

## Sıçan Modelinde Uzak İskemik Önkoşullamanın Akciğerdeki İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkileri \*

Hasan Akkoç\*, İlker Kelle\*, Ebru Kale\*\*\*, Nihal Kılınç\*\*\*\*

### ÖZET

*Bir organ veya dokunun iskemi ve reperfüzyonu ile oluşturulan önkoşullama, başka bir arterin beslediği organ veya dokuyu önkoşullayarak koruyucu etki gösterebilir. Bu durum uzak iskemik önkoşullama olarak adlandırılır. Biz de çalışmamızda sıçan kalbinde oluşturduğumuz iskemik önkoşullamanın, akciğerdeki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerini incelemeyi hedefledik. Çalışmamızda 30 adet (n=6) Sprague-Dawley sıçan kullandık. Grupları şu şekilde oluşturduk; Grup 1: Kontrol Grubu (Sham Opere), Grup 2: Akciğerde iskemi (30 dk), Grup 3: Akciğerde iskemi (30 dk)-reperfüzyon (60 dk), Grup 4: Kalpte iskemik önkoşullama sonrası akciğerde iskemi (30 dk), Grup 5: Kalpte iskemik önkoşullama sonrası akciğerde iskemi (30 dk)-reperfüzyon (60 dk). Deney sonrası aldığımız akciğer doku örneklerinde, histopatolojik incelemeler ve yüksek performanslı likit kromatografi cihazı kullanarak malondialdehid ile pürin nükleotid düzeylerini ölçtük. Sonuç olarak kalpte oluşturulan iskemik önkoşullamanın, akciğerdeki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu ve bu etkinin adenozin ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.*

*Anahtar Kelimeler: Sıçan, Kalp, Akciğer, Uzak İskemik Önkoşullama, Adenozin*

## The Effects of Remote Ischemic Preconditioning On Pulmonary Ischemia-Reperfusion Injury on a Rat Model

### SUMMARY

*Ischemia and reperfusion of a tissue or a viscera can induce a protective effect such as development of preconditioning on the other tissues which have another source of arterial blood flow. This mechanism of action is known as remote ischemic preconditioning. The objective of this study was to investigate the effects of preconditioning formed by coronary artery occlusion over the pulmonary ischemia and ischemia-reperfusion injury in a rat model. We used adult, 30 Sprague-Dawley rats (n=6). There were five experimental groups; Group 1: Control (Sham operated), Group 2: Pulmonary ischemia (30 min), Group 3: Pulmonary ischemia (30 min)-reperfusion (60 min), Group 4: Cardiac ischemic preconditioning followed by pulmonary ischemia (30 min), Group 5: Cardiac ischemic preconditioning followed by pulmonary ischemia (30 min)-reperfusion (60 min). In the end of experimental procedures, histopathological assessments were performed on lung tissue specimens and malonyldialdehyde and purine nucleotide levels of lung tissue were measured by High Performance Liquid Chromatography. As a conclusion, cardiac ischemic preconditioning can induce a protective effect over the pulmonary ischemia and ischemia-reperfusion injury. It can be suggested that the protective effect of remote ischemic preconditioning is related with adenosine.*

*Key Words: Rat, Heart, Pulmonary, Remote Ischemic Preconditioning, Adenosine.*

\* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji A.D.

\*\* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D.

\*\*\* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji A.D.

## GİRİŞ

### İskemik Önkoşullama

İskemik önkoşullama (İÖ), tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek organ, doku veya hücre hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu bir mekanizmadır. İÖ, ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından, köpek kalbinde yapılan çalışma ile tanımlanmıştır (1).

Akciğerlerdeki İÖ çalışmaları ise, ilk kez 1995 yılında Neely ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, kedi akciğerinde oluşturulan İÖ'nün, iskemi-reperfüzyon (IR) hasarını belirgin olarak azalttığı gözlenmiştir (2).

### Uzak İskemik Önkoşullama

Bir organ veya dokunun iskemi ve reperfüzyonu ile oluşturulan önkoşullama, başka bir arterin beslediği organ veya dokuyu da önkoşullayarak koruyucu etki gösterebilir. Bu durum uzak iskemik önkoşullama (UİÖ) olarak adlandırılmaktadır ve ilk defa 1993 yılında Przyklenk ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada köpek sirkumfleks koroner arteri üzerinde uygulanan önkoşullamanın, sol ön inen koroner arterin beslediği alanlarda da koruyucu etki oluşturduğu gözlenmiştir (3).

Biz de bu çalışma ile sıçan kalbinde oluşturduğumuz iskemik önkoşullamanın akciğerdeki iskemi veya iskemi-reperfüzyon hasarına karşı; i) koruyucu etki oluşturup oluşturmadığını ve ii) muhtemel bir koruyuculukta adenozinin bir rolünün olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen her iki cinsiyetten 250-350 g ağırlığında 30 adet Sprague-Dawley sıçan kullanıldı.

09/03/2004 tarihli ve 6 sayılı Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul izni ile başlanan çalışmamız süresince hayvan hakları ile ilgili NIH tarafından belirlenen 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

160

## Cerrahi Yöntem

Çalışma süresince sıçanlar, stres oluşturmayacek ortamda barındırılmış olup herhangi bir yiyecek ve su kısıtlaması uygulanmamıştır. Sıçanlar, 120 mg/kg dozunda intraperitoneal tiyopental sodyum ile anestezize edilmişlerdir. Cerrahi işlem boyunca gerektiğinde 10 mg/kg dozunda intravenöz tiyopental sodyum uygulaması ile anestezi devam ettirilmiştir. Rektal problu ısı kontrol cihazı kullanılarak deney hayvanlarının vücut ısıları  $37\pm 1$  °C'de tutulmuştur. Sıçanlara trakea entübasyonu yapılmış olup, ventilatör cihazı ile solunum sayısının dakikada 60, tidal volümün 1 ml/100 gr olması sağlanmıştır. Subkutan iğne elektrotları kullanılarak sürekli elektrokardiyogram kaydı alınmıştır. Polietilen kateter kullanılarak sol karotid arter kanüle edilmiş ve basınç transduseri aracılığıyla arteriyel kan basınç değerleri bilgisayar ortamına aktarılmıştır. İlaç uygulamaları için sol femoral ven kanüle edilmiştir. Sıçanlara intravenöz yolla 200 IU/kg heparin uygulamasından sonra sol parasternal torakotomi ile göğüs kafesi açılmıştır. Kalpte İÖ oluşturmak için sol koroner arterin (SKA) orijinine yakın yerinden 7/0 ipek iplikli atravmatik iğne geçirilmiştir. Akciğerde iskemi oluşturmak için sol pulmoner arter (SPA) izole edilmiş ve 7/0 ipek iplik geçirilerek oklüzyona hazır hale getirilmiştir. Koroner ve pulmoner arterlere düğüm atılırken, reperfüzyonu sağlamak ve arterlerde hasar oluşturmamak için iplikle arter arasına kısa bir polietilen boru yerleştirilmiştir. Tüm cerrahi işlemler süresince belirgin aritmi oluşan, ortalama arteriyel kan basınç değerleri kalıcı bir şekilde 60 mmHg'nın altına düşen ve çalışma sonunda ölçülen arteriyel pH değeri 7.35- 7.45, parsiyel karbondioksit değeri 32-48 mmHg aralığı dışında kalan sıçanlar çalışma dışı bırakılmıştır. 15 dakika stabilizasyon için beklenildikten sonra deneysel protokoller uygulanmaya başlanmıştır. Çalışmamız her grupta 6 (n=6) sıçan olacak şekilde beş grup şeklinde düzenlenmiştir.

1.Grup: Kontrol Grubu (Sham opere)

2.Grup: Akciğerde iskemi (30 dk SPA oklüzyonu) (AC-İS)

3.Grup: Akciğerde iskemi (30 dk SPA oklüzyonu)-Reperfüzyon (60 dk)(AC-İR)



4.Grup: Kalpte İÖ (3 dk SKA oklüzyonu-5 dk reperfüzyon, üç siklüs) + Akciğerde İskemi (30 dk SPA oklüzyonu) (K-İÖ+AC-İS)

5.Grup: Kalpte İÖ (3 dk SKA oklüzyonu-5 dk reperfüzyon, üç siklüs) + Akciğerde İskemi (30 dk SPA oklüzyonu) -Reperfüzyon (60 dk) (K-İÖ+AC-İR)

Deney sonunda histopatolojik ve biyokimyasal analizler için akciğer doku örnekleri alınmıştır. Biyokimyasal analiz için alınan doku örnekleri sıvı nitrojen ile muamele edildikten sonra -80°C'de saklanmıştır. Doku örnekleri alınan sıçanlar kurban edilmiştir.

#### **Biyokimyasal Analizler**

Saklanan akciğer doku örneklerindeki malondialdehid (MDA) ve pürin nükleotid düzeyleri Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (HPLC) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sırasında HPLC gradient kimyasal maddeler kullanılmıştır.

#### **MDA Analizi**

HPLC cihazı ile MDA ölçümünde Jens Lykkesfeldt'in floresans dedektör kullanılarak oluşturduğu metodu kullandık (4). Floresans dedektörünün eksitasyon dalga boyu 515 nm, emisyon dalga boyu 553 nm olarak ayarlandı. Kolon fırını ise 30 °C'de çalışmak üzere ayarlandı. MDA analizi için 150x4.6 mm boyutlarında, partikül büyüklüğü 7 µ olan C-8 kolon kullanıldı. Koruyucu kolon olarak 30x4.6 mm boyutlarında, partikül büyüklüğü 7 µ olan C-8 kolon kullanıldı.

MDA ölçümü için saklanan doku örnekleri -80° C'den çıkarıldı ve her biri 100 mg ağırlığında olacak şekilde porsiyonlandı. Doku homojenatları hazırlanarak cihaza enjekte edildi. MDA düzeyleri, pik alanı ölçülerek hesaplandı ve µMol/L olarak ifade edildi.

#### **Pürin Nükleotidlerin Analizi**

Pürin nükleotidlerinden adenzin (ADO) ve adenzin trifosfat (ATP) ölçümü için Volente ve arkadaşlarının uyguladıkları HPLC metodu kullanıldı (5). Bu metottan farklı olarak Mobil fazın hazırlanmasında, metotta

kullanılan tetrabütülamonyum hidrojen sülfat yerine tetrabütülamonyum bromid kullanıldı. Kullanılan UV ışık dedektörünün dalga boyu 220 nm ve kolon fırınının ısı 25 °C olacak şekilde ayarlandı. Pürin nükleotidlerinin ölçümünde 250x4.6 mm boyutlarında, 5 µ partikül büyüklüğüne sahip C-18 kolon kullanıldı.

Saklanan doku örnekleri 100 mg ağırlığında olacak şekilde standardize edildi. Doku homojenatları hazırlanarak cihaza enjekte edildi. Pürin nükleotidlerinin düzeyleri pik alanı hesaplanarak bulundu ve µg/ml olarak ifade edildi.

#### **Histopatolojik Analiz**

Her gruptan denek sayısı kadar akciğer doku örnekleri histopatolojik inceleme için ayrıldı. Materyaller bir gün süre ile % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Bunu izleyen günde mikroskopik rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 4 µm kalınlığında hazırlanan kesitler Hemotoksilen-Eozin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

#### **İstatistiksel Analiz**

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 9.0 kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki farkın önem derecesinin belirlenmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonucun p ≤ 0.05 olması durumunda veriler arasındaki farkın anlamlı olduğu kanısına varıldı.

#### **BULGULAR**

#### **Biyokimyasal Bulgular**

Akciğerde iskemi (Grup 2; AC-İS) yapılan grup ile kalpte İÖ sonrası akciğerde iskemi (Grup 4; K-İÖ+AC-İS) yapılan grubun MDA düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (p ≤ 0.05) (Tablo 1). Akciğerde İR (Grup 3, AC-İR) yapılan grup ile kalpte İÖ sonrası akciğerde İR (Grup 5, K-İÖ+AC-İR) yapılan grubun MDA düzeyleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p ≤ 0.05) (Tablo 1).



**Tablo 1.** Beş gruba ait MDA düzeyleri aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata olarak belirtilmiştir.

(\*  $p \leq 0.05$ )

Gruplar	MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )
Grup 1 (Kontrol)	0,38 $\pm$ 0,02
Grup 2 (AC-İS)	0,48 $\pm$ 0,02
Grup 3 (AC-İR)	0,52 $\pm$ 0,01
Grup 4 (K-İÖ+AC-İS)	0,40 $\pm$ 0,02*
Grup 5 (K-İÖ+AC-İR)	0,44 $\pm$ 0,03*

Grup 2 (AC-İS) ile Grup 4 (K-İÖ+AC-İS) arasında ADO düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0.01$ ) (Tablo 2). Grup 3 (AC-İR) ile Grup 5 (K-İÖ+AC-İR)'in ADO düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında veriler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ( $p \leq 0.01$ ) (Tablo 2).

Buna karşılık, Grup 2 (AC-İS) ile Grup 4 (K-İÖ+AC-İS)'ün ATP düzeyleri arasındaki istatistiksel karşılaştırma neticesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 2). Benzer şekilde, Grup 3 (AC-İR) ile Grup 5 (K-İÖ+AC-İR) arasında da ATP düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 2).

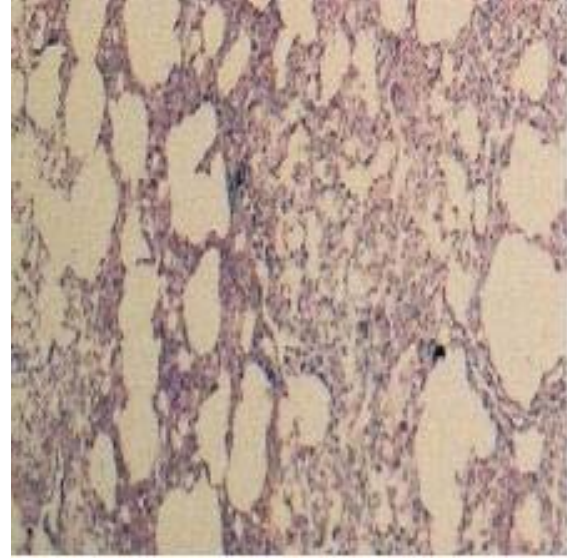
**Tablo 2.** Her dört gruba ait adenozin ve ATP düzeyleri aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata olarak belirtilmiştir.

(\* $p \leq 0.01$ )

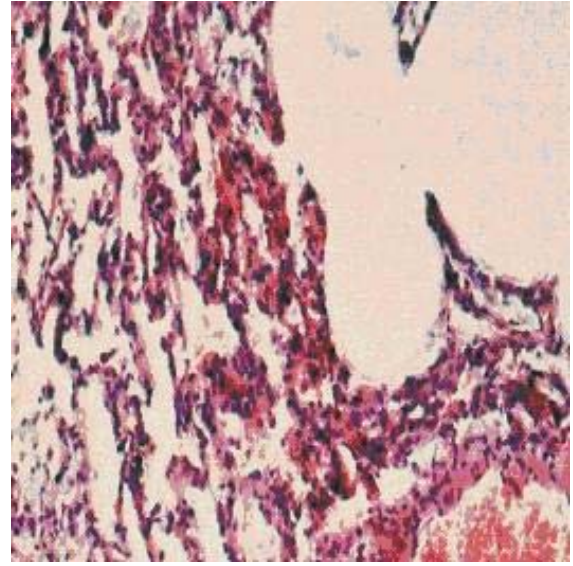
Gruplar	Adenozin ( $\mu\text{gr/ml}$ )	ATP ( $\mu\text{gr/ml}$ )
Grup 1 (Kontrol)	0,86 $\pm$ 0,03	5,71 $\pm$ 0,32
Grup 2 (AC-İS)	1,74 $\pm$ 0,08	3,61 $\pm$ 0,15
Grup 3 (AC-İR)	1,47 $\pm$ 0,05	4,77 $\pm$ 0,20
Grup 4 (K-İÖ+AC-İS)	0,98 $\pm$ 0,07*	3,92 $\pm$ 0,31
Grup 5 (K-İÖ+AC-İR)	1,00 $\pm$ 0,06*	4,82 $\pm$ 0,08

### Histopatolojik Bulgular

Kalpte İÖ sonrası akciğerde iskemi uygulanan gruba ait akciğer doku örneklerinin mikroskopik incelenmelerinde, iltihabi hücre infiltrasyonu gözlenirken (HEX40) (Resim 1), akciğerde sadece iskemi uygulanan doku örneklerinde interstisyum, perivasküler ve peribronşial alanda yoğun, mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu ve konjesyone damar kesitleri izlenmektedir (HEX200) (Resim 2).



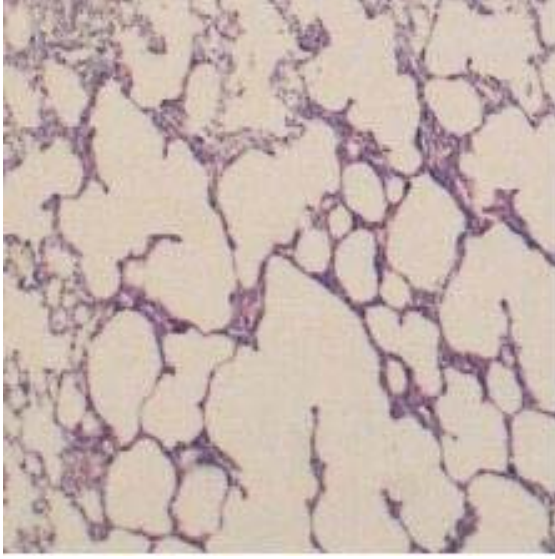
**Resim 1.** Kalpte iskemik önkoşullama sonrası akciğerde iskemi uygulanan gruba ait akciğer dokusunun mikroskopik görüntüsü (HEX40)



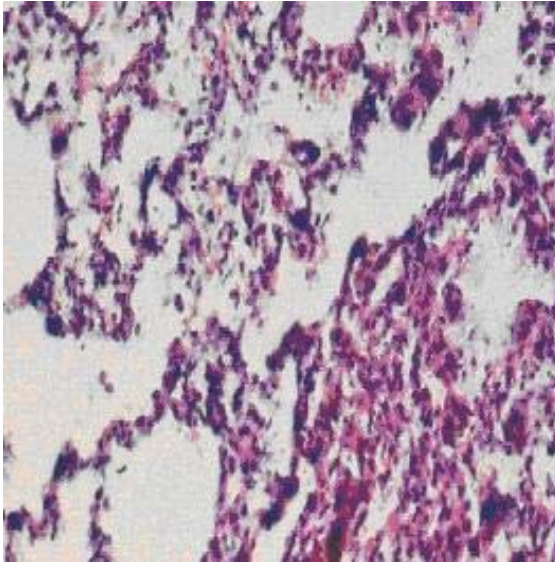
**Resim 2.** Akciğerde iskemi grubuna ait doku örneğinin mikroskopik görüntüsü (HEX200).

Kalpte İÖ sonrası akciğerde İR uygulanan gruba ait doku örneklerinin mikroskopik incelenmelerinde hafif interstiyel ödem, iltihabi hücre infiltrasyonu ile alveol duvarlarında incelme ve destrüksiyon gözlenirken (HEX40) (Resim3), akciğerde önkoşullamasız İR uygulanan gruba ait doku örneklerinde interstisyumda yoğun mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu, damar kesitleri ile alveolar boşluklarda fibrin depozitleri izlenmektedir (HEX100) (Resim 4).





**Resim 3.** Kalpte iskemik önkoşullama sonrası akciğerde iskemi- reperfüzyon uygulanan gruba ait akciğer dokusunun mikroskopik görüntüsü (HEX40).



**Resim 4.** Akciğerde iskemi- reperfüzyon grubuna ait doku örneğinin mikroskopik görüntüsü (HEX100).

### TARTIŞMA

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin plazma ve organel membranları üzerinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonunun yıkılım ürünü olan MDA, proteinlerin amino grupları ile şift bazı oluşturur ve tiyol grupları ile etkileşir. Lipid peroksidasyonu, ortamda

doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlaması bakımından çok uygundur.

Soncul ve arkadaşları izole domuz akciğerlerinde önkoşullama oluşturmak için iki siklüs halinde beşer dakikalık İR periyodunun ardından akciğerleri 3 saat iskemi ve 30 dakika reperfüzyona maruz bırakmışlardır. Çalışmanın sonunda önkoşullamanın MDA düzeylerini azalttığı sonucuna varılmıştır (6).

Ucar ve arkadaşları, izole perfüze sıçan akciğerinde yaptıkları çalışmada, İÖ'nün lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikali aracılı hasarı azalttığını göstermişlerdir (7).

Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, tavşan kalbinde oluşturdukları İÖ'nün İR hasarına karşı koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonunda İÖ sonrası İR uyguladıkları gruptaki MDA düzeylerini, sadece İR uyguladıkları gruba göre anlamlı olarak düşük, histopatolojik incelemelerde ise hasarın daha az olduğunu saptamışlardır (8).

Kardiyopulmoner by-pass geçiren hastalarda UİÖ'nün akciğerdeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise kalpte oluşturulan İÖ'nün akciğerdeki polimorf nüveli lökosit birikimini, serbest oksijen radikali ve MDA oluşumunu azalttığı ileri sürülmüştür (9).

Bu ve benzeri çalışmalar ile MDA'nın lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olduğu ve önkoşullamanın lipid peroksidasyonunu ve beraberinde de MDA düzeylerini azalttığı ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda, kalpte İÖ sonrası iskemi uyguladığımız gruptaki MDA değerlerinin, önkoşullamasız iskemi uyguladığımız grubun değerlerine göre daha düşük olduğunu gözlemledik. Benzer şekilde kalpte İÖ sonrası İR uyguladığımız gruptaki MDA değerlerini, önkoşullamasız olarak İR uyguladığımız grubun değerlerine göre daha düşük bulduk. Akciğer doku örneklerinde yaptığımız histopatolojik incelemelerde ise İÖ'nün iltihabi hücre infiltrasyonunu azaltıcı yönde etki gösterdiğini saptadık. Bu sonuçlar ile çalışmamızda oluşturduğumuz uzak İÖ'nün, MDA düzeyleri



ve lipid peroksidasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir.

İÖ korumasının oluşumunda adenozin (ADO), bradikinin ve nitrik oksit (NO) gibi moleküller, tetikleyici rol oynarlar. Bütün hücrelerde doğrudan ya da ATP'nin hidrolizi sonucu oluşan ADO, önkoşullamadaki etkilerini A<sub>1</sub> ve A<sub>3</sub> reseptörleri üzerinden gösterir (10). ADO ve bradikinin, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimini uyararak NO oluşumuna yol açar. NO, doğrudan veya protein kinaz C (PKC) aktivasyonu aracılığı ile önkoşullamanın uç efektörü olan mitokondriyal ve sarkolemmal ATP'ye duyarlı potasyum (K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>) kanallarının açılmasına neden olur (11,12). Bu kanalların açılması sonrasında henüz tam olarak aydınlatılmamış bir dizi mekanizmaların devreye girdiği ve koruyucu etkinin olduğu düşünülmektedir (10,13).

Geçen yıllar içerisindeki en önemli tartışma, ADO'nun bu rolü önkoşullamanın hangi aşamasında oynadığı üzerinde yoğunlaşmıştır. Kitakaze ve arkadaşlarının çalışmalarında, İÖ modelinde ADO ve 5'-nükleotidaz'ın rolü araştırılmıştır. Araştırmacılar, 5'-nükleotidaz aktivitesindeki sürekliliğin önkoşullama korumasının oluşumunda kritik bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Kitakaze'nin hipotezi PKC'nin, 5'-nükleotidaz aktivasyonuna yol açtığı ve 5'-nükleotidaz aktif olarak kaldığı süre boyunca devamlı bir ADO oluşumuna ve korumaya yol açtığı şeklindedir (14,15).

Bununla birlikte, birçok araştırmacı yaptıkları çalışmaların sonucunda Kitakaze'nin ileri sürdüğü hipoteze karşı çıkmışlardır. Van Wylen ve arkadaşları köpek kalbinde önkoşullayıcı protokol olarak iki siklus halinde 5 dk iskemi+10 dk reperfüzyon periyodunun ardından 60 dk iskemi uygulamışlardır. Kontrol grubu olarak da sadece 60 dk koroner iskemi gerçekleştirmişlerdir. Önkoşullayıcı protokol ve uzun süreli iskemi dönemlerinde sol ventrikül dokusunda interstisyel ADO düzeylerini periyodik olarak ölçmüşlerdir. Elde ettikleri sonuçlar itibarıyla araştırmacılar, ADO yüksekliğinin sadece önkoşullayıcı periyod döneminde olduğunu, uzun süreli iskemi döneminde ise böyle bir yükselmenin gerçekleşmediğini ifade etmektedirler (16).

Harrison ve arkadaşları ise izole sıçan kalbinde yaptıkları çalışmada ADO düzeylerindeki düşmenin ATP tükenmesinden kaynaklanmadığını, önkoşullayıcı protokolün sağladığı koruma nedeniyle purin nükleotidlerinin daha az yıkılmasından ileri geldiğine işaret etmektedir (17).

Kitakaze ve arkadaşlarının öne sürdüğü hipoteze katılmamakla birlikte araştırmacılar, İÖ'da ADO'nun rolü konusunda ortak bir noktada buluşmuşlardır. Buna göre önkoşullayıcı iskemi ve reperfüzyon dönemlerinde ATP hidrolizindeki artış nedeniyle ADO üretimi artmaktadır. Bu dönemde ADO önkoşullama korumasının oluşumunda tetikleyici rolünü oynar ve oluşan koruma daha sonraki İR dönemlerinde ATP hidrolizini önler. Sonuç olarak araştırmacılar önkoşullama uygulanan dokularda oluşan koruyucu etkinin ilerleyen dönemlerde hücrenin enerji düzeylerini koruyarak, ADO oluşumunu azalttığına dikkati çekmektedir.

Uzak olmayan İÖ'nün akciğerdeki İR hasarı üzerinde koruyucu etkilerinin varlığı ve bu etkide ADO, NO ve K<sub>ATP</sub> kanallarının rolünün olduğunun anlaşılmasından sonraki geçen yıllar içerisinde araştırmacılar bu kez de UİÖ'nün etkileri üzerinde yoğunlaşmışlardır (18-20).

Kharbanda ve ark. yaptıkları çalışmada, kardiyopulmoner by-pass uyguladıkları domuzlarda oluşturdukları İÖ'nün, kalp ve akciğerdeki İR hasarını azalttığını göstermişlerdir (21)

Xia ve ark. ise tekrarlayan koroner arter oklüzyonunun akciğer fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve UİÖ'nün, akciğerdeki gaz değişimini iyileştirdiğini ve İR'na bağlı hasarı da azalttığını saptamışlardır (22).

Kalp dışında karaciğer, iskelet kası, intestinal ve serebral İÖ'ların da akciğer üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (23-26).

Çalışmamızda deneysel protokol sonrasında doku purin nükleotid seviyelerini ölçtük. UİÖ sonrası akciğerde iskemi oluşturduğumuz grubun ADO düzeylerini, akciğerde iskemi oluşturduğumuz grupla karşılaştırdığımız da anlamlı olarak düşük bulduk. Benzer bir düşüklüğü uzak önkoşullama-



lı ve önkoşullamasız olarak İR uyguladığımız gruplar arasında da tespit ettik. ATP düzeyleri açısından incelediğimizde, UİÖ gruplarındaki seviyelerin daha yüksek olduğunu fakat bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna vardık.

Bir başka deyişle, İÖ gruplarında ADO seviyeleri daha düşük iken, yıkılımın azalmasına bağlı olarak ATP seviyeleri daha yüksek değerler aldı. Elde ettiğimiz bu sonuçlar her ne kadar UİÖ modelinde olmamakla birlikte Van Wylen (16), Harrison (17) gibi araştırmacıların çalışmalarında ADO yüksekliğinin seyri konusundaki ifadeleri ile benzerlik göstermektedir. Buna göre, ADO seviyeleri önkoşullayıcı siklus dönemde ATP yıkımının artmasına bağlı olarak yükselir. Bu dönemde tetikleyici rolünü oynayarak korumanın oluşumunu sağlar. Önkoşullama koruması nedeniyle daha sonraki uzun süreli İR döneminde ATP yıkılımı azalır. Buna bağlı olarak da yıkım ürünleri olan ADO seviyeleri uzun süreli iskemi döneminde daha düşük seyreder.

Elde ettiğimiz ADO, MDA ve histopatolojik bulgulardan yola çıkarak kalpte oluşturduğumuz uzak iskemik önkoşullamanın, akciğerdeki iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğunu ve bu koruyucu etkinin oluşmasında adenosinin rolünün bulunduğunu düşünmekteyiz.

**\* Bu çalışma Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

#### KAYNAKLAR

1. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986; 74: 1124-1136.

2. Neely CF, Keith IM. A1 adenosine receptor antagonists block ischemia-reperfusion injury of the lung. *Am J Physiol*, 1995; 268: 1036-1046.

3. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, 1993; 87(3): 893-899.

4. Lykkesfeldt J. Determination of Malondialdehyde as Dithiobarbituric Acid Adduct in Biological Samples by HPLC with Fluorescence Detection: Comparison with Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. *Clinical Chemistry*, 2001; 47(9): 1725-1727.

5. Volonte MG, Yuln G, Quiroga P, Consolini AE. Development of an HPLC method for determination of metabolic compounds in myocardial tissue. *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004; 35: 647-653.

6. Soncul H, Öz E, Kalaycioglu S. Role of Ischemic Preconditioning on Ischemia-Reperfusion Injury of the Lung. *Chest*, 1999; 115: 1672-1677.

7. Ucar G, Topaloglu E, Kandilci HB, Gumusel B. Effect of ischemic preconditioning on reactive oxygen species-mediated ischemia-reperfusion injury in the isolated perfused rat lung. *Clin Biochem*, 2005; 38(7): 681-684.

8. Li G, Chen S, Lu E, Hu T. Protective effects of ischemic preconditioning on lung ischemia reperfusion injury: an in-vivo rabbit study. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1999; 47(1): 38-41.

9. Li G, Chen S, Lu E, Luo W. Cardiac ischemic preconditioning improves lung preservation in valve replacement operations. *Ann Thorac Surg*, 2001; 71(2): 631-635.

10. Auchampach JA, Gross GJ. Adenosine A1 receptors, KATP channels, and ischemic preconditioning in dogs. *American J of Physiology*, 1993; 264: 1327-1336.

11. Altug S, Demiryürek AT, Kane KA, Kanzık İ. Evidence for the involvement of peroxynitrite in ischaemic preconditioning in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol*, 2000; 130: 125-131.

12. Csonka C, Csont T, Onody A, Ferdinandy P. Preconditioning decreases ischemia/reperfusion-induced peroxynitrite formation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001; 285: 1217-1219.

13. Liu Y, Ytrehus K, Downey JM. Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischemic preconditioning of rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardio*, 1994; 126: 661-8.



14. Kitakaze M, Hori M, Takashima S, et al. Ischemic preconditioning increases adenosine release and 5'-nucleotidase activity during myocardial ischemia and reperfusion in dogs. Implications for myocardial salvage. *Circulation*, 1993; 87(1): 208-215.
15. Kitakaze M, Node K, Minamino T, et al. Role of activation of protein kinase C in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through activation of ecto-5'-nucleotidase. *Circulation*, 1996; 93(4): 781-791.
16. Van Wylen DG. Effect of ischemic preconditioning on interstitial purine metabolite and lactate accumulation during myocardial ischemia. *Circulation*, 1994; 89(5): 2283-2289.
17. Harrison GJ, Willis RJ, Headrick JP. Extracellular adenosine levels and cellular energy metabolism in ischemically preconditioned rat heart. *Cardiovascular Research*, 1998; 40(1): 74-87.
18. Yildiz G, Demiryurek AT, Gumusel B, Lipton H. Ischemic preconditioning modulates ischemia-reperfusion injury in the rat lung: role of adenosine receptors. *Eur J Pharmacol*, 2007; 556(1-3): 144-150.
19. Kandilci HB, Gumusel B, Topaloglu E, et al. Effects of ischemic preconditioning on rat lung: role of nitric oxide. *Exp Lung Res*, 2006; 32(7): 287-303.
20. Kandilci HB, Gumusel B, Demiryurek AT, Lipton H. Preconditioning modulates pulmonary endothelial dysfunction following ischemia-reperfusion injury in the rat lung: role of potassium channels. *Life Sci*, 2006; 79(23): 2172-2178.
21. Kharbanda RK, Li J, Konstantinov IE, et al. Remote ischaemic preconditioning protects against cardiopulmonary bypass-induced tissue injury: a preclinical study. *Heart*, 2006; 92(10): 1506-1511.
22. Xia Z, Herijgers P, Nishida T, et al. Remote preconditioning lessens the deterioration of pulmonary function after repeated coronary artery occlusion and reperfusion in sheep. *Can J Anaesth*, 2003; 50(5): 481-488.
23. Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology*, 1999; 30(6): 1481-9.
24. Harkin DW, Barros D'Sa AA, McCallion K, Hoper M, Campbell FC. Ischemic preconditioning before lower limb ischemia--reperfusion protects against acute lung injury. *J Vasc Surg*, 2002; 35(6):1264-73.
25. Ito K, Ozasa H, Kojima N, et al. Pharmacological preconditioning protects lung injury induced by intestinal ischemia / reperfusion in rat. *Shock*, 2003; 19(5): 462-468.
26. Glantz L, Avramovich A, Trembovler V, et al. Ischemic preconditioning increases antioxidants in the brain and peripheral organs after cerebral ischemia. *Exp Neurol*, 2005; 192(1): 117-124.

#### **Yazışma Adresi**

Hasan AKKOÇ  
Dicle Üni. Tıp Fak. Farmakoloji A.D. /Diyarbakır  
E-mail: hakkoc@dicle.edu.tr

