemik - reperfüzyon grubundaki menekşe boyalı hücrelerin sayısında bir artma gözlenmiştir. Yani oksidatif enzim miktarında kullanıma bağlı bir azalma olmuştur. Buda kalsiyum dobesilatın iskelet kasında IR'ye karşı koruyucu bir etkisi olduğunu destekleyebilir bir bulgu olabilir. Ayrıca bu organlara ait iskemik ve reperfüzyon süreleri uzatıldığında ortaya çıkacak sonuçlar için ayrı bir ç a l ı ş m a planlanabilir.

Bu çalışma ile ilgili elde edilen veriler akut arter tıkanıklığına yönelik akımın tekrar oluşturulması sonrası oluşabilecek lokal ve sistemik etkilerin azaltılmasında kalsiyum dobesilat kullanımının faydalı bir müdahale olabileceği, kronik arteriyel iskemisi olan kladikan olgularda iskemik ve egzersizle oluşan iskemik reperfüzyon hasarına karşı tedavi edici amaçla kullanılabilceği yorumunu yapabiliriz. Ayrıca ilacın parenteral formu ile benzer bir çalışmanın tekrarlanmasıyla ve

klirik çalışmalarla, kalsiyum dobesilatın, arteriel hastalıklardaki etkisi hakkında daha fazla bilgi edinilebilir.

Kaynaklar

1. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals. Arch Surg 1991;126:104-5.
2. Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, et al. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: Central role of the neutrophil. Br J Surg 1991;78:651-5.
3. Weinbroum AA, Hochhauser E, Rudick V, et al. Multiple organ dysfunction after remote circulatory arrest: Common pathway of radical oxygen species. J Trauma 1999;47:691-8.
4. Braithwaite B, Ounnes - Baldrich W, Earnshaw J. Skeletal muscle reperfusion syndrome. Hosp Update 1995;50:27-33.
5. Jeffrey T, Michael E, Garry L, et al. The role of glutamine in skeletal muscle ischemia / reperfusion injury in the rat hind limb model. Ann J Surg 1999;178:147-50.
6. Androulakis G, Panoysis PA. Pletysmographic confirmation of the beneficial effect of calcium dobesilate in primary varicose veins. Angiology 1989;40:1-4.
7. Angen F. On behalf of the Swiss study group. Efficacy and safety of calcium dobesilate in patients with chronic venous insufficiency. Curr Ther Res 1995;56:346-7.
8. Hardy SC, Gough MJ. Pharmacological manipulation of gastrocnemius muscle blood flow in an animal model of reperfusion injury. J Biomed Eng 1991;13:263-6.
9. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:351-5.
10. Bancroft JD and Stewens A, eds. Theory and Practice of Histological Techniques. New York: Churchill Livingstone, 1982:395-6.
11. Hobson II RW, Milazzo VJ, Duran WN. Pathophysiology of skeletal muscle ischemia - reperfusion injury. In Haimovici H ed. Vascular Surgery New York: Blackwell Science, 1996:497-508.
12. Hardy SC, Homer - Vanniaskinkam S, Gough MJ. The triphasic pattern of skeletal muscle blood flow in reperfusion injury: An experimental model with implications for surgery on the acutely ischaemic lower limb. Eur J Vasc Surg 1990;4:587-90.
13. Hong RW, Rounds JD, Helton WS, et al. Glutamine preserves liver glutathione after hepatic injury. Ann Surg 1992;215:114-9.
14. Diamantopoulos EJ, Dionisios C, Georgopoulos V, et al. Oxygen free radicals and the effect of a free radical scavenger in patients with intermittent claudication. Vasc Surg 2000;34:167-74.
15. Szlavy L, Repa I, Lengye I, et al. Effects of intravenous streptokinase and CLS 2210 (Calcium Dobesilate) on the biochemical markers of early acute myocardial infarction: A historic comparison with both studies. Angiology 1992; 43:741-7.
16. Windsor ACJ, Mullen PG, Fowler AA, et al. Role of neutrophil in adult respiratory distress syndrome. Br J Surg 1993;80:10-7.
17. Seekap A, Warren JS, Remick DG, et al. Requirements for tumor necrosis factor - alpha and interleukin - 1 in limb ischemia -reperfusion injury and associated lung injury. Am J Pathol 1993;143:453-63.
18. Tassiopoulos AP, Carlin RE, Gao Y, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by

- ischemia / reperfusion of the lower extremities. J Vasc Endovasc Surg 1997;26:647-56.
19. Gaines GC, Welborn BM III, Moldawer LL, et al. Attenuation of skeletal muscle ischemia / reperfusion injury by inhibition of tumor necrosis factor. J Vasc Surg 1999;29:370-5