

**T.C.**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Prof Dr Ali Oktay Koyuncu

**BİR LÖKOTRIEN D4 RESEPTÖR ANTAGONİSTİ OLAN  
ZAFİRLUKAST'IN (ICI 204,219)  
DENEYSEL KARACİĞER İSKEMİ-REPERFÜZYON  
MODELİNDEKİ ETKİLERİ**

ULUSLARARASI TIP ENSTİTÜSÜ  
DENEYSEL TIP MERKEZİ

UZMANLIK TEZİ  
Dr HAKAN CANBAZ

YÖNETEN

Prof. Dr Yıldırım Yüzer

99067

İZMİR, 2000

*Değerli aileme,  
sevgili eşim Arzu ve oğlum Gökay'a ...*



## ÖNSÖZ

Genel cerrahi eğitimim süresince her zaman bana destek olan, emek veren ve eğitimime değerli katkılarda bulunan Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr Özdemir Yazarbaş'a, Genel Cerrahi Anabilim Başkanı Prof. Dr Ali Oktay Koyuncu ve tüm Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim elemanlarına çok teşekkür ederim.

Ayrıca bana bu tez çalışmamı veren sayın Prof. Dr Yıldırım Yüzer'e, patolojik değerlendirmeler konusunda yardımcı olan sayın Prof. Dr Gül Yüce'ye, Prof. Dr Müge Tunçyürek'e, çalışmamın deney aşamasında yardımcı olan Prof. Dr Işık Tuğlular ve Dr Ercüment Karasulu'ya, biyokimyasal tetkiklerin yapılmasında yardımcı olan uz. Dr Yasemin Belen ve tıbbi teknisyen Tayyibe Yeni'ye, çalışmamın deney aşamasında yardımcı olan Deneysel Cerrahi Bölümü çalışanlarına(sağlık teknisyenleri İsmail Zonguldak, Bülent Ata, Çağlar Uz), tez çalışmam sırasında her an bana yardım eden uz. Dr Pars Tunçyürek'e, Dr Ahmet Denizli'ye, uzun süre birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarıma, Genel Cerrahi kliniği hemşire ve personeline çok teşekkür ederim.

Dr Hakan Canbaz

İzmir, 2000

## İÇİNDEKİLER

<b>I.</b>	Giriş	1
<b>II.</b>	Genel Bilgiler	3
	-Lökotrienler	3
	-Zafirlukast	16
	-İskemi-reperfüzyon hasarı	19
<b>III.</b>	Gereç ve yöntem	29
<b>IV.</b>	Sonuçlar	32
<b>V.</b>	Tartışma	38
<b>VI.</b>	Özet	41
<b>VII.</b>	Kaynaklar	42



# GİRİŞ

Organizmadaki organ ve dokuların normal fonksiyonlarını yerine getirebilmesi yeterince kan dolaşımına sahip olmalarıyla mümkündür. Normal kan akımı devam eden bir dokunun çeşitli sebeplerle geçici olarak kan akımının bozulmasıyla (azalması veya durması) ortaya çıkan iskemi ve tekrar kan akımının düzelmesiyle oluşan reperfüzyon dokularda hasara yol açmaktadır; hücre ölümü veya disfonksiyonu ortaya çıkmaktadır(5). Hasar hem iskemi hem de reperfüzyon fazında oluşmaktadır. Önceleri iskemik hasarın daha zararlı olduğu düşünülmüş ve bütün çabalar iskemi süresini kısaltmaya yöneltilmiş. Ancak son zamanlarda yapılan araştırmalarda reperfüzyon hasarının doku zedelenmesinde daha ciddi neden olduğu ortaya çıkmıştır(36). Klinikte iskemi ve reperfüzyonun çok değişik türleriyle karşılaşmaktayız. Şok (hipovolemik, kardiyojenik, septik), emboli veya tromboz nedeniyle gelişen mezenterik vasküler oklüzyona bağlı intestinal iskemi için yapılan cerrahi girişimler, karaciğerle ilgili cerrahi girişimler (travma sırasında kanama kontrolü amacıyla geçici olarak yapılan Pringle manevrası veya total vasküler ekslüzyon; tümör nedeniyle yapılan karaciğer rezeksiyonlarında kanama komplikasyonundan kaçınmak amacıyla yapılan geçici vasküler klemplemeler), organ transplantasyonları (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapılana kadar geçen soğuk iskemi süresi) kardiyopulmoner resusitasyon gibi bir çok durumda geçici olarak kan akımının durmasıyla iskemi, kan dolaşımının tekrar sağlanmasıyla reperfüzyon oluşmaktadır. Bu iskemi ve reperfüzyon süresinde oluşacak doku hasarını önlemek veya oluşuktan sonra hasarı en aza indirmek için, iskemi-reperfüzyon mekanizmaları ile ilgili, çok çeşitli araştırmalar yapılmakta ve her geçen gün yeni tedavi seçenekleri gündeme gelmektedir.

İskemi ve reperfüzyon hasarının oluşmasında etkili mekanizmalardan biri de sitokinler aracılığıyla kontrol edilen inflamasyondur. Uygulanacak çeşitli tedavi modaliteleri ile inflamasyon aşamasında oluşabilecek hasar azaltılabilir.

Lökotrienler (LT) hücrelerde depolanmayan, immünolojik ve nonimmünolojik uyarımlar sonucu araziidonik asitten yeniden sentez edilen ve allerjik, inflamatuvar reaksiyonların oluşumu, devamı ve sonlandırılmasında önemli rolü olan mediatörlerdir.

Lökotrienlerin inflamatuvar hücreler arasındaki karmaşık ilişkilerde önemli rol oynadığına inanılıyor; aktivitelerinin inhibisyonu inflamatuvar yanıtın şiddetini

azaltmakta etkili olabilir.LT'nin aktivitesinin inhibisyonu 5-lipoksijenaz (5-LO) inhibitörleri, 5-LO aktive eden protein inhibitörleri ve LT reseptör antagonistleri(özelikle LT-D4) ile sağlanabilmektedir(45).Antiinflamatuvar etkinliği göz önünde bulundurulduğunda LT antagonistlerinin klinikte inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yeni uygulama alanları bulacağı düşünülmektedir.

Bu deneysel çalışmanın amacı, inflamasyonun modülasyonu, sitokin "down regülasyonu" ve doku hasarının azaltılmasında etkili olan, bir lökotrien reseptör antagonisti olan Zafirlukast'ın inflamatuvar reaksiyondaki etkisini göstermek; sıçanda karaciğerin iskemi ve reperfüzyon modeline olan etkilerini araştırmak.



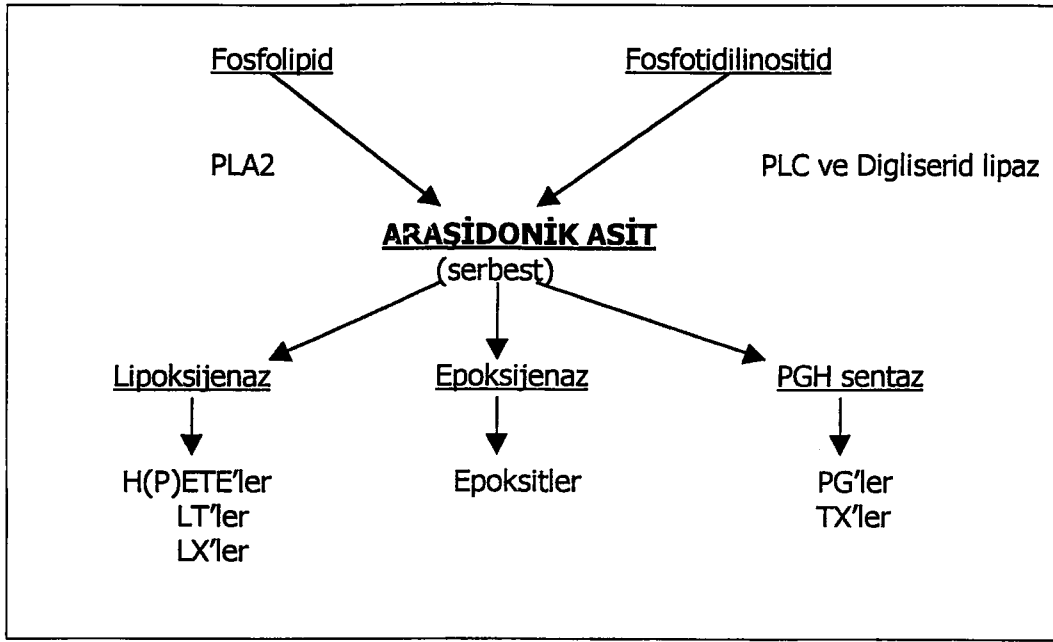
## LÖKOTRIENLER

Allerjik ve inflamatuvar sürecin önemli kimyasal maddeleri olan lökotrienler(LT) inflamatuvar hücreler arasındaki karmaşık ilişkilerde kilit role sahip mediatörlerdir.1938'de ilk kez Feldberg ve Kellaway tarafından tanımlanan orijinal olarak yavaş etkili maddeler(SRS) olarak adlandırılan(67) ve daha sonra Brocklehurst tarafından anafilaksinin yavaş etkili maddeleri (SRS-A: immünolojik olarak üretilen SRS(67) ) olarak tanımlanan(7) bu mediatörlerin 1979'da Samuelsson B. tarafından lökotrienlerin(özellikle LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) bir karışımı olduğu anlaşılmıştır(67,68). "Lökotrien" adı üretildiği hücrelerin(büyük kaynağı lökositler) ve karakteristik kimyasal yapısını oluşturan konjuge trien isimlerinin birleşiminden oluşturulmuştur(67,68). Bu grubun üyeleri alfabetik olarak adlandırılmıştır; sırayla LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>(67).

Lökotrienler hücre mebranlarının fosfolipid çift tabakasında yer alan 20 karbonlu yağ asidi olan araşidonik asitten(AA) (45), inflamatuvar reaksiyonların gidişi sırasında sentez edilen lipid biyofektörlerdir(65).Ani hipersensitivite reaksiyonlarında rol alan bu mediatörler aynı zamanda pro-inflamatuvar etkiye sahiptirler(67) Kimyasal yapılarına ve biyolojik aktivitelerine bağlı olarak lökotrienler iki ayrı sınıfa ayrılabilir:1.Cysteinyll lökotrienler(Cys-LT) (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>)

2.Dihidroksi derive (LTB<sub>4</sub>) (65).

İmmünglobulin E (Ig E) reseptör aktivasyonu, antijen-antikor reaksiyonu ve mikroorganizmalar fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi (PLA<sub>2</sub>) aktive ederler.PLA<sub>2</sub> membran fosfolipidlerine etki ederek AA salınımına neden olurlar(25). Fosfotidilinositide fosfolipaz C(PLC) ve Digliserid lipaz etki ederek AA oluşumuna neden olur.AA substratı olduğu siklooksijenaz(CO) enzimi yoluyla (prostoglandin-PG-, tromboksan-TX- üretilir), 5-lipoksijenaz(5-LO) enzimi yoluyla (LT oluşumunu sağlar) ve hem 5-LO hem de 15-LO enzimleri yoluyla(trihidroksieikozatetraenoik asitlerin-lipoksin(LX) A ve B oluşumunu sağlar) farmakolojik olarak aktif olan ve eikozanoidler olarak bilinen ürünlere dönüşür(37,45) (şekil 1).



**Şekil 1:** Membran fosfolipidlerinden araşidonik asitin ve onun ürünleri olan eikozanoidlerin oluşum yolu(37).



## LÖKOTRIEN SENTEZİ YAPABİLEN HÜCRELER

Lökotrienler özellikle miyeloid seri hücrelerde sentez edilen mediatörlerdir; ancak 5-LO enzimine sahip olmayan hücreler de transselüler biyosentez yoluyla lökotrienleri sentez edebilmektedir. Hematopoyetik hücre grubundan olan mast hücreleri, eozinofiller, bazofiller, monosit/ makrofajlar ve trombositler LTC<sub>4</sub> sentaz enzimi içerdiğinden Cys-LT sentezleyebilirler(61).

<b>Hücre tipi</b>	<b>Miktar</b>	
	<b>Lökotrien B<sub>4</sub></b>	<b>Lökotrien C<sub>4</sub></b>
Alveolar makrofaj	4	1
Bazofil	-	2
Eozinofil	1	3
Akciğer mast hücreleri	1	2
Monosit	2	1
Nötrofil	3	1

### İnsan hücrelerindeki rölatif lökotrien miktarları (45).

(1'den 4'e miktar artıyor)

### Farklı kaynaklarda lökotrienlerin tanımlanması (67)

<b>Kaynak</b>	<b>LTA<sub>4</sub></b>	<b>LTB<sub>4</sub></b>	<b>LTC<sub>4</sub></b>	<b>LTD<sub>4</sub></b>	<b>LTE<sub>4</sub></b>
Tavşan periton lökositleri	+	+			
İnsan perifer lökositleri	+	+	+		
Fare mastositoma hücreleri	+		+		
Siçan bazofil lösemi hücreleri				+	+
Siçan periton monositleri			+	+	
Siçan periton hücreleri(anafilaktik)			+	+	+
Siçan perifer lökositleri		+			
Siçan plevra nötrofilleri		+			
Siçan makrofajları		+			
Fare makrofajları			+		
İnsan akciğeri			+	+	
Guine domuzu akciğeri				+	

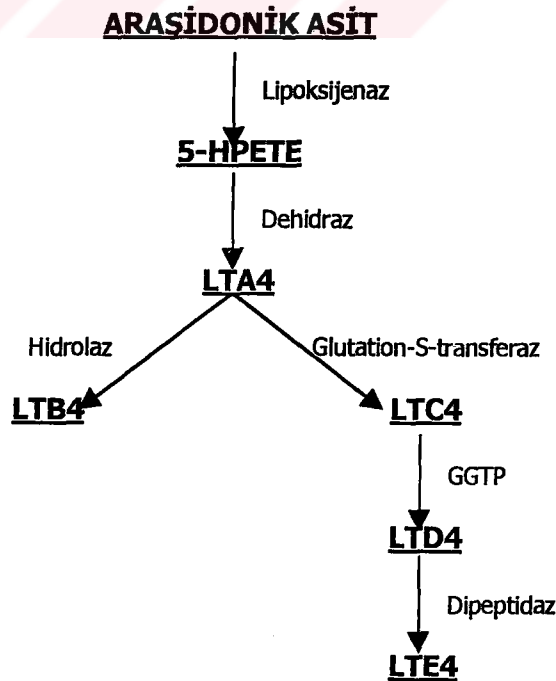
Siçan Kupffer hücreleri hücre kültüründe LTA<sub>4</sub> sentezleyebilir ancak LTC<sub>4</sub>'e dönüştüremez. Hepatositler LTA<sub>4</sub>'ü Cys-LT'ye dönüştürebilir. Tümör nekrozis faktör(TNF ) Kupffer hücresi-hepatosit kültüründe Cys-LT üretimini stimüle eder.Bu sonuçlara dayanarak Kupffer hücresi-hepatosit transselüler sisteminin in vivo Cys-LT

üretiminde etkili olduğu düşünülmektedir(21). Yapılan bir deneysel çalışmada 5-LO mRNA'nın bütün karaciğerde ortaya çıktığı ve ekspresyonunun LPS ile arttığı saptanmış.Hücre ayırma işlemiyle yapılan çalışmada Kupffer hücrelerinin ve sinüzoid endotel hücrelerinin 5-LO mRNA içerdiği ancak hepatositlerin içermediği ortaya çıkmıştır.LTC4 bütün karaciğerde, hepatosit ve sinüzoidal endotel hücrelerinde saptanmış, ancak Kupffer hücrelerinde saptanmış.Çalışmada LPS'nin LTC4 sentaz enziminin ekspresyonunu hepatositlerde 3 kat arttığı gözlenmiştir.Hepatositler arasıdonik asitten yeni lökotrien sentezleme yeteneğine sahip olmadığı, ancak LTA4'ün konjugasyonu ile LTC4 sentezinde aktif rol aldığı saptanmıştır.LPS hepatositlerde LTC4 sentaz ekspresyonunu arttırmıştır.Bu intrinsik lökotrien sentezinin inflamasyon sırasında hepatositler hasara katkıda bulunabileceği düşünülmüştür(74).

## LÖKOTRIEN BİYOSENTEZİ

Membran fosfolipidlerindeki endojen depolarda yerleşmiş olan AA ana olarak ester formda bulunur ve inflamatuvar hücrelerdeki serbest konsantrasyonu sıkı kontrol altındadır(18). AA'nın mobilizasyonunda düşük molekül ağırlıklı PLA2 (14 kD) ve yüksek molekül ağırlıklı PLA2(110 kD) görev alır.LT sentezinde ilk enzimatik basamak hücrenin çekirdek zarında oluşur.Hücre aktivasyonunu takiben (kalsiyum iyonları ve adenozin trifosfat(ATP) yardımıyla) sitozolik cPLA2 sitoplazmadan hücre çekirdeğine doğru yer değiştirir.Hem çekirdek hem de sitoplazmik 5-LO enzimleri çekirdek zarına doğru hareket eder.cPLA çekirdek membran fosfolipidlerini hidrolize ederek AA salınımına neden olur.5-LO aktive eden protein(FLAP)AA'ya bağlanarak 5-LO'ya oksijenizasyon için sunulur(42).

İstirahattaki insan ve sıçan periferik nötrofillerinde 5-LO sitoplazmada lokalizedir; sıçan bazofilik lösemi hücrelerinde ve insan alveolar makrofajlarında daha fazla olmak üzere çekirdekte bulunur.(42).5-LO aktive eden protein(FLAP) varlığında 5-LO, AA'yı 5-hidroperoksiiekozatetraenoik asite (5HPETE) dönüştürür.5HPETE'nin 5-LO ile reaksiyonu sonrası stabil olmayan LTA4 oluşur.LTA4, LTA4 hidrolaz ile LTB4'e dönüşür.Glutathion -S- transferaz (LTC4 sentaz) LTA4'ü LTC4'e dönüştürür. LTC4 gama glutamil transferaz(GGT) ile LTD4'e dönüştürülür. LTD4 dipeptidaz ile LTE4'e dönüştürülür.Şekil 2'de AA ürünlerinin sentez basamakları görülmektedir (37).



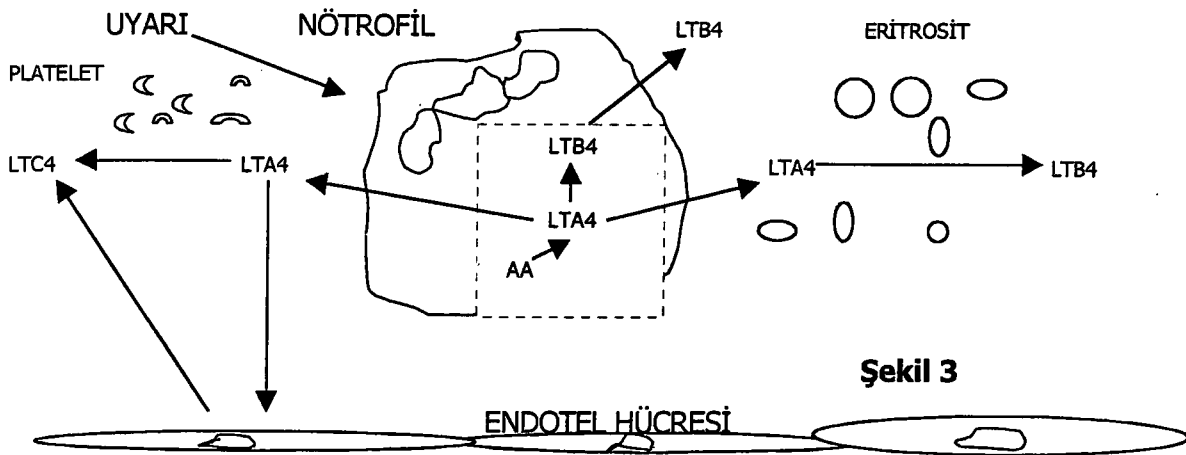
Şekil 2

Farklı büyüme faktörleri (GF) polimorfonükleer lökositlere (PMNL) etki ederek lökotrien sentezini sağlar. Rekombinant granülosit-makrofaj koloni-stimulan faktörün (GM-CSF) etkisiyle kemotaktik peptidler, platelet aktive eden faktör (PAF) ve A23187 uygulanmış eozinofil ve nötrofillerde lökotrien üretimi artmaktadır(53), insan nötrofillerinde LTB<sub>4</sub> düzeyi artmaktadır(10).

5-LO aktivitesi, "intihar" inaktivasyon işlemi ile, enzimin fazla reaktif ürünü olan LTA<sub>4</sub>'e irreversibl olarak bağlanması ile azalmaktadır. LTA<sub>4</sub>'ün fizyolojik tamponlarda yarı ömrü bir saniyeden azdır. LTA<sub>4</sub> hidrolaz sitozolik bir enzimdir, substratı LTA<sub>4</sub>'e kovalent bağla bağlanarak inaktive olur; insan nötrofillerinde LTB<sub>4</sub> sentezinin hız kısıtlayan basamağıdır(56). Kortikosteroidler lipokortinleri uyararak PLA<sub>2</sub>'yi inhibe ederek AA salınımını engeller. Nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar (aspirin, indometasin, ibuprofen) siklooksijenaz yolunu inhibe ederek PG'lerin ve TX'lerin salınımını önlemiş olurlar(67).

### TRANSSELÜLER BİYOSENTEZ

Hücre tipine bağlı olarak LT sentezinin farklı profilleri ortaya konmuştur(65). 5-LO ve LTA<sub>4</sub>-hidrolaz enzimlerine sahip nötrofiller fazla miktarlarda LTB<sub>4</sub> sentez edebilir. Hücre içinde 5-LO ve LTC<sub>4</sub> sentaz enzimleri bulunan eozinofil ve mast hücreleri tercihen LTC<sub>4</sub> sentez ederler. Birlikte inkübe edilen farklı hücre tiplerinin üretilen lökotrienlerin kalitatif ve kantitatif profilini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir(50). Nötrofillerin ürettikleri stabil olmayan LTA<sub>4</sub>'ü hücre dışına, komşu hücrelere, transfer etmesiyle primer oksidatif enzime (5-LO) sahip olmayan ancak LTA<sub>4</sub> hidrolaza (eritrositler) veya LTA<sub>4</sub> sentaza (plateletler, endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri)(76) sahip hücreler lökotrienleri sentez edebilmektedir. Bu sayede 5-LO'ya sahip olmayan hücreler dahi lökotrien biyosentezinde önemli role sahip olabilmektedir (Şekil 3).



## LÖKOTRIEN METABOLİZMASI

### **Cysteinyllökotrienler:**

LTC<sub>4</sub>'ün LTD<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub>'e biyolojik dönüşümü katabolik bir inaktivasyon olayı değildir çünkü LTD<sub>4</sub> en az LTC<sub>4</sub> kadar potent bir biyolojik aktiviteye sahip lökotriendir; LTE<sub>4</sub> de daha az potent bir lökotriendir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş LTC<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub> infüzyonu yapılan normal şahısların kanından bu lökotrienlerin hızla kaybolduğu ve ilk 2 saat içinde idrarda belli miktarlarda LTE<sub>4</sub> ekskresyonu olduğu saptanmıştır(49). Normal şahıslara verilen LT'lerin %15-50 kadarı idrarla atılmaktadır; LTE<sub>4</sub> idrarda atılan ana metabolittir ve lökotrien sentezinin bir markeri olarak kullanılmaktadır(82). Ciddi karaciğer disfonksiyonu olan hastalarda idrarla atılan LTE<sub>4</sub> miktarı birkaç katına çıkmaktadır; bu da Cys-LT'lerin katabolizma yerinin karaciğer olduğunu göstermektedir(63). Mutant sıçanlar üzerinde ve extrahepatik kolestazda yapılan çalışmalarda karaciğerde kanaliküler membrandan safraya Cys-LT transportunda yetersizlik olduğunda Cys-LT'lerin eliminasyonu kompensatuar olarak böbreklere yönelmektedir(39).

### **Lökotrien B<sub>4</sub>:**

LTB<sub>4</sub>'ün idrarda metaboliti tanımlanmamıştır. Safleştirilmiş PMNL preparatlarında LTB<sub>4</sub>'ün hızlı bir metabolizma sonrası 20-hidroksi-LTB<sub>4</sub> ve 20-karboksi-LTB<sub>4</sub>' e dönüştüğü saptanmıştır. Bu dönüşüm spesifik bir sitokrom P-450 enzimi tarafından sağlanmaktadır. Bu dönüşümün büyük kısmı intakt LTB<sub>4</sub>'ün salınımı sonrası komşu hücreler tarafından alınımıyla gerçekleşmektedir(64). 20-karboksi metaboliti düşük biyolojik aktiviteye sahip olduğundan omega-oksidasyon LTB<sub>4</sub>'ün lokal inaktivasyon mekanizmasını temsil edebilir. Bu metabolizma monosit, eozinofil ve makrofajlarda gözlenmemiştir ve in vivo koşullarda olabileceğini gösteren sınırlı sayıda kanıt vardır(65).

## **BİYOLOJİK AKTİVİTE**

### **Cystenil-Lökotrienler:**

LTC4 ve LTD4 en potent bronkokonstriktör ajanlar arasında yer alır ve histaminden 10,000 kat daha potenttir. İnsan solunum yollarında da aktiftirler (67). Hava yolu düz kas hücrelerinde kasılmaya yol açan Cys-LT'ler bu özellikleri bakımından histaminden 100-1000 kat daha etkilidirler(10). LTE4'ün bronkokonstriktör etkisi LTC4 ve LTD4'e göre daha azdır; ancak astımlı hastalarda LTE4'e karşı hipersensitivite gözlenebilmektedir. LTE4 inhalasyonu insanda hava yolu obstrüksiyonu ve eozinofil toplanmasını sağlar. Cys-LT'ler insan bronş mukozasında mukus sekresyonuna neden olarak astımda bronş lümeninin tıkanmasına neden olabilirler(51).

LTC4 ve LTD4 venöz ve arteriyel düz kas preparatlarında kontraksiyona neden olur. Potent vazokonstriktör ve kalp kasılması üzerinde negatif inotropik etkiye sahiptirler(67). Nötrofil-endotel hücresi kooperasyonu ile sentez edilen Cys-LT'ler tavşan kalbi preparatlarında belirgin koroner vazokonstriksiyona neden olmaktadır. İzole insan pulmoner ven ve arterlerinde LTD4 bazal tonun üstünde kontraksiyona neden olurken önceden noradrenalin ile kasılmış damarlarda nitrik oksit(NO) bağlı vazodilatasyona neden olur(65).

Mikrosirkülasyonda Cys-LT'ler vasküler permeabiliteyi artırabilir(8), endotel hücrelerine direkt etkiyle plazma eksudasyonuna neden olurlar. LTC4 ve LTD4'ün intradermal enjeksiyonu vazodilatasyona neden olur(65).

Cys-LT'lerin aktiviteleri spesifik membran reseptörleri yoluyla gerçekleşmektedir. Farmakolojik olarak en az iki farklı reseptör tanımlanmıştır(Cys-LT1 ve Cys-LT2)(65). Guinea domuzu akciğerinde ortaya çıkan etki nedeniyle Cys-LT3 reseptörü de olabileceği düşünülmektedir. Cys-LT1 reseptörleri aktivasyonu sonrasında G-proteinleri vasıtasıyla çeşitli mekanizmalarla intraselüler kalsiyum mobilizasyonu ortaya çıkmaktadır(65). Cys-LT1 reseptörünün geni insan X kromozomu üzerinde bulunmaktadır(48).

### **Lökotrien B4:**

LTB4 subnanomolar konsantrasyonlarda insan ve tavşan nötrofil hücrelerinin lokomasyonuna neden olmaktadır. LTB4'ün kemokinetik ve kemotaktik aktiviteleri vardır; PMNL, eozinofiller ve monositler üzerinde güçlü kemotaktik etkileri vardır(67). Sıçanların periton boşluğuna enjeksiyonu sonrasında LTB4 makrofaj ve PMNL toplanmasına neden olur. Tavşanda LTB4'ün intradermal enjeksiyonuyla bu bölgede nötrofil kümelenmesine neden olur. Yapılan bir çalışmada insanda da benzer

etkiler gösterilmiştir(65).LTB4 insanda monositlere etki ederek interlökin-6 (İL-6) salınımına neden olur(6).

İntravital mikrovasküler mikroskopide LTB4'ün hızlı lökosit adezyonuna(67), bunu takiben ekstrasvasküler dokuya diapedezine neden olduğu gösterilmiştir. Lökositlerin adezyon ve migrasyonu tamamen lökositte bağlı artmış mikrovasküler permeabilite ile sağlanmaktadır.LTB4 nötrofillerin endotel hücrelerine adezyonunu artırmaktadır(22).Yüksek konsantrasyonlarda LTB4 plazma ekstrasvazasyonuna neden olur.LTB4'ün bronkokonstriktör etkisi zayıftır(67) .

LTB4 ve az olmak üzere diğer LO ürünleri Nötrofilleri aktive ederek aggregasyonu, degranülasyonu ve süperoksit üretimini indüklemektedir. LTB4'ün kemotaktik peptide uyarısıyla oluşan oksidatif metabolizmada arttırıcı etkisi olduğu insan nötrofillerinde gözlenmiştir.LTB4'ün biyolojik aktivitesi insan nötrofillerindeki spesifik yüksek afinite bağlanma bölgeleri olarak ilk kez tanımlanan B-LT reseptörler üzerinden sağlanmaktadır.B-LT reseptörleri somatostatin reseptör tip 3, insan interlökin-8 (IL-8) reseptörü ve insan formil-peptidle ilişkili reseptör 2'ye benzerlik göstermektedir(65).

## LÖKOTRIENLERİN İNFLAMASYONDAKİ ETKİLERİ

Lökotrienler 5-LO enzimi içeren hücrelerce sentezleri sıkı kontrol altında olan güçlü lipid biyoefektörlerdir. Biyolojik aktiviteleri Cys-LT'lerin ve LTB<sub>4</sub>'ün inflamatuvar yanıtta önemli role sahip olduklarını göstermektedir(65). Allerjik rinitli hastalara nazal yoldan allerjen uygulandığında nazal lavaj sıvılarında LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> tespit edilmiştir. Aynı şekilde riniti olan hastalar soğuk veya kuru havaya maruz kaldıklarında lokal olarak Cys-LT'lerin ortaya çıktığı saptanmıştır. İnsan solunum yollarındaki farmakolojik etkileri lökotrienlerin allerjik astımın önemli mediatörleri olduğunu göstermiştir. Astımlı hastalarda yapılan çalışmalarda bronkoalveolar lavaj sıvılarında, plazmada(LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) ve aspirine duyarlı hastaların aspirinle karşılaşması sonrası nazal sekresyonlarında(LTC<sub>4</sub>) Cys-LT'ler saptanmıştır(46). Allerjenle karşılaşmış astımlı hastaların idrarında LTE<sub>4</sub> saptanmıştır.

### İnflamatuvar Hastalıklarda Lökotrienlerin Etkileri

#### 5-LO Ürünlerinin Hastalıklarla İlişkisi

<u>Hastalık</u>	<u>Göstergesi</u>
-Astım	Cys-LT inhalasyonu ile bronkokonstriksiyon; hastaların serum ve idrarında LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub> , 20-OH LTB <sub>4</sub> saptanmış
-Psöriazis	Lezyonlarında LTB <sub>4</sub> , LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> saptanmış
-Yetişkin respiratuvar distres sendromu	Bronşial sekresyonda LTC <sub>4</sub>
-Neonatal pulmoner HT	Bronşial sekresyonda LTC <sub>4</sub>
-Allerjik rinit	Burun ve konjunktiva sıvılarında LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>
-Gut	Eklem sıvısında LTB <sub>4</sub>
-Romatoid artrit	Eklem sıvısında LTB <sub>4</sub>
-İnflamatuvar barsak hast. (Ülseratif kolit, Crohn hast.)	İn vitro barsak mukoza kültüründe LTB <sub>4</sub> , rektal sekresyonlarda LTB <sub>4</sub> (46)

LTC<sub>4</sub>, vazokonstriksiyon(neonatal pulmoner hipertansiyon) veya vazopermeabilite (yetişkin respiratuvar distres sendromu) ile karakterize alt solunum yollarının nonallerjik hastalıklarını bulunduran şahısların bronkoalveolar lavaj sıvılarında bulunmuştur(46). Sistemik lupus eritematozusu bulunan hastaların idrarında artmış LTE<sub>4</sub> ekskresyonu saptanmıştır. Kistik fibrozisli hastaların balgamında



ve idrarında, hastalığın şiddetiyle paralel, artmış Cys-LT seviyeleri saptanmış. Semptomatik koroner arter hastalığı olan kişilerde perkutan transluminal koroner anjioplasti(PTCA) sonrası subakut restenoz ve ani tıkanma ortaya çıkabilmektedir. PTCA ile yapılan plak rüptürünün intrakoroner Cys-LT sentezini tetiklediği ve sonrasında koroner vazospazm gelişebildiği belirtilmektedir. Kardiyak iskemisi olan hastaların idrarında LTE4 seviyesi artmış olduğu bildirilmektedir.LTB4'ün inflamatuvar hastalıklarla ilişkisi hakkında az miktarda bilgi bulunmaktadır.İn vitro ve in vivo çalışmalarda ülseratif koliti ve Crohn hastalığı olan kişilerin kolon mukozasında LTB4 üretildiği ve salındığı saptanmıştır(65).

Astım lökotrienlerle ve anti-lökotrien ilaçlarla ilgili en çok araştırma yapılan hastalıklardan bir tanesidir.Lökotrienler astım patofizyolojisinde etkili potent pro-inflamatuvar mediatörlerdir.Cys-LT'ler hava yollarında düz kas hücrelerini kasar, mikrovasküler permeabiliteyi artırır, mukus sekresyonunu uyarır, mukosiliyer klirensi azaltır, eozinofillerin hava yoluna toplanmasını sağlar.Astımlı hastalarda segmental antijen bronkoprovokasyonu, hava yollarına eozinofil akışıyla korele, bronkoalveolar lavaj sıvısında LTC4 konsantrasyonunu arttırmaktadır.LTB4 selektif olarak nötrofil fonksiyonlarını etkiler.Trakea içine LTB4 verilmesi akciğerlere selektif olarak nötrofil toplanmasına neden olmaktadır.Bütün bu sonuçlar Lökotrienlerin astımın inflamatuvar komponentine anlamlı şekilde katıldığını göstermektedir(10). Spesifik LT reseptör antagonistlerinin veya 5-LO yolu inhibitörlerinin kullanılması astımlı hastalarda hava akımını arttırmakta ve hastalığın semptomlarını azaltmaktadır(26).

Bütün bu çalışmaların sonuçları lökotrienlerin bir çok hastalığın inflamatuvar yönü üzerinde etkili olduğunu göstermekle birlikte lökotrienlerin çeşitli mekanizmalarla inhibisyonun hastalıklarda düzelmeye sağladığını da kanıtlamaktadır.

## LÖKOTRIEN AKTİVİTESİNİ DEĞİŞTİREN MEKANİZMALAR

Inflamatuvar komponenti olan hastalıklarda lökotrienlerin aktivitesinin değiştirilmesi veya inhibe edilmesiyle hastalarda belirgin semptomatik düzelme sağabilmektedir. Bu amaçla lökotrienlerin sentez yolunun farklı basamaklarında yapılacak blokajla lökotrienlerin aktivitesi değiştirilebileceği veya spesifik olarak inhibe edilebileceği düşüncesiyle çeşitli kimyasal maddeler geliştirilmiştir.

### ***Anti-lökotrien etkisi elde etmek için kullanılan mekanizmalar:***

1. 5-Lipoksijenaz (5-LO) inhibitörleri
2. 5-LO aktive eden protein (FLAP) inhibitörleri
3. Lökotrien reseptör antagonistleri

### **1. 5-LO İnhibitörleri**

Araşidonik asitin lökotrienlere doğru ilerleyen metabolizması ilk basamağında bloke edilmektedir. Bu mekanizmayla hem Cys-LT hem de LTB<sub>4</sub> sentezi engellenmektedir.

**5-LO inhibitörlerinin 3 ayrı sınıfı bulunmaktadır(45):**

**a. Redox reaksiyonlarını inhibe eden grup:** 5-LO demir içeren bir enzim olduğu için ferrik iyonların ferröz iyonlara redüksiyonuyla inaktive edilebilmektedir. Ancak selektif olmadıkları için komplikasyonlara neden olmaktadır (A). Örnek: Flavonoidler, nafazatrom (BAY-G576), naftalin deriveleri (RS-43179, Wy-47288), retinol (vitamin A) (26).

**b. Non-redox inhibitörler içeren grup:** 5-LO'nun enantiomer selektif inhibisyonunu yapmaktadırlar. Örnek: ICI-D2138. AA'nın indüklediği inflamasyonu azaltır.

**c. Hidroksamik asit analogları:** N-hidroksiüre derivativesi. Örnek: Zileuton (A-64077) Docebetnone (AA-861) (26,45)

### **2. FLAP İnhibitörleri**

İndirekt yolla 5-LO inhibisyonu sağlamaktadır. Bu proteine bağlanan maddeler 5-LO aktivasyonunu engelleyerek LT sentezini engellerler. Örnek: MK-886, MK-591, BAY-X-1005

### **3. Lökotrien Reseptör Antagonistleri**

Direkt olarak LT reseptörlerine etki ederek selektif olarak reseptörleri inhibe eden farmakolojik ajanlar bu grupta bulunuyor. LTD<sub>4</sub> reseptör antagonistleri hedef hücrelerdeki Cys-LT'lerin (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) aktivitesini bloke ederek etkilerini

göstermektedir.İlk LT reseptör antagonisti 1973'te geliştirilen FPL-55712 idi.Daha sonra bir çok yeni LT reseptör anatgonistleri geliştirildi: L-648051, L-649923, tomelukast(LY-171883), sulukast(LY-170680), SKF 104353.Ancak bu ajanlar güçlü etkiye sahip olmadığı için daha güçlü ajanlar geliştirmek amacıyla araştırmalar devam etmiştir.Sonuçta daha selektif ve daha potent LT reseptör antagonistleri geliştirilmiştir; bu grupta:zafirlukast(ICI-204219), MK-0571, verlukast(MK-0679) ve pranlukast(ONO-1078) bulunmaktadır(45).



## **ZAFİRLUKAST(ICI 204,219) (Accolate, ZENECA Pharmaceuticals)**

Zafirlukast, montelukast ve pranlukast gibi potent Cys-LT 1-selektif antagonisttir ve lökotrienlerin aracılık ettiği patolojik olayları hem deneysel hayvan modellerinde hem de klinik hastalık modellerinde bloke eder(38,48).Zafirlukastla ilgili yapılan klinik araştırmaların çoğu inflamatuvar komponentinde etkili olduğu astım hastalığı üzerinde yoğunlaşmıştır. Lökotrienler astım hastalığının altında yatan inflamatuvar olaylarda önemli role sahip mediatörler olduğundan bu mediatörleri inhibe eden zafirlukast bu konuda yeni bir antiinflamatuvar seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır(38).Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar zafirlukastın hafif ve orta şiddetli astım hastalarında ilk basamak tedavide kullanılabileceğini desteklemektedir. Zafirlukast, LTD4, PAF ve egzersizle indüklenen bronkokonstriksiyonu antagonize eder ve atopik astımlı hastalarda allerjen provokasyonunu takiben ortaya çıkan erken ve geç faz reaksiyonlarını bloke eder(38).LT reseptör antagonistleri soğuk, egzersiz ve aspirinle tetiklenen astımda etkilidir(58).Bir çalışmada zafirlukastın farede, sıçanda ve köpektaki in vivo metabolizma ve ekskresyonu araştırılmış; radyoaktif işaretli zafirlukast aktivitesinin tama yakın olarak feçeste atıldığı saptanmış.Bu çalışma biliyer klirensin zafirlukastın eliminasyonunda önemli bir yol olduğunu göstermektedir(70).İnsanda zafirlukast egzojen olarak uygulanan LTD4'ün ve fiziksel veya kimyasal uyarılar sonrası endojen olarak salınan Cys-LT'lerin etkisini antagonize etmektedir.Zafirlukastın LTD4 ile indüklenen bronkokonstriktör etkiyi ilacın uygulanışından 12 saat sonra hala devam ettirdiği saptanmış.Segmenter antijen uyarımı yapılan çalışmalarda zafirlukastın akciğerde antiinflamatuvar etki ortaya çıkaran efektif ve güvenli bir ilaç olduğu saptanmış(12).Zafirlukast ve montelukast doğal ligant olan LTD4'den 2 kat fazla reseptör afinesini göstermektedir(3). Zafirlukast selüler(bazofilik) infiltrasyonu ve antijenle karşılaşma sonrası ortaya çıkan aktivasyonu değiştirmektedir(13). İlaç genellikle iyi tolere edilebilen kompetitif ve selektif bir antagonisttir.Günde 2 kez alınan 40miligramı aşan dozda(yüksek doz) ilacı alan hastalarda karaciğer enzimlerinde yükselme olduğu bildirilmiştir.Warfarin, terfenadin ve eritromisin gibi ilaçları alan hastalarda ilaç etkileşimleri ortaya çıkabileceği için hastalar yakından takip edilmelidir(1).Zafirlukastla tedavi edilen 4000 hastanın nadir hepatit vakalarına(non-A,-B veya -C) rastlanmıştır(ilaçla ilişkili olup olmadığı bilinmiyor)(19).Çok merkezli klinik bir çalışmada zafirlukastın kronik stabil

astımda semptomları gerilettiği, beta agonist ihtiyacını azalttığı, olumsuz etkileri ortaya çıkmadan pulmoner fonksiyonları iyileştirdiği saptanmıştır(12).

### **Farmakodinamik Özellikler**

Zafirlukast potent ve yüksek selektif tip 1 Cys-LT reseptör antagonistidir; afinitesi doğal liganttan 2 kat daha fazladır(24).Zafirlukast spesifik olarak lökotrien reseptörlerine etkilidir.İn vitro çalışmalar zafirlukastın insandaki iletili hava yollarının düz kaslarında peptid yapısındaki 3 lökotrienin(LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) kontraktil aktivitesini aynı derecede antagonize ettiğini göstermiştir.Zafirlukast semptomatik astım hastalarında semptomları düzeltir, akciğer fonksiyonunu düzeltir, beta agonistlerine duyulan ihtiyacı azaltır(12).

### **Farmakokinetik özellikler**

Plazmadaki maksimal zafirlukast konsantrasyonları ilacın oral kullanımından yaklaşık 3 saat sonra elde edilmiştir.Günde iki defa 30-80 mg arasında değişen ilaç dozlarının kullanılmasından sonra plazmadaki zafirlukast birikimi düşük olmuştur(ilik doz değerinin ortalama 1.45 katı).Zafirlukast'ın terminal yarı ömrü yaklaşık 10 saattir.Plazmadaki kararlı zafirlukast konsantrasyonları kullanılan dozla orantılıdır ve tek doz farmakokinetik verilerine bakılarak tahmin edilebilir.Zafirlukastın besinlerle birlikte alınması ilacın biyoyararlanım oranındaki değişiklikleri arttırmış ve hastaların büyük bölümünde (%75) bu oranın azalmasına neden olmuştur; net azalma %40 dolayında gerçekleşmiştir. Zafirlukast geniş kapsamlı olarak metabolize edilir.Radyoaktif olarak işaretlenmiş bir dozdan sonra radyoaktivitenin %10 kadarı idrarda , %89'u dışkıda saptanmıştır.İdrarda değişikliğe uğramamış zafirlukast bulunmaz.İnsan plazmasındaki zafirlukast metabolitlerinin zafirlukast'ın ancak 90'da biri kadar etkili oldukları standart bir invitro aktivite testinde gösterilmiştir.Yaşlılardaki ve alkolik siroz vakalarındaki plazma maksimal konsantrasyonları aynı dozun verildiği normal kişilerdekinin yaklaşık iki katı bulunmuştur.Hafif böbrek bozukluğu olan hastalar ile normal vakalar arasında zafirlukast farmakokinetikleri arasında önemli farklılık yoktur.Zafirlukastın %99'u , 0.25-4.0 mikrogram/ml arasında değişen konsantrasyonlarda, plazma proteinlerine ve özellikle de albumine bağlı durumdadır ( 12).

LT reseptör antagonistleri hakkında bu güne kadar birkaç anlamlı yan etki bildirilmiştir.Bu özellikleri nedeniyle bazı durumlarda klinik etkinliği arttırmak için ilaç dozu artırılabilir(12).

## **İlaç etkileşimleri**

Bu ilaçlar genellikle karaciğer tarafından metabolize edildiğinden P450 inhibitörleriyle ciddi ilaç etkileşimleri ortaya çıkabilir.Eş zamanlı teofilin verilmesi serum zafirlukast düzeylerini %30 azaltmaktadır; teofilin düzeyi etkilenmemektedir. Zafirlukast warfarin metabolizmasını azaltır; bu ilaç kullanılırken kanama parametrelerinin yakın takibinin yapılması gerekmektedir.LT reseptör antagonistlerinin hepatic toksisiteye neden olduğu ve geçici olarak karaciğer enzimlerinde yükselmelere neden olduğu bildirilmiştir(48).

Zafirlukast'ın guinea domuzlarına oral yoldan verilmesiyle median efektif doz(ED50):0.52 mikromol/kg ve farmakodinamik yarı ömrü >816 dakika bulunmuş.(42).

## İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI (İRİH)

Reperfüzyon hasarı, daha önce iskemik olan dokuya kan akımının düzelmesi ile ortaya çıkan hücre ölümü veya disfonksiyonudur(5).Hepatik iskemi-reperfüzyon dolaşımsal ve metabolik bozulma, karaciğer disfonksiyonu ve doku hasarıyla karakterizedir(83).Bu bir iskemi atağını takiben ortaya çıkan normal onarım işleminden ayrılmalıdır.Karaciğerdeki reperfüzyon hasarı: **a.** sıcak iskemi/reperfüzyon hasarı, **b.**soğuk depo/reperfüzyon hasarı olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.Sıcak iskemi/reperfüzyon hasarı şok ve karaciğer cerrahisi(travma, tümör rezeksiyonu) ile ilgilidir; soğuk depo/reperfüzyon hasarı karaciğerin transplantasyon için hazırlanıp transport edilmesiyle ilgilidir(47).

Cerrahi teknik ve perioperatif bakımda gelişmelerle birlikte karaciğer transplantasyonu ve geniş karaciğer rezeksiyonlarında belirgin gelişme sağlanmıştır.Ancak major karaciğer cerrahisinin postoperatif döneminde karşılaşılan karaciğer yetmezliği ve mortalite ciddi problemler olarak karşımıza çıkmaktadır; bunlar da hepatik damarların klempajı sonrasında ortaya çıkan iskemi-reperfüzyon hasarından kaynaklanmaktadır.Geniş rezeksiyon yapılan vakaların hemen hepsinde kanama komplikasyonunu azaltmak için geçici hepatik vasküler klempaj gerekmektedir; karaciğer transplantasyonunda da çıkarılma ve reanastomoz arasında geçen süredeki iskemi kaçınılmazdır.Önceleri iskemik hasarın daha zararlı olduğu düşünülmüş ve bütün çabalar iskemi süresini kısaltmaya yöneltilmiş.Ancak bu günlerde reperfüzyon hasarının doku zedelenmesinde daha ciddi neden olduğu ve mikrovasküler yapılarıdaki oksijen serbest radikallerinin direkt etkisinin olduğu düşünülmektedir(36).

Karaciğer hepatik arteriyel ve portal venöz akım nedeniyle kan akımı bol olan bir organdır.Karaciğer dokusunun viabilitesi hepatik sinüzoidleri döşeyen hücrelerin kontrol ettiği hepatik mikrosirkülasyonun durumuna bağlıdır.Hepatik iskemi ve reperfüzyon karaciğer travması, hepatektomi ve transplantasyon gibi cerrahi işlemler sırasında kaçınılmazdır.İskemik olarak hasarlanmış dokuya reperfüzyonun sağlanması doku hasarını artırır(77).

Karaciğer tümörlerinin rezeksiyonunda uygulanan total vasküler ekslüzyon(TVE) diğer tekniklerle güvenli bir şekilde rezeksiyon yapılamayan tümörlerin rezektabilitesini arttırmıştır.Sirotik karaciğerler TVE ile ilgili iskemik hasara karşı normal karaciğerlerden daha hassastır(85); TVE'de de karaciğer, iskemi ve reperfüzyon hasarına maruz kalmaktadır.

Karaciğer travması bulunan çoğu hastada kanamayı kontrol altına almak veya onarımı kolaylaştırmak amacıyla hepatik kan akımının durdurulması gerekmektedir. Bu tür hastalarda anlamlı sayıda sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS) ve multipl organ disfonksiyonu(MOD), salınan sitokinlere ve dokuya nötrofil akışına bağlı olarak, ortaya çıkmaktadır (14).Acil resusitasyonda da bir komplikasyon olarak sistemik inflamatuvar yanıt sendromu(SIRS) gelişebilmektedir.Geçmişte bu, sepsise benzeyen semptomlarıyla multipl organ yetmezliği olarak tanımlanmıştı.Bu sendromun başlıca bulguları kapiller membranların bozulduğu ve fazla interstisiyel sıvının toplandığı periferel vazodilatasyondur.Bu sendromun gelişimiyle ilgili bazı hipotezler ortaya atılmıştır.Bu teorilerden biri:gastrointestinal sistemdeki iskemik hasar barsakların bariyer fonksiyonunu bozar ve enterik bakterilerin endotoksinlerinin dolaşıma katılarak sepsis benzeri semptomlara yol açmasına neden olur(75).

Erken reperfüzyon iskemik dokunun yaşaması için mutlak önkoşuldur.Ancak reperfüzyon "iki kenarı keskin kılıç" 'a benzer. İskemik veya sıcak şoku ön uygulaması iskemiye takiben ortaya çıkan reperfüzyon hasarını azalttığı bilinen endojen korunma stratejileridir(44). Bir organın iskemik ön koşullanması(ischemic preconditioning; IPC) daha uzun süreli iskemi ve takiben reperfüzyonla ortaya çıkan hasara karşı savunmayı indükleyebilir. Sıçanlar üzerinde yapılan karaciğerdeki iskemi ve reperfüzyon hasarı ile ilgili bir çalışmada IPC ve iskemi öncesi dipiridamol uygulanması karşılaştırılmış ve sonuçta her iki uygulamanın da karaciğerdeki reperfüzyon hasarını azaltıcı olumlu etki yönünde birbirine denk olduğu bulunmuştur.IPC'de adenozinin çok önemli bir faktör olduğu ortaya çıkmıştır(59).

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada aralıklı hepatik pedikül klempajının sadece karaciğerde değil aynı zamanda akciğerde de iskemi ve reperfüzyon hasarını azalttığı saptanmıştır(40).Deneysel çalışmalarda karaciğer hasarının seviyesi karaciğer enzimlerinin düzeylerinin değerlendirilmesiyle belirlenmiştir(81).

İskemi sonrası reperfüzyon ciddi organ hasarı veya disfonksiyonuna neden olabilir.**İnflamasyon** bu tür doku hasarında en önemli faktör olarak düşünülmektedir.Farklı sebeplerden oluşan varsayımlara rağmen iskemi sonrası inflamasyon ve organ hasarını tetikleyen mekanizma açıklanmayı beklemektedir(17).

Major hepatektomi amelyatları yapılan hastaların 90 ve 127 dakika süreyle devamlı olarak hepatik kan akımının engellenmesini, karaciğerde kalıcı hasar oluşmaksızın, tolere edebildiği yayınlanmıştır.Ancak Liu ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada sıçanlarda 90 veya 120 dakika süreyle hepatik kan akımını devamlı olarak engellenmesi ile karaciğer, akciğer, kalp ve barsaklarda çeşitli



hasarlara yol açabileceğini göstermiştir; çalışmalarının sonucunda da 90 dakikalık hepatic kan akımının devamlı olarak engellenmesi işleminin insanlarda da zararlı olabileceğini belirtmiştir. Horiuchi T. ve ekibinin karaciğer cerrahisi sırasında hepatic damarların intermitant olarak klemplenmesini değerlendirmek ve iskemi-reperfüzyonun optimum sürelerini belirlemek için yaptıkları deneysel çalışmada sıçan karaciğerinde irreversible hasar oluşturmayan maksimum iskemik periyodun 15 dakika, tekrarlanan reperfüzyon sürelerinin 15 dakika olduğunda hasarın şiddetinin az olduğunu belirlemişler(28).

İskemik hepatit yoğun bakım ünitelerine yatırılan hastaların %0.16-0.50'sinde görülen sık olmayan bir durumdur ve sıklıkla hipotansiyon ve akut kalp yetmezliği atağını takiben ortaya çıkar.34 hastanın retrospektif analizinin yapıldığı bir çalışmada bütün hastaların SGPT'si(ortalama 2073+/-255) ve LDH'si(ortalama 6085+/-748) çok yüksek olarak bulunmuş.SGPT/LDH oranı 0.34 olarak bulunmuş.Başvuru sırasında en sık tanı respiratuar distress sendromuymuş.Hepatic disfonksiyon gelişmeden önce solunum yetmezliği ve hipoksemi hastaların %68'inde saptanırken, hipotansiyon hastaların %38'inde saptanmış.İskemik hepatit yüksek ölüm oranına sahip olup özellikle sol kalp yetmezliği gibi multipl eşlik eden sistemik hastalığı olan kişilerde görülmektedir.Bu hastaların karaciğer fonksiyon testleri yakından takip edilmelidir(20). Yapılan deneysel çalışmalarda karaciğer hasarının şiddetinin belirlenmesi amacıyla plazmada SGOT, SGPT, LDH düzeyleri incelenmektedir(66,79,83).

Kalple ilgili olarak literatürde dört tip reperfüzyon hasarı tanımlanmıştır:

- 1.Ölümcül reperfüzyon hasarı
- 2.Ölümcül olmayan reperfüzyon hasarı
- 3.Reperfüzyon aritmileri
- 4.Vasküler hasar( "no-reflow" fenomeni).

Reperfüzyon hasarına aracılık eden üç major bileşen önerilmiş:

- 1.Oksijen serbest radikalleri
- 2.Kompleman sistemi
- 3.Nötrofiller

Deneysel çalışmalarda postiskemik inflamatuvar yanıtın farklı evrelerinin blokajı ile kısa dönem faydalar sağlanmıştır. Oksijen serbest radikallerinin yok edicileri, kompleman inhibisyonu, lökosit tüketimi(süpresyon), çeşitli adezyon moleküllerine karşı antikorlar iskemi-reperfüzyon deneysel modellerinin bir çoğunda infarkt alanının büyüklüğünü azalttığı gösterilmiştir.Fakat bu kullanılan ajanların çoğu klinik

kullanımında başarı sağlayamamıştır; bunun yanı sıra bu tür girişimlerin uzun dönem faydaları bilinmemektedir(5).

Splanknik organların hepatik iskemi ve reperfüzyon hasarı üzerine etkileriyle ilgili yapılan bir çalışmada splanknik organların karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarına katılabildiği ve yapılan portosistemik şantın indüklenabilir NO sentaz enzimi yoluyla karaciğerdeki sıcak iskemi hasarına toleransın arttığı saptanmıştır(69). Hepatosit metabolizması ve fonksiyonlarının aktive Kupffer hücreleri tarafından modüle edilebildiği bununda da sitokinler, ekozanoidler, oksijen serbest radikalleri ve enzimler aracılığıyla sağlandığı bilinmektedir. Aktive Kupffer hücrelerinden salınan TNF, interlökinler, ekozanoidler gibi bir takım biyomoleküller aracılığıyla mitokondrial elektron akımına müdahale inhibe edilen mitokondrial solunum halkası yoluyla reaktif oksijen türlerinin miktarını arttırmaktadır; bu da postiskemik oksidatif stresin indüksiyonuna yol açarak karaciğer hasarına neden olmaktadır(16).

Reaktif oksijen metabolitleri ve endotelinler, tromboksanlar gibi vasküler endotelial faktörler iskemi-reperfüzyon hasarının reperfüzyon komponentinin mediatörleri olduğu bulunmuştur(23). PGE1 lökosit-endotel hücresi adezyonunu azaltarak (endotel üzerinde interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonunu azaltarak) karaciğeri iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı korumaktadır(57). LTB4'ün iskemi-reperfüzyon hasarının patogenezindeki öneminin araştırıldığı bir deneysel çalışmada 45 dakikalık iskemi sonrasında ilk 6 saatte LTB4'ün karaciğer dokusunda iskemi öncesi konsantrasyon değerlerinde olduğu 15 ve 24 saat sonraki kontrollerde ise kontrol değerinin 50 katına yükselmiş olduğu saptanmıştır. Plazmadaki SGPT aktivitesi hasarın iki fazı olduğunu göstermiştir; reperfüzyonun ilk birkaç saatinin başlangıç fazı, reperfüzyonun 6 ve 24. saatler arasındaki daha şiddetli faz olan ikinci fazı olduğu saptanmıştır(29).

Oksijen serbest radikalleri, enerji tüketimi ve inflamasyon İRH'nin muhtemel sebepleri olarak önerilmektedir. Barsaklar, pankreas, deri ve kalpte oksijen serbest radikallerinin iskemi ve reperfüzyon hasarına yol açtığı ispatlanmıştır. Proteaz inhibitörleri karaciğerde İRH'yi süprese etmektedir; bu supresyon antioksidant artışına veya oksijen serbest radikallerinin supresyonuna bağlıdır(36).

İRH karaciğer transplantasyonu sonrasında karşılaşılan problemlerden biridir. Birçok çalışmada erken postoperatif fazdaki yüksek enzim salınımı ile primer disfonksiyon veya nonfonksiyon arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Klinik karaciğer hastalığı olan hastalara hidrofilik safra tuzu tauroursodeoksikolat (TUDC) uygulanması serum karaciğer enzimlerini azaltmaktadır. Sirotik hastalarda TUDC

tedavisi serum AST, ALT ve bilirubin düzeylerinde düzelme sağlamıştır. Sığınlarda ve domuzlarda yapılan çalışmalarda transplantasyon öncesi grefte uygulanan TUDC'nin posttransplant dönemde karaciğer fonksiyon testlerini iyileştirdiği saptanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda TUDC'nin transplantasyon sırasında karşılaşılan iskemi ve reperfüzyon hasarını azaltmak için kullanılabileceği önerilmektedir(27).

Hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde, endotel hücrelerinde stellat hücrelerde üretilen nitrik oksit(NO: endotelyal gevşetici faktör) karaciğerde sinüzoidal akımı düzenlemekte ve hepatositlerdeki çeşitli metabolik fonksiyonları modüle etmektedir. NO'nun biyolojik fonksiyonu cGMP artışı ile sağlanmaktadır; vasküler düz kas hücresi gevşemekte ve platelet agregasyonu inhibe olmaktadır. Domuzda yapılan çalışmada 8-Br-cGMP'nin intraportal verilmesiyle portal ven akımının ve hepatik doku kan akımının sıcak iskemi ve reperfüzyon sonrası iyileştiği saptanmıştır. Sonuçta cGMP'nin karaciğer iskemisine neden olan cerrahi girişimlerde hepatik dolaşımı korumada fayda sağlayacağı belirtilmiştir(52).

Postiskemik karaciğer dokusunun elektron mikroskobu ile incelenmesiyle parankimal olmayan hücrelerde değişiklikler(sinüzoidleri düşeyen hücrelerde şişme ve Disse aralıklarında genişleme) ve parankimal hücrelerde büyük hasar (mitokondrilerde şişme, kaba endoplazmik retikulumun bozulması, vakuolizasyon, tam sitoplazmik dejenerasyon) saptanmıştır(83). Reperfüzyon hasarı karaciğerdeki hasarın yanı sıra tetiklediği inflamatuvar yanıt sayesinde diğer uzak organlarda da hasara neden olabilmektedir. Patofizyolojideki gelişmeler ışığında, mikrovasküler bozukluğun sınırlanmasının ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan kaçınılmaz inflamatuvar yanıtın minimale indirilmesinin önemli olduğu anlaşılmıştır. Aksi halde bu inflamatuvar yanıt kritik noktayı geçerek kendini agreve eden bir işlem haline dönüşür ve bu da tüm organizmayı olumsuz etkileyerek hasara neden olur. Bu durumda sıcak iskemi zamanını kısa tutmak avantajlı olacaktır. Ancak kısa süreli iskemi dahi inflamatuvar hücreleri aktive ederek uyarılmış hale getirebilir. Bu inflamatuvar hücreler hiperaktif halde olduğundan hastalar risk altındadır, çünkü endotoksemi, sepsis veya ilave travma gibi ikincil darbeler sonrasında inflamatuvar yanıtta ve hasarda masif agrevasyon ortaya çıkmaktadır. Her ne kadar immün sistemin uyarılmış olması reperfüzyon sırasında olumsuz etkilere yol açabiliyorsa da immün sistemin baskılanmış olduğu durumlarda hastalar bu kez enfeksiyonlara karşı yüksek risk altındadır. Bütün bu bilgiler ışığında iskemi öncesindeki immün sistemin durumu kadar reperfüzyon sırasında immün sistemi etkileyen ilave patolojik durumlar da reperfüzyon hasarının şiddetini belirlemede etkili olmaktadır(32).

## **KARACİĞER SICAK İSKEMİSİNİ TAKİBEN GELİŞEN REPERFÜZYON HASARININ MEKANİZMASI**

Hepatik İRH'de karaciğer mikrosirkülasyonu major hedef olarak düşünülmektedir. Hepatik parankimal doku hasarının belirginleşmesine neden olan mikrovasküler hasarın doğasında mikrovasküler perfüzyon eksikliğine bağlı **hipoksi**(tekrar akımın olmaması: no-reflow) ve lökosit, Kupffer hücresi aktivasyon ve disfonksiyonunun olduğu **reperfüzyonla ilişkili inflamatuvar yanıt**(tekrar akım paradoksu: reflow paradox) bulunur(55). Reperfüzyon hasarının mekanizmasında, Kupffer hücreleri ilk sitotoksik hücre tipi ve birçok proinflamatuvar mediatörlerin kaynağı olarak "santral" role sahiptir. Daha sonra nötrofiller aktive edilir ve karaciğere toplanmaya başlarlar. Nötrofiller zarar vermeksizin apoptosise uğrayabilir veya sinosoidlerin dışına migrasyonu sonrası parankim hücrelerine zarar verebilirler. Ayrıca reperfüzyon esnasında önlenemeyen inflamatuvar cevaba ek olarak, vasodilatörler ve vasokonstriktörler arasındaki dengesizlikten kaynaklanan, mikrosirkülatuvar perfüzyon yetersizliği reperfüzyon hasarına ciddi derecede katkıda bulunmaktadır. Temel patofizyolojinin iyi bir şekilde anlaşılması terapötik müdahaleler için hedefleri göstermesi yanında reperfüzyon hasarını ağırlaştır eden risk faktörlerden sakınmayı da sağlayacaktır.(32)

Sıcak hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı rezeksiyon, karaciğer transplantasyonu ve hemorjik şok sırasında olur. Bu karaciğerde lokal zedelenmeye yol açabileceği gibi, yeterince şiddetli ise sistemik organ disfonksiyonuna da neden olabilir. Yaralanma mekanizmaları farklı olarak ele alınabilirse de, tüm hasarın oluşmasında her bir komponentin değişik derecelerde etken olabileceğinin bilinmesi önemlidir. Yapılan deneysel çalışmalarda iskemi süresi, inflamatuvar hücrelerin endotoksin/sepsis ile uyarılması gibi farklı durumlarda farklı mekanizmaların farklı oranlarda devreye girdiği görülmüştür.(32)

### **KUPFFER HÜCRELERİ (KH)**

#### **Reaktif oksijen türleri**

Reperfüzyon hasarı mekanizmasında xantin oksidaz-derivesi reaktif oksijen türlerinin patofizyolojiden sorumlu olabileceği hipotezi ortaya atılmış(2). En basit olarak reperfüzyon esnasında meydana gelen oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu(LPO) aracılığı ile hücre hasarına sebep olabileceği düşünülmüş. Antioksidan girişimlerin yapıldığı çok sayıda araştırma bu hipotezi desteklemektedir. Ancak yapılan mekanistik çalışmalarda LPO'nun hasar mekanizması ile ilişkili ciddi

tartışmalar ortaya atılmıştır. Anlarnii miktarda karaciğer hücre hasarı oluşturmak için gereken LPO'su reperfüzyon sırasında ölçülen miktarından daha fazla olmaktadır. Bu bilgiler patolojik durumlarda hepatositlerde intracellüler oksidant yükünün(stres) varlığı ihtimalini dışlamaz.Bilakis uzamış hipoksi veya iskemi durumlarında intraselüler reaktif oksijen oluşumu tespit edilebilir.Bu durumlarda xantin oksidaz ve mitokondri intracellüler oksidant yüküne katılırlar.Bununla birlikte intraselüler reaktif oksijen oluşumu için gerekli olan durumda hepatositlerde ciddi iskemik hasar vardır(34).Bu durumlardaki hücreler, intraselüler oksidant yüküne bakılmaksızın, muhtemelen yaşayamayacaklardır.

Patofizyolojik-ilişkili durumlarda intraselüler reaktif oksijen formasyonunun olmaması ilgiyi hepatic vasküler yataktaki oksidant yüke yöneltmiştir.Gadolinum klorid ve metil palmilat ile yapılan çalışmalar Kuffer hücrelerinin invivo ortamda reperfüzyon hasarının başlangıç fazında reaktif oksijen üretiminde etkili olduğundan patofizyolojide vasküler oksidant yükünün önemli olduğu görüşü ortaya atılmış. Yapılan çalışmalar ışığında oksijen radikalleri ile indüklenen LPO'nun temel hasar mekanizması olmadığı anlaşılmaktadır.Proteaz inhibitörleri ile yapılan deneysel çalışmalar kupffer-hücreyi kaynaklı hasar fazında proteazların rol oynayabileceğini göstermiştir(32).

KH'leri hipoksi ve sonrasındaki reoksijenasyon ile aktive edilebilir.Fakat oluşan reaktif oksijen sadece orta ve kısa ömürlüdür.Ancak invivo başlangıç aktivasyonu kompleman faktörlerince potansiyalize edilmektedir bu da oksidant yükünün artmasına yol açmaktadır.Komplaman sistemi aktivasyonu aynı zamanda nötrofilleri de etkilediğinden erken ve geç fazlarda reperfüzyon hasarının efektif olarak azaltılmasında, birçok fırsat sunmaktadır(33).İlginç olan kompleman faktörleri sadece inflamasyon hücrelerini aktive etmez aynı zamanda karaciğerdeki defans mekanizmalarını da başlatır.İlk kez iskemi-reperfüzyon esnasında tanımlanan. daha sonra endotoksemide de gösterilen Glutasyonun(GSH) hepatositlerden artmış dışa atılımına neden olmaktadır. Aynı zamanda KH'den reaktif oksijen oluşumunu uyaran komplaman faktörlerinde olduğu gibi aynı mediatörlerle aktive bir defans sistemi hepatic damar yapısını Kupffer hücre hasarından korumaktadır.Sinüzoidlerdeki ekstraselüler GSH reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir(32).

## **Proinflamatuvar sitokinler**

Reaktif oksijen ve proteazlar yanı sıra reperfüzyon esnasında salınan sitokinlerin de majör kaynağı KH'dir.Reperfüzyon esnasında tümör nekrotize edici faktör-alfa(TNF-a) ve interlökin-1(IL-1) üretilir(80).Reperfüzyon hasarının ikinci fazında ortaya çıkan sitokinlerin dominant etkisi nötrofilleri aktive etmektir.Ayrıca TNF-a ve IL-1 ile birlikte kompleman faktörleri(C5a) ve trombosit aktive edici faktör(PAF) de karaciğerde nötrofil sekestrasyonunu tetikleyebilir(71).Nötrofil kaynaklı karaciğer hasarında adezyonu sağlayan Mac-1 molekülünün salınımı TNF-a ve c5a ile arttırılmaktadır.TNF-a ve IL-1; kemokinler ve adhezyon molekülleri gibi proinflamatuvar genlerin ve transkripsiyon faktörlerinin potent aktivatörleridir.Son bilgiler splenektominin TNF-a formasyonunu azaltabileceğini ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir(60).Bu bilgiler Kupffer hücrelerinin aktivasyonunda ekstrahepatik kaynakların olduğunu veya karaciğer-dışında uyarıların varlığını düşündürmektedir.Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunda CD4+ T-lenfositlerin kritik regülatör role sahip olduklarını gösterilmiştir.Bu hipoteze göre sitokinlerin asıl etkisi nötrofil ve endotel hücresi(EC) aktivasyonudur.CD4+ T-lenfositlerde azalma reperfüzyon esnasında nötrofil birikimini önleyecektir ve nötrofile bağlı hasar fazından karaciğeri koruyacaktır(86).Yeni yayınlar PAF'ın TNF-a ve kemokin üretiminde düzenleyici rolü olduğunu belirtmektedir.Tek başlarına etkileri ve sitokin ağında birbirleriyle olan ilişkileri çok çeşitli olan bu sitokinlerin iskemi ve reperfüzyon hasarındaki etkileri tam olarak aydınlatılmamıştır.İskemi ve reperfüzyon hasarında sitokinlerin kaynağı olarak kupffer hücrelerinin üzerinde durulmaktadır(77).Sonuç olarak reperfüzyon sırasında KH aktivasyonu (sitokin salımı) iyi anlaşılammıştır ve ileri araştırmalar gerekmektedir.

## **NÖTROFİLLER**

Sıcak karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında nötrofillerin neden olduğu hasar fazı KH ile modüle edilen karaciğer hasarından saatler sonra başlamaktadır. Nötropeni hasarın az olmasına neden olurken reperfüzyonun ilk 5-6 saatindeki nötropeni koruyucu değildir.Endotoksemilerde karaciğerdeki tüm nötrofillerin sadece %30 kadarı migrasyon yapar ve hasara neden olur. Nötrofiller oksidant yüküne katılırlar, 12-hidroksi ekozatetraenoik asid ve lökotrien B4(LTB4)(29) gibi mediatörlerin daha sonraki dönemlerde oluşumuna neden olurlar.Ayrıca TNF-alfa ve kemokinlere karşı oluşturulan antikorlar hasarın ikinci fazı için koruyucudur (>6

saat).Mac-1 veya interselüler adezyon molekülü(ICAM)-1 gibi adezyon moleküllerine karşı oluşturulmuş antikolar Kupffer hücrelerinin rol oynadığı hasar fazında uygulanırlarsa yararlı olabilmektedir.Nötrofiller reperfüzyon başlangıcından birkaç saat sonra hasara neden olurlar.Kupffer hücrelerine karşı müdahaleler reperfüzyon fazının başlangıcından önce etkili olabilirken nötrofillere karşı yapılacak girişimler ise daha sonra yapılabilir.Nötrofillerin hepatositlerde hasar meydana getirebilmesi için nötrofilleri karaciğere toplayan mediatörlerin salınması, adezyon moleküllerinin artması ve nötrofil transmigrasyonuna ve parankim hücrelerine yapışmasına neden olan mediatörlerin oluşması gerekmektedir(32).

### **Karaciğer vasküler yapısına nötrofillerin katılımı.**

C5a(33), TNF-a(71), IL-1, PAF(72) and C-X-C kemokin gibi akut inflamatuvar mediatörler sinüzoidlerde nötrofil toplanmasına neden olursa da bu aktive nötrofillerin oluşturduğu hasar hakkında sınırlı veri bulunmaktadır.Nötrofil aktivasyonuna neden olan bu mediatörler travma, enfeksiyon, ve endotoksemi gibi durumlarda üretilmektedir.Yapılan hayvan deneylerinde nötrofillerin karaciğer ve diğer organların vasküler yapılarında toplanması da beklenebilir. Bununla birlikte bir çok vakada nötrofiller apoptosise uğrayarak zarar vermeden Kupffer hücrelerince uzaklaştırılacaktır(73).Selektin, integrin ve ICAM-1 gibi değişik adhezyon molekülleri ve immunoglobulin molekülleri nötrofillerin hareketinden ve postkapiller venüllere sıkı yapışmasından sorumludur.Ancak endotoksemi ve iskemik-reperfüzyon esnasında hasar nötrofillerin sinüzoidlerde toplanması ile olabilmektedir.Yapılan çalışmalarda sinüzoidlerdeki nötrofil sekestrasyonu için adezyon moleküllerinin mutlaka gerekli olmadığını düşündürmektedir.Aksine bu işlemde mekanik faktörlerin etkili olduğu görülmüştür.Mekanik faktörler: inflamatuvar cevapta hücre şişmesi ve sinüzoidteki hasar(54), vazokonstriktörlerin üretimi, inflamatuvar mediatörlere maruz kalan nötrofillerdeki deformabilitenin azalmasıdır(32).

### **Adezyon molekülleri ve transmigrasyon**

Sinuzoidal endotel hücre tabakası sağlam ise nötrofillerin transmigrasyonu için ICAM-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1(VCAM-1) gibi adezyon molekülleri gereklidir.Bununla beraber endotel hücrelerinin bulunduğu ancak hasarlı olduğu durumlarda da transmigrasyon gerekli olabilmektedir.

Karaciğere nötrofillerin transmigrasyonu için kritik adezyon molekül çiftleri B2 integrinler/ICAM-1 ve B1 integrinler/VCAM-1'dir. ICAM-1 endotel ve kupffer hücrelerinde ortaya çıkarken hepatositlerde ortaya çıkmamaktadır. TNF-alfa, IL-1,

ve interferon-gama(IFN-gamma) gibi sitokinler çok potent stimulanlardır(31). İlginç olarak hepatositler çok miktarda C-X-C kemokin üreterek nötrofil transmigrasyonu için kemotaktik gradiyenti meydana getirmektedir. Reperfüzyon esnasında C-X-C kemokinlere karşı kullanılan antikolar nötrofil-kaynaklı reperfüzyon hasarını hafifletmektedir(32).

### **Parankim hücrelerine bağlanma ve hasar mekanizması**

İzole hücrelerle yapılan deneysel çalışmalar reaktif oksijen oluşumunda karaciğerde hasar oluşmasında nötrofillerdeki Mac-1 ve hepatositlerdeki ICAM-1'in önemli olduğunu göstermektedir.Nötrofillerin hepatositlere bağlanması IL-8 seviyesinin düşük oluşuna da bağlıdır.Hepatositlerin nötrofiller tarafından öldürülmesi ile ilgili mekanizma çok tartışmalıdır(35).

Kısaca in vivo patofizyolojide reaktif oksijenin ve proteazların önemli rolü olduğu yönünde önemli veriler bulunmaktadır.Reaktif oksijen plazmadaki antiproteazları inaktive etmekte ve proinflamatuvar etkiler göstermektedir.Bu etkilerinin yanı sıra reaktif oksijenin hücre ölümüne giden hücre içi sinyal yollarını aktive ettiği ortaya çıkmıştır.Bu sinyal yolları atriyal natriüretik peptid(ANP) ve siklik guanozin monofosfat(cGMP) ile bloke edilmektedir.ANP ve cGMP hepatic reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir(4).

### **MİKROSİRKÜLATUAR YETMEZLİK**

Genel olarak iskemik period ne kadar uzun olursa o kadar şiddetli mikrosirkülatuar bozukluk ve bununla ilgili olarak reperfüzyon sırasında hücre hasarı ortaya çıkar.İn vivo reperfüzyon sırasında, nötrofilleri içeren çoğu sinüzoitte akım devam etmektedir.Mikrosirkülatuar perfüzyon yetmezliğinde, lokal dengenin değişmesine ve iskemik hasara neden olan, vazokonstriktör ve vazodilatörlerde artış ve hastalık nedeniyle değişen vasküler yanıtın asıl sebep olabileceği uygun görünmektedir.Reperfüzyon sırasında L-arjinin verilerek nitrik oksit (NO) üretiminin uyarılması portal hipertansiyonu ve reperfüzyon hasarını azaltmaktadır. Reperfüzyon sırasında güçlü vazokonstriktör olan endotelin-1(ET-1) üretilmektedir.ET-1 sinüzoitlerde konstriksiyona ve İto hücrelerini kasarak perfüzyon yetmezliğine neden olmaktadır.ET-1 antiserum veya ET-1 reseptör antagonisti, tromboksan reseptör antagonisti reperfüzyon hasarını azaltmaktadır.Vazoaktif maddeler arasındaki dengesizliğin yanı sıra reperfüzyon sırasında mikrosirkülatuar bozukluk kuagülasyonun aktivasyonu ve fibrin birikimiyle ortaya çıkabilir(32).



## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi(E.Ü.T.F.) Hayvan Etik Kurulu'ndan izin alınarak E.Ü.T.F. Deneysel Cerrahi araştırma laboratuvarında yürütüldü.Çalışmada ortalama yaşları 4 ay olan ve ağırlıkları 130-200 gram arasında değişen 60 adet dişi Wistar albino sıçan kullanıldı.Sıçanlar E.Ü.T.F. Deneysel Cerrahi Bilim Dalı'na bağlı hayvan bakım merkezinden temin edildi.Hayvanlar, laboratuvardaki sıçanlar için uygun olan kafeslerde onarlı gruplar halinde 1 hafta süreyle serbest besin ve su temin edebilecekleri ortamda(ad libitum) yaşatıldılar. Deneklere "besi palet yemi" verildi.

Çalışmada sıçanlara verilen **Accolate**(Zafirlukast, ICI 204,219), ZENECA Pharmaceuticals'tan toz halinde ilaç maddesi olarak temin edildi.Toz halindeki ilacın sıçanlara enteral yoldan verilebilmesi ve doz ayarlamasının yapılabilmesi için E.Ü.T.F. Farmakoloji Ana Bilim Dalı İlaç Araştırma Laboratuvarı'nda günlük ihtiyaç miktarında ilaç çözeltisi hazırlandı. İlaç, solventi olan aseton(%100) içinde çözünerek hazırlandı.Sıçanlara verilen ilacın içinde %1.25 aseton mevcuttu. 0.52 mikromol/kg/gün olan ilaç 2 doza bölünerek (sabah ve akşam total ortalama 3 cc olacak şekilde) ince bir feeding tüp aracılığıyla sıçanlara orogastrik yolla verildi.Solvent nedeniyle gruplar arasında oluşabilecek farklılığı ortadan kaldırmak amacıyla kontrol grubuna ve sham operasyon grubuna operasyondan önceki 24 saat içinde diğer gruplara verilenle aynı miktarda olacak şekilde %1.25'lik aseton solusyonu verildi.

Operasyon öncesi sıçanlara 100 mg/kg ketamin (Ketalar) intramuskuler olarak verilerek anestezi sağlandı.Anestezi sonrası karınları traş edilen deneklere povidin solusyonu ile antisepsi sağlandıktan sonra steril koşullarda laparotomi yapıldı ve hepatik pediküle 30 dakika süre ile pringle manevrası yapılarak karaciğerde iskemi oluşturuldu.İskemi oluşturulan süre boyunca deneklerin batınlarına serum fizyolojik (sf) damlatıldı ve sf ile ıslatılmış gaz tamponlarla karınları örtüldü. 30 dakikalık iskemi süresinin sonunda klempeler açıldı ve deneklerin batın insizyonları 3/0 ipekle kontinü suture edildi. Postop dönemde analjezi meperidin(100 mg/kg, IM) ile sağlandı.

Karaciğerde 30 dakikalık iskemi (sol ve median lob iskemisi) sonrasında tamamen reversibl olan anlamlı düzeyde metabolik hasar oluşturulabildiğinden (62) bu model, iskemi için tercih edildi.

60 sıçan onarlı 6 gruba bölündü; 2 gruba (kontrol ve sham operasyon) ilaç verilmedi, diğer 4 gruba ilaç verildi.

#### **GRUPLAR:**

**Grup A :** Kontrol grubu sıçanlara 30 dakikalık karaciğer iskemisi uygulandı; 4 saatlik reperfüzyon sonrası intrakardiyak ponksiyonla kan alındı ve hepatektomi yapıldı.

**Grup B :** Sham operasyon grubu sıçanlarda iskemi oluşturulacakmış gibi karaciğer hilusunda manüplasyon yapıldı; 4 saatlik reperfüzyon sonrası kan alınarak hepatektomi yapıldı.

**Grup C :** 24 saatlik orogastrik ilaç uygulamasını takiben deneklerde 30 dakikalık karaciğer iskemisi uygulandı; 4 saatlik reperfüzyon sonrası kan alınarak hepatektomi yapıldı.

**Grup D :** 24 saatlik orogastrik ilaç uygulamasını takiben deneklerde 30 dakikalık karaciğer iskemisi uygulandı; 48 saatlik reperfüzyon sonrası kan alınarak hepatektomi yapıldı.

**Grup E :** 24 saatlik orogastrik ilaç uygulamasını takiben 30 dakikalık karaciğer iskemisi uygulandı; 48 saatlik reperfüzyon sırasında orogastrik ilaç uygulamasına devam edildi, bu süre sonunda kan alınarak hepatektomi yapıldı.

**Grup F :** 30 dakikalık karaciğer iskemisi sonrası 24 saatlik reperfüzyon süresinde orogastrik ilaç uygulaması yapıldı; bu süre sonunda kan alınarak hepatektomi yapıldı.

Deneyi tamamlanan deneklerden intrakardiyak ponksiyonla kan heparinize tüplere alındı; servikal dislokasyonla denekler sakrifiye edildikten sonra hepatektomi yapılarak bütün deneklerde aynı karaciğer lobu(median lob) incelemeye alındı.Operasyon sırasında veya postop dönemde ölen denekler değerlendirme dışı bırakıldı.

Deneklerin karaciğerleri çıkarıldıktan sonra %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edilerek E.Ü.T.F. Patoloji Ana Bilim Dalı'nda incelemeye alındı.Rutin parafin bloklar hazırlanarak 5-6 mikron kalınlığında kesitler elde edildi.Hazırlanan karaciğer dokusuna ait kesitler Hematoksilen-Eosin(HE) ile boyandı ve ışık mikroskobunda 10x40 büyütme ile değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede Knodell histoloji aktivite indeksi (HAI) kullanıldı.Bu indexte

histopatolojik değişiklikler intralobuler dejenerasyon ve fokal nekrozun yaygınlığına göre hafif, orta derecede ve şiddetli hasar olarak sınıflandırılmaktadır.

-Dejenerasyon veya fokal nekroz yok.

-Hafif derecede hasar: Balon dejenerasyon ve/veya lobüllerin 1/3'ünden azında dağınık odaklar halinde hepatoselüler nekroz.

-Orta derecede hasar: Lobüllerin 1/3 - 2/3'ünü tutan hepatoselüler nekroz.

-Şiddetli derecede hasar:Lobüllerin 2/3'ünden fazlasını tutan hepatoselüler nekroz. (41)

İntrakardiyak ponksiyonla heparinize tüplere alınan kan E.Ü.T.F. Biyokimya Ana Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda analize alındı.Heraeus Suprafuge 22 model soğutmalı santrifüjde +4 C'de 15 dakika santrifüj edilip plazmaları ayrıldı.SGOT ve SGPT analizleri Wako marka kit kullanılarak Shimadzu 160-A UV-visible spektrofotometrede 505 nm'de okundu.Değerler IU (karmen ünitesi)) olarak hesaplandı.LDH analizi Bayer (Sera-Pak LD) marka kit kullanılarak Shimadzu 160-A UV-visible spektrofotometrede kinetik olarak 340 nm'de okundu.Değerler IU/lt olarak hesaplandı.

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Ege Üniversitesi İstatistik Bölümü'nde istatistiksel analiz yapıldı. Analiz için kişisel bilgisayarda SPSS for MS Windows programı kullanıldı. One way ANOVA, Mann Whitney U, Kruskal-Wallis ve Ki kare tesleri kullanıldı.

## SONUÇLAR

### ASPARTAT TRANSAMİNAZ (AST, SGOT:serum glutamik oksaloasetik transferaz)

Mann-Whitney testi kullanılarak yapılan analizde kontrol grubunun SGOT değerlerinin ortalamasının sham grubuna göre yüksek olması anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

Varyans analizi ve Bonferroni testi kullanılarak yapılan ikili kıyaslamalarda C grubundaki SGOT değerlerinin ortalamasının diğer gruplara (A, B, D, E, F) göre yüksekliği anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

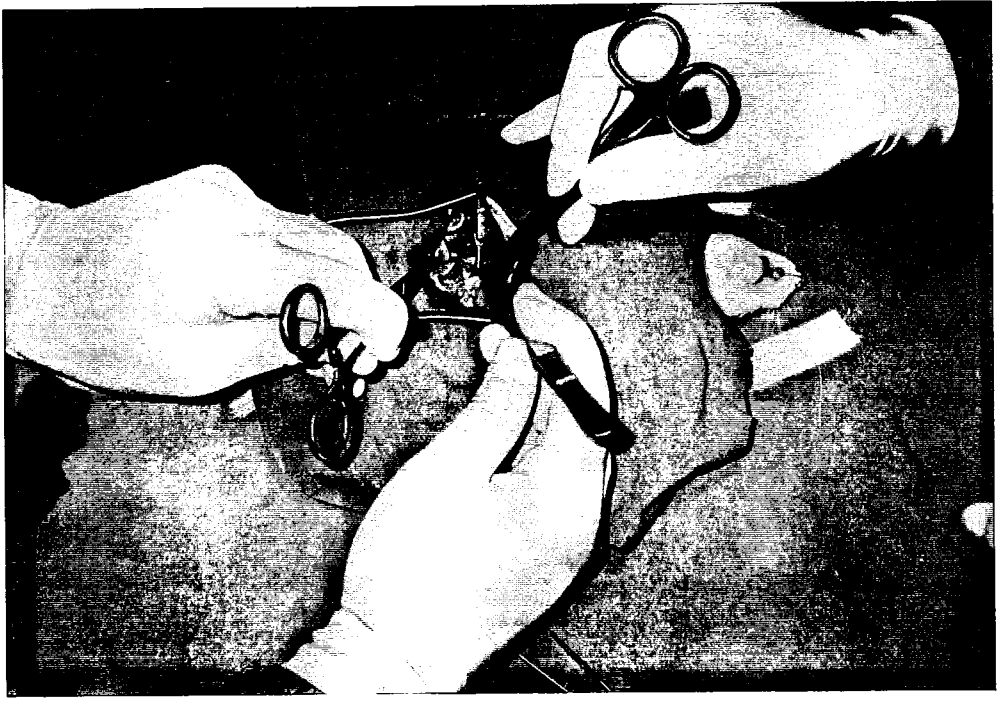
Bivaryans analizinde karaciğer histopatolojisindeki değişiklikler ile SGOT değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

#### Gruplar

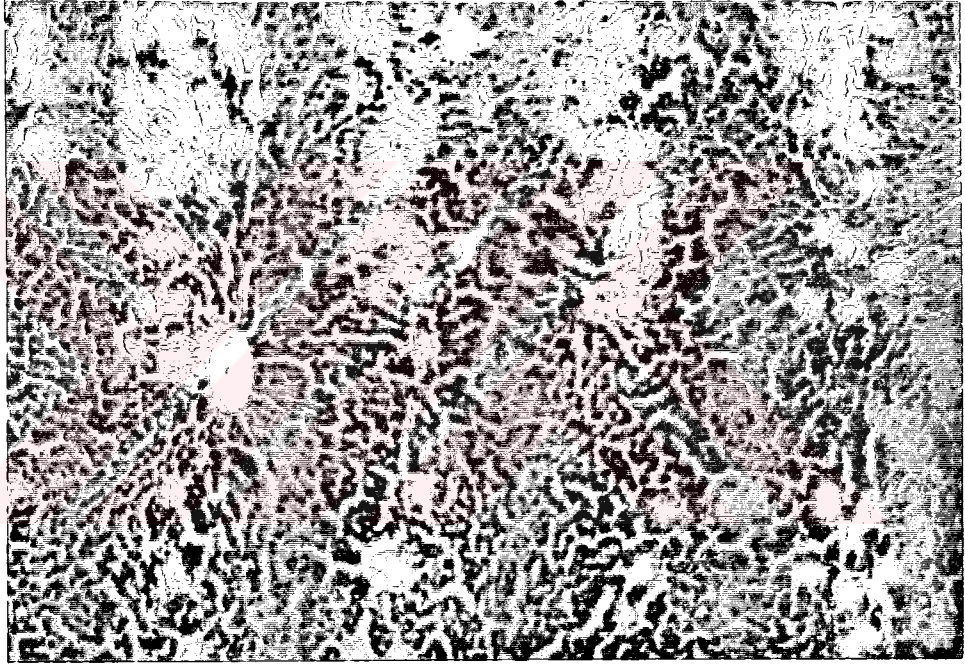
Denekler	A	B	C	D	E	F
1	-	69	1270	74	195	367
2	316	150	446	157	60	482
3	176	84	674	187	125	682
4	149	100	497	157	88	734
5	161	126	714	211	300	446
6	136	110	457	177	172	438
7	286	99	680	211	217	496
8	293	159	903	388	214	570
9	-	271	884	476	-	442
10	-	-	-	-	-	430
Ortalama	216.7	129.7	725.0	226.4	171.3	508.7

**Tablo 1: Deneklerin SGOT değerleri. (IU)**

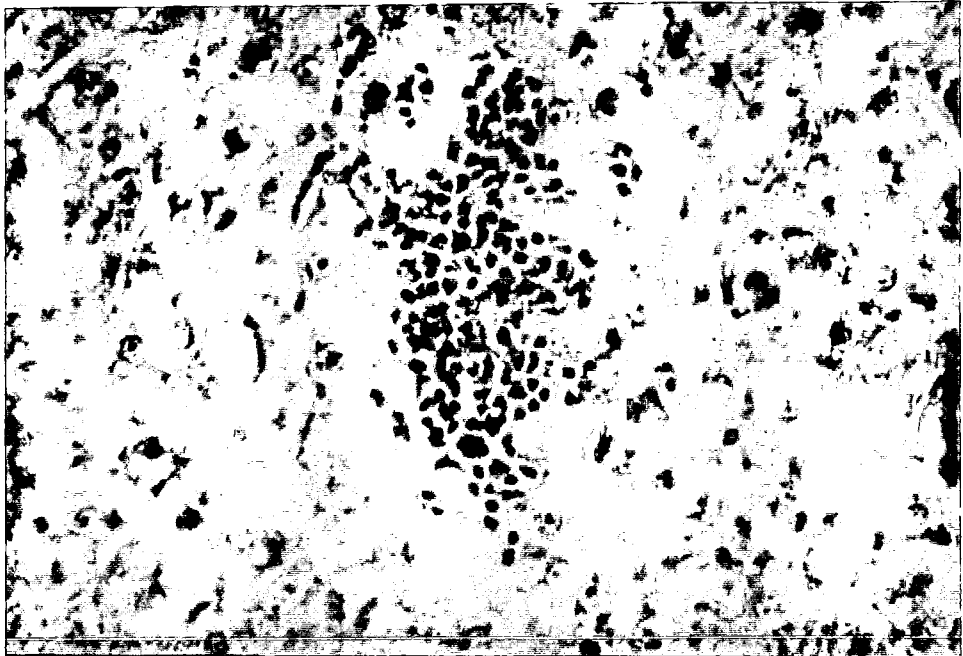
Deneğe Pringle  
manevrası  
yapılışı.



X10 büyütmeye ile  
normal sentriolo  
buler bölgeler.



X40 büyütmeye ile  
fokal nekroz alanı



## ALANİN TRANSAMİNAZ(ALT, SGPT:serum glutamik piruvik transferaz)

Mann-Whitney testi ile analiz edildiğinde kontrol grubunun SGPT değerlerinin ortalamasının sham grubuna göre yüksek olması anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

Varyans analizi ve Bonferroni testi ile yapılan ikili kıyaslamalarda C grubundaki SGPT değerlerinin ortalamasının diğer gruplara (A, B, D, E, F) göre yüksekliği anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Bivaryans analizinde karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler ile SGPT değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

### Gruplar

Denekler	A	B	C	D	E	F
1	-	22	919	39	38	28
2	103	58	225	29	14	35
3	95	32	403	62	21	81
4	93	35	240	21	15	72
5	128	52	305	52	36	50
6	115	36	63	23	18	82
7	124	46	189	26	24	78
8	61	49	487	92	22	55
9	-	55	521	62	-	47
10	-	-	-	-	-	21
Ortalama	102.7	42.7	372.4	45.1	23.5	54.9

Tablo 2: Deneklerin SGPT değerleri. (IU)

## LAKTİK DEHİDROGENAZ (LDH)

Mann-Whitney testi kullanılarak yapılan istatistiksel incelemede kontrol grubunun LDH değerlerinin ortalamasının sham grubuna göre yüksekliği anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).

Bonferroni testi kullanılarak yapılan ikili kıyaslamalarda C grubu LDH ortalamaları ile kontrol grubu arasındaki fark anlamsız ( $p > 0.05$ ); C grubu ile sham, D, E, F grupları arasındaki fark ise anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ).

Bivaryans analizi kullanılarak yapılan korelasyon çalışmasında grupların LDH değerleri ile karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

### Gruplar

Denekler	A	B	C	D	E	F
1	-	571	13714	1214	285	714
2	3571	1142	1642	571	214	571
3	857	428	5142	571	285	857
4	1214	214	1357	214	250	571
5	1357	785	4857	142	714	428
6	1000	642	3571	357	642	214
7	2571	1142	2857	357	142	357
8	3928	785	1928	428	428	285
9	-	1285	3214	714	-	428
10	-	-		-	-	214
Ortalama	2071.1	777.1	4253.5	507.5	370.0	463.9

**Tablo 3: Deneklerin LDH değerleri. (IU/lt)**

## KARACİĞER DOKUSUNUN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

A grubunda 2 denekte fokal nekroz saptanmazken 4 denekte hafif derecede, 1 denekte orta derecede fokal nekroz saptandı. B grubunda 7 denekte fokal nekroz saptanmazken 2 denekte hafif derecede fokal nekroz saptandı. C grubunda 4 denekte fokal nekroz saptanmazken 5 denekte fokal nekroz saptandı. D grunda 6 denekte fokal nekroz saptanmadı, 3 denekte hafif derecede fokal nekroz saptandı.E grubunda 4 denekte nekroz saptanmadı, 4 denekte hafif fokal nekroz saptandı.F grubunda 2 denekte fokal nekroz saptanmazken 5 denekte hafif derecede, 3 denekte de orta derecede fokal nekroz saptandı.

Histopatolojik değişiklikler Kruskal-Wallis testi kullanılarak değerlendirildi. Fokal nekroz yönünden gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).Mann-Whitney U testi ile gruplar karşılaştırıldı. A grubundaki fokal nekroz oranı B grubundakine kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ).

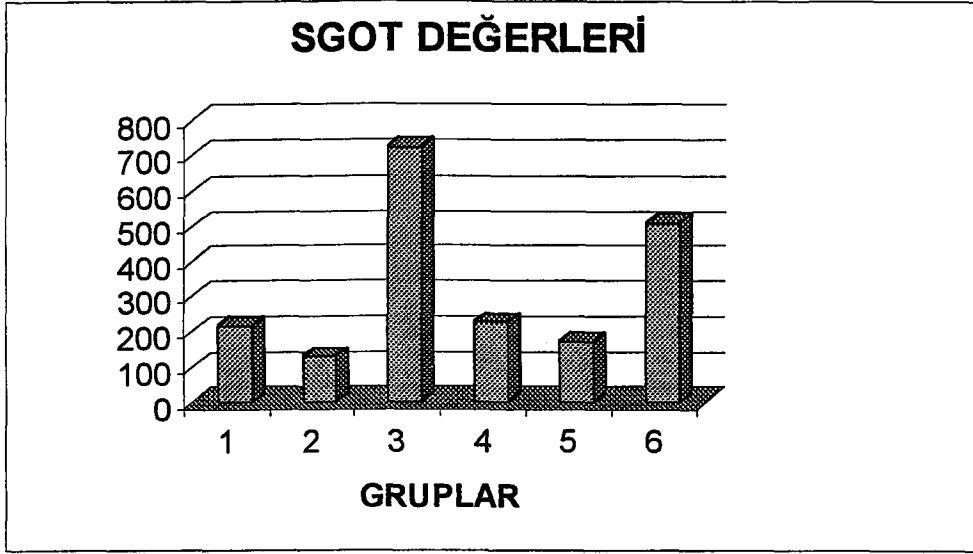
### GRUPLAR

Denekler	A	B	C	D	E	F
1		-	+	-	+	-
2	-	-	+	+	-	++
3	+	-	+	-	+	++
4	+	+	+	-	+	+
5	+	+	-	-	-	+
6	++	-	+	+	-	-
7	-	-	-	-	+	+
8	+	-	-	+	-	+
9		-	-	-		+
10						++

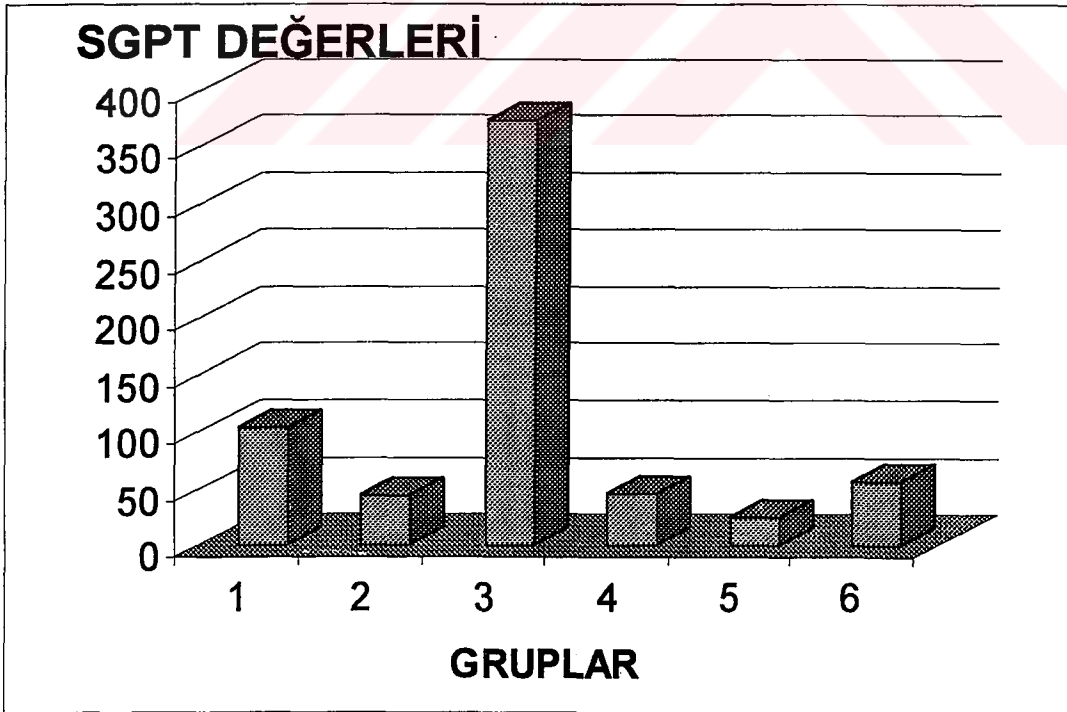
Tablo 4: - :nekroz yok, + :hafif nekroz var, ++ :orta derecede nekroz var, +++ :şiddetli nekroz var (37)



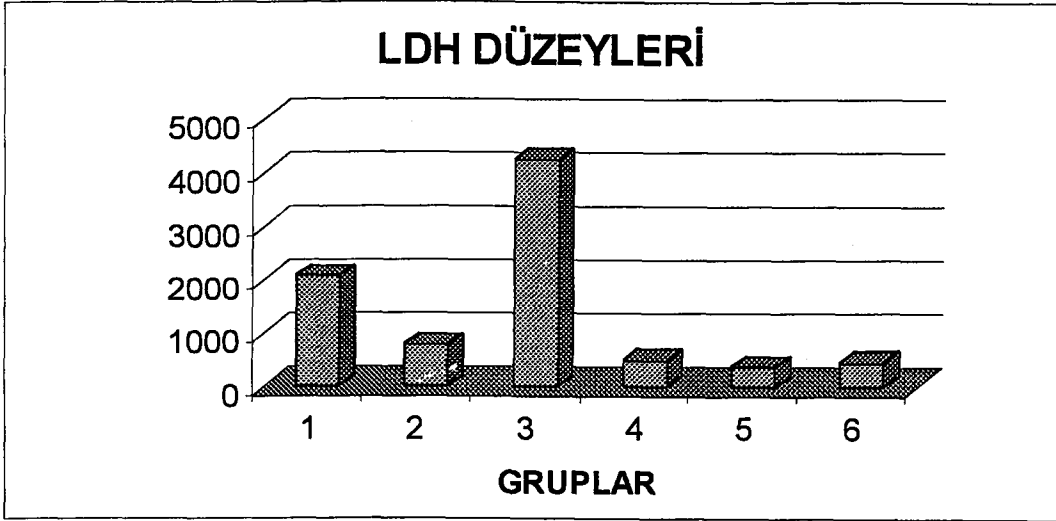
## GRAFİKLER



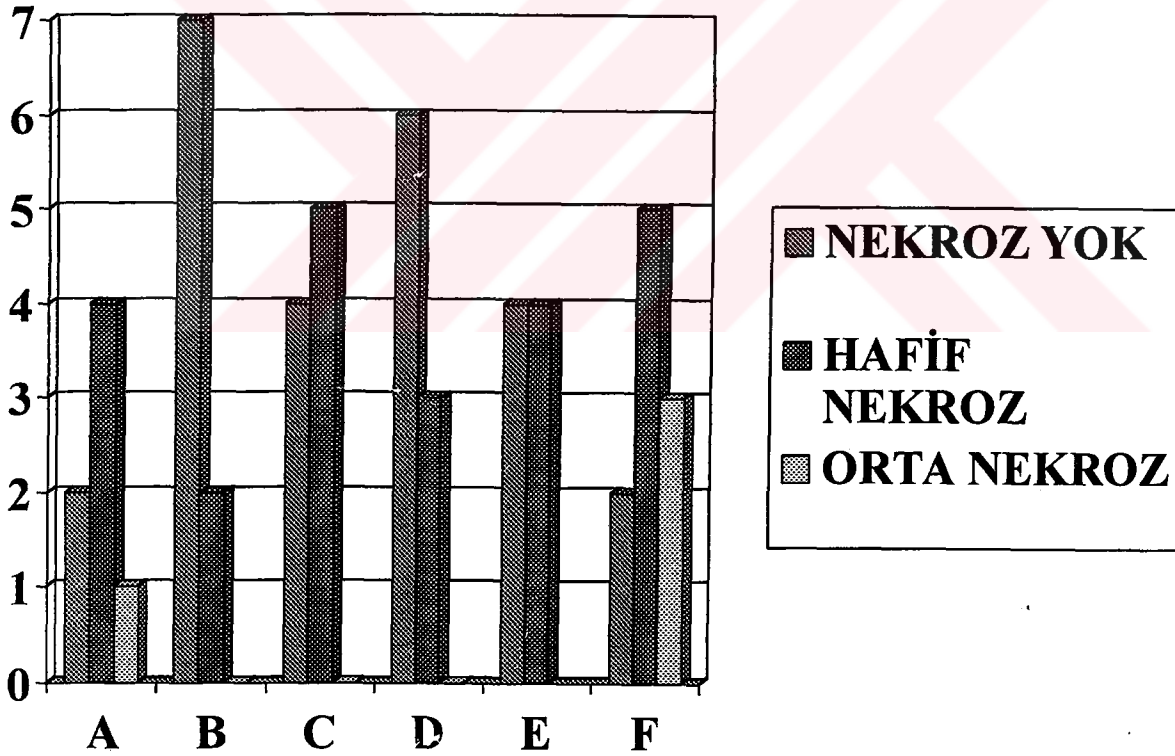
**Grafik 1: Grupların SGOT ortalamaları**



**Grafik 2 : Grupların SGPT ortalamaları**



Grafik 3: Grupların LDH ortalamaları



Grafik 4: Gruplardaki fokal nekrozun dağılımı.

## TARTIŞMA

Klinikte iskemi ve reperfüzyonun çok değişik türleriyle karşılaşılmaktadır. Şok (hipovolemik, kardiyojenik, septik), emboli veya tromboz nedeniyle gelişen mezenterik vasküler oklüzyona bağlı intestinal iskemi için yapılan cerrahi girişimler, karaciğerle ilgili cerrahi girişimler (travma sırasında kanama kontrolü amacıyla geçici olarak yapılan Pringle manevrası veya total vasküler ekslüzyon; tümör nedeniyle yapılan karaciğer rezeksiyonlarında kanama komplikasyonundan kaçınmak amacıyla yapılan geçici vasküler klemlemeler), organ transplantasyonları (rezeksiyon sonrası reanastomoz yapılana kadar geçen soğuk iskemi süresi) kardiyopulmoner resusitasyon gibi bir çok durumda geçici olarak kan akımının durmasıyla iskemi, kan dolaşımının tekrar sağlanmasıyla reperfüzyon olmaktadır. Doku hasarı hem iskemi hem de reperfüzyon döneminde olmaktadır. Erken reperfüzyon iskemik dokunun yaşaması için mutlak ön koşuldur(44). Ancak iskemik olarak hasarlanmış dokuya reperfüzyonun sağlanması da doku hasarını arttırmaktadır(77). Karaciğerde oluşturulan iskemi ve reperfüzyon hasarının mekanizmaları incelendiğinde hipoksinin yanı sıra reperfüzyon sırasında ortaya çıkan önlenemeyen inflamatuvar yanıtın hasar oluşmasında önemli rolü olduğu görülmektedir(32).

Araşidonik asitten Cys-LT'leri de novo sentez etme yeteneğine sahip olmayan hepatositler çevre hücrelerden aldıkları LTA<sub>4</sub>'ün konjugasyonu ile LTC<sub>4</sub> sentez edebilmektedir. Bu intriksek Cys-LT üretimi inflamasyon sırasında hepatositler hasara katkıda bulunabilmektedir(74). Bir çalışmada iskemiden 15-24 saat sonra karaciğer dokusundaki LTB<sub>4</sub> düzeyinin iskemi öncesindeki değerin 50 katına çıkmış olduğu saptanmıştır(29).

İnflamatuvar hastalıkların bir çoğunda (astım, allerjik rinit, inflamatuvar barsak hastalıkları, yetişkin respiratuvar distres sendromu, gut, romatoid artrit, psöriazis, vb...) (46) lökotrienler hastalığın patogenezine farklı oranlarda katkıda bulunmaktadır. Geliştirilen anti-lökotrien etkiye sahip ilaçlar çeşitli mekanizmalarla lökotrienlerin bu hastalıklardaki etkisini azaltarak tedavide yeni ufuklar açmıştır. Özellikle astım tedavisinde yeni ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmış olan zafirlukast (LTD<sub>4</sub> reseptör antagonisti), klinik kullanımda başarı sağlamış, bu anti-lökotrien etkiye sahip ilaçlardan bir tanesidir. İnflamatuvar reaksiyonlardaki etkisini göstermek, sıçanlarda oluşturulan karaciğer iskemi ve reperfüzyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla bu deneysel modelde Zafirlukast kullanıldı.

Yapılan bir çok deneysel modelde iskemi ve reperfüzyonla oluşturulan karaciğer hasarının şiddetinin belirlenmesinde SGOT, SGPT ve LDH enzimlerinin plazma düzeylerindeki değişiklikler incelenmiştir(66,79,83). Yaptığımız bu deneysel modelde de yukarıda belirtilen enzimler incelenmiştir.

Az miktarlardaki doku hasarında bile plazma düzeyleri yükselen(11) LDH hücre viabilitesinin gösterilmesinde kullanılmaktadır. Plazma LDH düzeyleri değerlendirildiğinde A grubunda LDH düzeyi B grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. LDH yönünden yapılan kıyaslamada C grubu ile A grubu (kontrol grubu) arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). C grubunda LDH yüksekliği B, D, E ve F gruplarına göre anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). LDH yönünden değerlendirildiğinde kullanılan ilacın karaciğerde oluşturulan bu iskemi ve reperfüzyon modelinde etkili olmadığı düşünülmektedir.

Kontrol grubunun(A grubu) plazma SGOT ortalamaları Sham operasyon grubuna(B grubu) göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur( $P<0.05$ ). Bu da, plazma SGOT düzeylerinde yükselmeye neden olan, karaciğerde oluşturulan iskeminin karaciğerde doku hasarına yol açtığını göstermektedir. Cottart CH ve ekibinin yaptığı çalışmada 45 dakikalık karaciğer iskemisi sonrasında oluşturulan reperfüzyonda plazma SGOT düzeylerinin sham operasyon grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu bulmuştur. Aynı zamanda laparotominin plazma SGOT düzeyinde anlamlı şekilde yükselmeye neden olduğunu göstermişlerdir(15).

Çalışmamızda C grubunun plazma SGOT düzeyleri A, B, D, E ve F gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur( $p<0.05$ ). C grubunda SGOT değerlerinin anlamlı şekilde yüksek bulunması nedeniyle, özellikle A grubuyla kıyaslandığında, bunun ilaçtan kaynaklanmış olabileceği, ilacın erken dönem hasarı olabileceği, veya hemolize bağlı olabileceği(9,11) düşünülebilir. Bizim deneklerimize yüksek dozlarda ilaç verilmemesine rağmen, Zafirlukastın yüksek dozlarda kullanıldığında karaciğer enzimlerinde yükselmelere neden olabileceği gösterilmiştir(1).

SGOT'a göre karaciğere daha spesifik olan SGPT, A grubunda B grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu da iskeminin karaciğerde hasar oluşturduğu görüşünü desteklemektedir. Cottart'ın(15) yaptığı 45 dakikalık hepatik iskemi çalışmasında plazma SGOT ve SGPT değerlerinin ilk 6 saatte maksimuma ulaştığı(43) ve 24. saatte sham operasyon grubuyla benzer değerlere düştüğü saptanmıştır(30). C grubundaki SGPT değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek bulunması, SGOT'takine benzer şekilde, ilaçtan kaynaklanmış olabileceği gibi hemoliz nedeniyle ortaya çıkmış da olabilir. Portal klempajla ortaya çıkan splanknik

konjesyonun karaciğer hasarına katkıda bulunduğu ve 30 dakikalık bir portal ven oklüzyonun dahi sıçanlarda %50'ye varabilen mortalitelere neden olduğu bildirilmiştir(30).

Bu modelde iskemi ve reperfüzyon sonrasında karaciğerde oluşabilecek histopatolojik düzeydeki değişikliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan incelemede deneklerin hazırlanan karaciğer dokularına ait kesitleri ışık mikroskopunda 10x40 büyütme ile değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmede Knodell histoloji aktivite indeksi (37) kullanıldı ve farklı gruplarda farklı oranlarda fokal nekroz saptandı; gruplar arasında fokal nekroz yönünden anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). A grubundaki fokal nekroz oranı B grubundakine kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ); bu da pringle manevrasıyla karaciğerde oluşturulan iskemi ve reperfüzyonun karaciğerde hasara yol açtığını göstermektedir. Ancak pringle manevrası sırasında ortaya çıkan splanknik konjesyonun da karaciğerin iskemi ve reperfüzyon hasarına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (30). Bizim çalışmamızın aksine, Suzuki S'nin splanknik staz oluşturmadan yaptığı çalışmada 30 dakikalık iskemi sonrası ilk 1 saatlik reperfüzyon sonunda hafif sinüzoidal konjesyonun olduğu ve 6 saatlik reperfüzyon sonrasında fokal nekrozun görülmediği belirtilmektedir(78). Kobayashi Y ve ekibinin splanknik konjesyon oluşturulmadan yapılan çalışmasında 120 dakikalık iskemiye takiben 5 saatlik reperfüzyon sonrasında kanama odaklarıyla birlikte bazı fokal nekroz odaklarının bulunduğu saptanmış ve 12 saatlik reperfüzyon sonrasında nekrozun bütün iskemik karaciğer dokusuna yayıldığı görülmüş(43). Rodriguez A A'nın yaptığı çalışmada 30 dakikalık iskemi sonrasında tamamen reversibl olan anlamlı metabolik hasarın ortaya çıktığı ancak ışık mikroskobu ile yapılan incelemede karaciğer dokusunun normal olduğu; 60 dakikalık iskemi sonrası yer yer hemoraji ve infark geliştiği saptanmıştır. Yine aynı çalışmada 30 veya 60 dakika sadece iskemi oluşturulduğunda(reperfüzyon olmadan) ışık mikroskopunda hücre hasarı saptanmamış(62).

Çalışmamızda A grubu (kontrol grubu) ile zafirlukast verilen diğer gruplar (C, D, E, F) arasında histopatolojik değerlendirme yönünden anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Bu da uyguladığımız bu iskemi ve reperfüzyon modelinde Zafirlukast'ın karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi olmadığını göstermektedir.

Bu deneysel modelde, kullanılan zafirlukastın karaciğerin iskemi ve reperfüzyonuyla oluşan gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik değişikliklere etkisi

olmadığı saptanmıştır; zafirlukast ile ilgili olarak bu yönde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## ÖZET

Bu deneysel çalışmada bir lökotrien D4 reseptör antagonisti olan **zafirlukast**ın sıçan karaciğerinde oluşturulan iskemi ve reperfüzyon modeline etkileri araştırıldı.

Karaciğer doku hasarını değerlendirmek için deneklerin plazmasında SGOT, SGPT ve LDH düzeylerine bakıldı. SGOT, SGPT ve LDH yönünden değerlendirildiğinde A grubundaki (kontrol grubu) sonuçlar B grubuna (sham operasyon grubu) göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). SGOT ve SGPT yönünden gruplar değerlendirildiğinde C grubundaki sonuçlar A, B, D, E ve F gruplarına kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Plazma LDH düzeyleri yönünden gruplar arasında yapılan kıyaslamada C grubu ile A grubu arasında anlamlı fark saptanmazken ( $p>0.05$ ) C grubunun sonuçlarının B, D, E ve F gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı ( $p<0.05$ ).

Yapılan korelasyon analizinde plazma SGOT, SGPT ve LDH düzeyleri ile Karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler arasında anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ). Fokal nekroz yönünden yapılan histopatolojik değerlendirmenin kıyaslanmasında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Bu deneysel çalışmanın sonucunda iskemi ve reperfüzyonun karaciğerde doku hasarına yol açtığı, orogastrik yoldan verilen zafirlukastın bu modele etkisinin olmadığı saptandı. İlacın karaciğerde oluşturulan iskemi ve reperfüzyon hasarı ve bunun sürecinde oluşan inflamasyon üzerine etkilerinin daha fazla araştırılmaya ihtiyacı vardır.

## **KAYNAKLAR**

- 1.** Adkins JC, Brogden RN. Zafirlukast. A review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of asthma. *Drugs* 1998; 55(1):121-44.
- 2.** Adkinson D, Hoelwarth ME, Benoit JN, et al. Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to liver 1986; *Acta Physiol Scand Suppl* 548:101-107.
- 3.** Aharony D. Pharmacology of leukotrien receptor antagonists. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(6pt2):S214-8.
- 4.** Bilzer M, Witthaut R, Paumgartner G, et al. Prevention of ischemia/reperfusion injury in the rat liver by atrial natriuretic peptide. (abstract). *Gastroenterology* 1994; 106: 143-151.
- 5.** Birnbaum Y, Leor J, Kloner RA. Pathobiology and clinical impact of reperfusion injury. *J Thromb Thrombolysis* 1997; 4(2):185-195.
- 6.** Brach MA, Vos S, Arnold C, et al. Leukotriene B4 transcriptionally activates interleukin-6 expression involving. *Eur. J. Immunol.* 1992;22:2705-2711.
- 7.** Brocklehurst WE. The release of histamine and formation of a slow reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock. *J Physiol*. 1960; 151:416-35
- 8.** Bousquet J. Should we be concerned about the increased use of corticosteroids? *Eur Respir Rev*. 1994; 4:392-3.
- 9.** Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of Clinical Chemistry*. 3. Baskı sayfa 1999; 652-653.
- 10.** Busse WW. Leukotrienes and inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:S210-S213.
- 11.** Calbreath DF. *Clinical Chemistry. A fundamental textbook*, 1992; sayfa 190-193, 210-211.
- 12.** Calhoun WJ. Summary of clinical trials with zafirlukast. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157(6pt2):S238-45.
- 13.** Calhoun WJ. Effect of zafirlukast (Accolate) on cellular mediators of inflammation: bronchoalveolar lavage fluid findings after segmental antigen challenge. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157(5pt1):1381-9.
- 14.** Carrick JB, Martins O Jr, Snider CC, et al. The effect of LPS on cytokine synthesis and lung neutrophil influx after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Surg Res*. 1997 Feb 15;68(1):16-23.
- 15.** Cottart CH, Do L, Blanc MC, et al. Hepatoprotective effect of endogenous nitric oxide during ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999; 29:809-13.

16. Cutrin JC, Llesuy S, Boveris A. Primary role of Kupffer cell-hepatocyte communication in the expression of oxidative stress in the post-ischaemic liver. *Cell Biochem Funct.* 1998 Mar;16(1):65-72.
17. Daemen MA, van't Veer C, Denecker G, et al. Inhibition of apoptosis induced by ischemia-reperfusion prevents inflammation. *J Clin Invest* 1999;104(5): 541-9.
18. Dennis E A. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J Biol Chem.* 1994 May 6;269(18):13057-60.
19. Drazen J. Clinical pharmacology of leukotriene receptor antagonists and 5-lipoxygenase inhibitors. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157:S233-S237.
20. Fuchs S, Bogomolski-Yahalom V, Paltiel O, et al. Ischemic hepatitis: clinical and laboratory observations of 34 patients. *J Clin Gastroenterol* 1998; 26(3):183-6.
21. Fukai F, Suzuki Y, Nshizawa Y, et al. Transcellular biosynthesis of cysateinyl leukotriens by Kupffer cell-hepatocyte cooperation in rat liver. *Cell Biol Int* 1996 Jun; 20(6):423-8.
22. Gimbrone, M. A., Jr., Brock, A. F., and Schafer, A. I. Leukotriene B4 stimulates polymorphonuclear leukocyte adhesion to cultured vascular endothelial cells. *J Clin Invest.* 1984 Oct;74(4):1552-5.
23. Gulluoglu BM, Aktan AO, Yegen C, et al. Endothelin release is augmented with captopril in rat ischemia-reperfusion injury of the liver. *Res Exp Med (Berl)* 1996;196(4):227-33
24. Hay DWP. Pharmacology of leukotrien receptor antagonists :more than inhibitors of bronchoconstriction. *Chest* 1997; 111:35S-45S.
25. Henderson WR Jr. Eicosanoids and platelet activating factor in allergic respiratory diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143(suppl):86-90.
26. Henderson WR Jr. Role of leukotrienes in asthma. *Ann Allergy* 1994;72(6):272-8
27. Hertl M, Hertl MC, Malago M, et al. In vivo protection of the pig liver against ischemia-reperfusion injury by tauroursodeoxycholate. *Langenbeck's Arch Surg* 1999;384:461-466.
28. Horiuchi T, Muraoka R, Tabo T, Uchinami M, et al. Optimal cycles of hepatic ischemia and reperfusion for intermittent pedicle clamping during liver surgery. *Arch Surg* 1995 Jul;130(7):754-8
29. Hughes H, Farhood A, Jaeschke H. Role of leukotriene B4 in the pathogenesis of hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992 Feb;45(2):113-9



30. Isozaki H, Adam R, Gigou M, et al. Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. *Br. J. Surg.* 1992; 79:310-13.
31. Jaeschke H. Cellular adhesion molecules: Regulation and role in the pathogenesis of liver disease. *Am J Physiol* 1997; 273:G602-G611.
32. Jaeschke H. Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver. *J Hepatobiliary Pnacreat Surg* 1998; 5:402-8.
33. Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, et al. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol* 1993; 264:G801-G809.
34. Jaeschke H, Mitchell JR. Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species after hypoxic damage in isolated perfused rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 160:140-147.
35. Jaeschke H, Smith CW. Mechanism of neutrophil induced parenchymal cell injury. *J Leukocyte Biol* 1997; 61: 647-53.
36. Jung SE, Yun IJ, Youn YK et al. Effect of protease inhibitor on ischemia-reperfusion injury to rat liver. *World J Surg.* 1999;23:1027-31.
37. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*, Lange medical book. Fourth edition. 1989; 228-241.
38. Kelloway JS. Zafirlukast: the first leukotrien-receptor antagonist approved for the treatment of asthma. *Ann Pharmacother* 1997;31(9):1012-21.
39. Keppler D, Muller M, Klunemann C et al. Transport and in vivo elimination of cysteinyl leukotrienes. *Adv Enzyme Regul* 1992; 32:107-16.
40. Kimura N, Muraoka R, Horiuchi T, et al. Intermittent hepatic pedicle clamping reduces liver and lung injury. *J Surg Res.* 1998 Jul 15;78(1):11-7.
41. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1:431-435
42. Krell RD, Aharony D, Buckner CK, et al. The preclinical pharmacology of ICI204,219: a peptide leukotriene antagonist. *Am Rev Respir Dis* 1990;141: 978-987.
43. Kobayashi Y, Yoshimura N, Nakamura K, et al. Expression of tissue factor in hepatic ischemia-reperfusion injury of the rat. *Transplantation* 1998; 66; 708-16.
44. Kukreja RC, Janin Y. Reperfusion injury: Basic concepts and protection strategies. *J Thromb Thrombolysis* 1997; 4(1):7-24.
45. Larsen JS, Jackson SK. Antileukotriene therapy for asthma. *Am J Health-Syst Pharm.* 1996; 53:2821-30.

- 46.** Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ, Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway: Biochemistry and relation to pathobiology in human disease. *N Engl J Med.* 1990;323:645-55.
- 47.** Lichtman SN, Lemasters JJ . Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Semin Liver Dis* 1999;19(2):171-87
- 48.** Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature* 1999;399(6738):789-93.
- 49.** Maclouf, J., Antoine, C., De Caterina, R., et al. Entry rate and metabolism of leukotriene C4 into vascular compartment in healthy
- 50.** Maclouf, J. A., and Murphy, R. C. Transcellular metabolism of neutrophil-derived leukotriene A4 by human platelets. A potential cellular source of leukotriene C4. *J Biol Chem.* 1988 Jan 5;263(1):174-81
- 51.** Marom, Z., Shelhamer, J. H., Bach, M. K et al . Slow-reacting substances, leukotrienes C4 and D4, increase the release of mucus from human airways in vitro. *Am Rev Respir Dis.* 1982 Sep;126(3):449-51.
- 52.** Matsumoto H, Hirai R, Uemuro T, et al. Experimental evaluation of the effects of the intraportal administration of cyclic guanosine monophosphate on ischemia-reperfusion in the porcine liver. *Surg Today, Jpn J Surg* 1999; 29:1158-63.
- 53.** McColl, S. R., Krump, E., Naccache, P. H., et al. Enhancement of human neutrophil leukotriene synthesis by human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Agents Actions.* 1989 Jun;27(3-4):465-8.
- 54.** McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res* 1996; 32:752-63.
- 55.** Menger MD, Richter S, Yamauchi J, et al. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatogastroenterology* 1999 Jun;46 Suppl 2:1452-7
- 56.** Metters, K. M. Leukotriene receptors. *J Lipid Mediat Cell Signal.* 1995 Oct;12(2-3):413-27.
- 57.** Mueller, M. J., Wetterholm, A., Blomster, M., et al. Leukotriene A4 hydrolase: mapping of a heptacosapeptide involved in mechanism-based inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Aug 29;92(18):8383-7
- 58.** Natori S, Fujii Y, Kurosawa H. Prostaglandin E1 protects against ischemia-reperfusion injury of the liver by inhibition of neutrophil adherence to endothelial cells. *Transplantation.* 1997;64(11):1514-20.
- 59.** Nicosia S. Pharmacodynamic properties of leukotriene receptor antagonists. *Monaldi Arch Chest Dis* 1999; 54(3):242-6.

59. Nilsson B, Friman S, Gustafsson BI, et al. Preconditioning Protects Against Ischemia/Reperfusion Injury of the Liver. *J Gastrointest Surg* 2000; 4(1):44-49
60. Okuaki Y, Miyazaki H, Zeniya M, et al. Splenectomy-reduced hepatic injury induced by ischemia reperfusion in the rat. 1996; *Liver*:16:188-194.
61. Penrose JF. LTC<sub>4</sub> synthase. *Enzymology, Biochemistry, and molecular characterization*. *Clin Rev Allergy Immunol* 1999 Spring-Summer; 17(1-2):133-52.
62. Rodriguez A A, LaMorte WW, Hanrahan LM, et al. Liver viability after ischemia-reperfusion. *Arc Surg* 1991; 126:767-72.
63. Sala A, Armetti L, Piva A et al. An improved assay for urinary LTE<sub>4</sub>. *Prostaglandins*. 1994 Apr; 47(4):281-92.
64. Sala A, Bolla M, Zarini S et al. Release of leukotriene A<sub>4</sub> versus leukotriene B<sub>4</sub> from human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem*. 1996 Jul 26; 271(30):17944-8.
65. Sala A, Zarini S, Bolla M. Review: Leukotrienes: Lipid bioeffectors of inflammatory reactions. *Biochemistry (Mosc)*. 1998 Jan; 63(1):84-92
66. Samarasinghe DA, Farrell GC. The central role of sinusoidal endothelial cells in hepatic hypoxia-reoxygenation injury in the rat. *Hepatology* 1996; 24(5):1230-7.
67. Samuelsson B. Leukotriens: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*. 1983; 220:568-75.
68. Samuelsson B, Borgeat P, Hammarstrom S et al. Introduction of a nomenclature: leukotriens. *Prostaglandines*. 1979; 17:785-7.
69. Sankary HN, Yin DP, Chong AS, et al. The portosystemic shunt protects liver against ischemic reperfusion injury. *Transplantation* 1999 Oct 15; 68(7):958-63
70. Savidge RD, Eui KH, Birmingham BK, et al. Metabolism and excretion of zafirlukast in dogs, rats and mice. *Drug Metab Dispos* 1998; 26(11):1069-76.
71. Schlayer HJ, Laaff H, Peters T, et al. Involvement of tumor necrosis factor in endotoxin-triggered neutrophil adherence to sinusoidal endothelial cells of mouse liver and its modulation in acute phase. 1988; *J Hepatol* 7:239-249.
72. Serizawa A, Nakamura S, Suzuki S, et al. Involvement of platelet activating factor in cytokine production and neutrophil activation after hepatic ischemia-reperfusion. 1996; *Hepatology* 23:1656-63.
73. Shi J, Fujieda H, Kokubo Y, et al. Apoptosis of neutrophils and their elimination by Kupffer cells in rat liver. 1996; *Hepatology* 24:1256-63.
74. Shimada K, Navarro J, Goeger DE et al. Expression and regulation of leukotrien synthesis enzymes in rat liver cells. *Hepatology* 1998; 28(5):1275-81.

- 75.** Sistino JJ, Acsell JR Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) following emergency cardiopulmonary bypass: a case report and literature review. *J Extra Corpor Technol* 1999 Mar;31(1):37-43
- 76.** Soderstrom, M., Mannervik, B., Garkov, V et al On the nature of leukotriene C4 synthase in human platelets. *Arch Biochem Biophys.* 1992 Apr;294(1):70-4.
- 77.** Suzuki S, Konno H, Nakamura S [Role of cytokines in hepatic ischemia and reperfusion injury].*Nippon Geka Gakkai Zasshi* 1999 May;100(5):325-30
- 78.** Suzuki S, Nakamura S, Sakaguchi T, et al Alteration of reticuloendothelial phagocytic function and tumor necrosis factor alfa production after total hepatic ischemia.*Transplantation* 1997; 64:821-27
- 79.** Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez F, et al. Role of Kupffer cells in neutrophil activation and infiltration following total hepatic ischemia and reperfusion. *Circ Shock* 1994 Apr;42(4):204-9
- 80.** Suzuki S, Toledo-Pereyra LH. Interleukin-1 and tumor necrosis factor production as the initial stimulants of liver ischemia and reperfusion injury. 1994; *J Surg Res* 57:253-258.
- 81.** Uchinami M, Muraoka R, Horiuchi T, et al.Effect of intermittent hepatic pedicle clamping on free radical generation in the rat liver. *Surgery.* 1998 Jul;124(1):49-56.
- 82.** Verhagen J, Bel EH, Kijne GM, et al.The extrection of LTE4 into urine following inhaletion of LTD4 by human individuals.*Biochem BiophysRes Commun* 1987; 148:864-8.
- 83.** Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, et al.Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994 Dec;145(6):1421-31
- 84.** Wenzel SE.New approaches to anti-inflammatory therapy for astma. *Am J Med.* 1998; 104:287-300.
- 85.** Zografos GN, Kakaviatos ND, Skiathitis S,et al.Total vascular exclusion for liver resections: pros and cons.*J Surg Oncol* 1999 Sep;72(1):50-5; discussion 55-6.
- 86.** Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, et alCD4+ T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion induced inflammatory responses in mouse liver.1997; *J Clin Invest* 100 :279-89.