

Akciğerin İskemi-Reperfüzyon Hasarını Engellemede Teofilinin Yeri ve Uygun Dozu

Korkut Bostancı¹, Alper Toker³, Yusuf Bayrak³, Gülçin Toker²

¹ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi AD, İstanbul

² İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, İstanbul

³ İstanbul Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi AD, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada bir metilksantin türevi olan teofilinin akciğerde iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri ve hasarı azaltmadaki uygun perfüzyon dozu araştırılmıştır.

30 sıçan üzerinde uyguladığımız bu deneysel çalışmada, deney grubu 1'de (n:5) 20 mg/L, deney grubu 2'de (n:5) 100 mg/L, deney grubu 3'te (n:5) 400 mg/L ve deney grubu 4'te (n:5) 1000 mg/L teofilin içeren koruma solüsyonu perfüzyonu sonrası 6 saat süreyle hipotermik iskemide tutulan ve 30 dakika boyunca %100 O₂ ile ventile edilerek re-oksijenasyon sağlanan izole sıçan akciğerlerinde lipid peroksidasyonu ara ürünü olan dien konjugat (DC) ve malondi aldehit (MDA) doku düzeyleri ölçüldü ve 2 adet kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

400-1000 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan korumada DC ve MDA düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu.

Bu çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde, koruma solüsyonuna eklenen 400 - 1000 mg/L oranında teofilinin donör akciğerinde hipotermik iskemiye bağlı olarak gelişen oksidatif hasarı anlamlı derecede azalttığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: akciğer, iskemi, teofilin

Toraks Dergisi, 2002;3(2):126-131

ABSTRACT

The Role and the Right Dosage of Theophylline in the Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury of the Lung

In this study, the role and the right dosage of theophylline, a methylxanthine derivative, in the prevention of ischemia-reperfusion injury of the lung has been investigated.

This experimental study was performed with 30 rats; in experimental group (EG) 1 (n:5) 20 mg/L, in EG 2 (n:5) 100 mg/L, in EG 3 (n:5) 400 mg/L and in EG 4 (n:5) 1000 mg/L theophylline added flush solutions were perfused. Lungs were kept in hypothermic state for 6 hours and ventilated for 30 minutes with 100 % O₂. Tissue levels of dien conjugate (DC) and malondialdehyde (MDA) -intermediate products of lipid peroxidation- were measured. The results were compared with 2 control groups.

Dien conjugate and MDA levels in the groups preserved with 400-1000 mg/L were significantly less than the other groups.

The results of this study showed that 400-1000 mg/L of theophylline in the flush solution decreased the ischemic injury.

Key words: lung, ischemia, theophylline

Yazışma adresi: Dr. Alper Toker
İnönü Cad. Yıldız Sok.
STFA Blokları B/6
No: 13 81090 Kozyatağı İstanbul
Tel: (0212) 534 00 50/2829;
Faks: (0216) 338 43 80
e-posta: aetoker@superonline.com

GİRİŞ

Donör akciğerinin korunmasına yönelik çalışmalar akciğerin iskemi sırasındaki durumunun, kullanılan koruma solüsyonunun ısısının, koruma solüsyonunun kompozisyonundaki farkların ve koruma solüsyonundan önce veya koruma solüsyo-

nuyla birlikte kullanılarak iskemik hasarı azaltmayı amaçlayan farmakolojik maddelerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalardır [1-3].

Metilksantin türevi olan pentoksifilin birinden fazla mekanizmayla iskemik-reperfüzyon hasarını azalttığı bilinmektedir [4-6]. Bu mekanizmalardan biri, pentoksifilin hücre içinde siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeyini artırarak özellikle endotel hücresinde homeostazın ve hücre membran bütünlüğünün korunmasını sağlamasıdır [7]. Bu yoldan, serbest oksijen radikallerinin hücre membranında yol açtığı hasarı azaltmaktadır.

Teofilin 1,3-dimetilksantindir ve ilk olarak çay bitkisinin yapraklarından elde edilmiştir. Son zamanlarda, teofilinin de, fosfodiesteraz inhibisyonu yoluyla hücre içinde cAMP düzeyini artırarak benzer mekanizmalarla iskemik-reperfüzyon hasarını azaltabileceği yönünde deneysel çalışmalar yapılmıştır [8,9].

Bu deneysel çalışmada, teofilinin izole sıçan akciğerinde, hipotermik iskemik koşullarında, iskemik hasarın azaltılmasında doza bağımlı etkinliği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Wistar cinsi, 260-320 gram ağırlığında 30 adet erkek sıçan denek yer almıştır. Çalışma sırasında, Helsinki Bildirgesi Laboratuvar Hayvanları Komitesi tarafından yayınlanan "Laboratuvar Hayvanlarının Kullanım ve Bakım İlkeleri" bildirisinin ilgili maddelerine uyulmuştur.

Deney grupları

30 sıçan, her biri 5 sıçandan oluşan 6 gruba bölündü, dört grup deney gruplarını, diğer iki grup ise kontrol gruplarını oluşturdu:

Deney grubu 1: 270-310 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. Sıçanların akciğerleri iskemik sırasında, 20 mg/L teofilin içeren modifiye Euro-Collins solüsyonu perfüze edilerek atelektatik durumda korunmuştur.

Deney grubu 2: 280-300 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. Sıçanların akciğerleri iskemik sırasında 100 mg/L teofilin içeren modifiye Euro-Collins solüsyonu perfüze edilerek atelektatik durumda korunmuştur.

Deney grubu 3: 260-310 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. sıçanların akciğerleri iskemik sırasında 400 mg/L teofilin içeren modifiye Euro-Collins solüsyonu perfüze edilerek atelektatik durumda korunmuştur.

Deney grubu 4: 280-320 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. Sıçanların akciğerleri iskemik esnasında 1000 mg/L teofilin içeren modifiye Euro-Collins solüsyonu perfüze edilerek atelektatik durumda korunmuştur.

Kontrol grubu 1: 290-310 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. Dört deney grubu ve

Tablo I. Deney grubu 1, 2, 3, 4, kontrol grubu 1 ve 2 'deki sıçan akciğerlerinde DC ve MDA doku düzeyi ortalama değerleri

Deney grubu	nmol DC/g doku	nmol MDA/g doku
Deney grubu 1	991±26.60	260.65±21.12
Deney grubu 2	1003.50±40.36	248.90±11.57
Deney grubu 3	787.30±18.71	194.80±6.60
Deney grubu 4	716±18.73	193.72±5.48
Kontrol grubu 1	193.72±5.48	127.72±4.43
Kontrol grubu 2	1103.10±165.65	267.33±16.24

DC: Dien Konjugat, MDA: Malondialdehit

kontrol grubu 2 ile aynı anestezi ve ventilasyon parametreleri uygulanan sıçanların akciğerleri iskemik yaratılmaksızın çıkarılarak biyokimyasal olarak diğer kontrol grubu ve deney gruplarıyla aynı parametrelerle incelenmiştir.

Kontrol grubu 2: 270-320 gram ağırlığında 5 adet Wistar cinsi erkek sıçandan oluşmaktadır. Sıçanların akciğerleri, iskemik esnasında teofilin içermeyen modifiye Euro-Collins solüsyonu perfüze edilerek atelektatik durumda korunmuştur.

Modifiye Euro-Collins solüsyonunun içeriği: Na⁺: 10 mmol/L, K⁺: 115 mmol/L, Cl⁻: 15 mmol/L, HCO₃⁻: 10 mmol/L, PO₄⁻: 58 mmol/L, MgSO₄: 4mmol/L, Glukoz: 35 gr/L, pH: 7.3, Ozmolarite: 355 mOsm/L (Fresenius AG, Bad Hamburg, Germany)

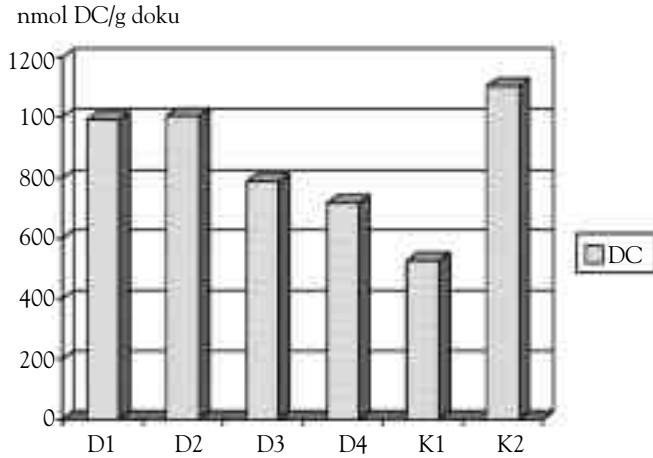
Cerrahi teknik

0.06 mg atropin sülfat (Atropin; Haver İlaç, Beykoz, İstanbul), 6 mg ketamin (Ketalar; Parke-Davis, Morris Plains, New Jersey, ABD) ve 5 mg pentotal sodyum (Pentothal; Abbott, North Chicago, Illinois, ABD) periton içine verildi ve genel anestezi sağlandı. Servikal trakeostomi açılarak 5 F dilatör kanül ile trakea kanüle edildi.

Oda havası ile, tidal volüm 3-4 ml olacak şekilde ambu ile ventilasyona başlandı. Solunum hattı su manometresine bağlanarak, ventilasyon basınçları 15/5-15/0 cm H₂O olacak şekilde ve 70-100/dk solunum frekansı ile ventilasyon uygulandı.

Trakeostomi için yapılan servikal insizyon batına kadar uzatıldı, median sternotomi ile kalp ve akciğerlere ulaşıldı. Timus rezeke edilerek majör vasküler yapılar görüldü. Her iki inferior pulmoner ligaman divize edilerek akciğerler eksplore edildi.

Kontrol grubu 1'deki beş sıçana bu aşamada total kalp-akciğer ekstraksiyonu uygulandı. Sağ akciğerler %0.9'luk NaCl solüsyonu ile yıkanıp kuru bir kaba konulduktan sonra buz içine gömülerek biyokimyasal analiz için ilgili laboratuvarlara gönderildi.



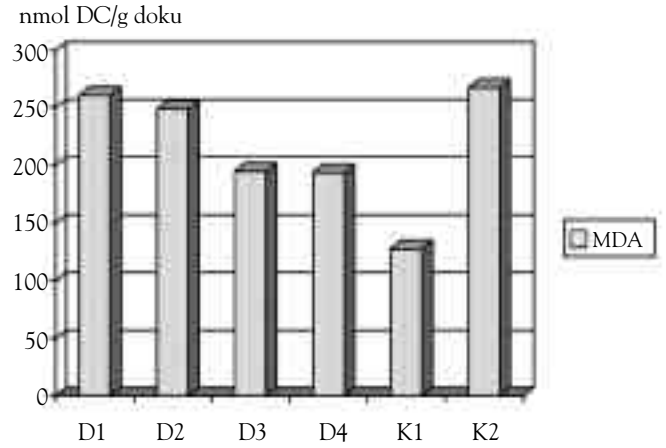
Şekil 1. Deney ve kontrol gruplarında ölçülen ortalama dien konjugat doku düzeylerinin karşılaştırılması.

Kontrol grubu 2'de ve dört deney grubunda işleme devam edildi. Aorta ve ana pulmoner arter prepare edildi ve 3/0 ipek ile döndü. Vena kava inferiordan 75 ünite heparin yapılarak sistemik heparinizasyon sağlandı.

Takiben, aorta ve ana pulmoner arter askıya alındı ve ana pulmoner arterden dental enjektör iğnesiyle yapılan kanülasyon yoluyla deney gruplarında, belirlenen dozlarda teofilin (Aminocardol; Novartis, 4. Levent, İstanbul) içeren, kontrol grubu 2'de ise teofilin içermeyen koruma solüsyonu infüzyonuna başlandı.

4°C ısıdaki Euro-Collins solüsyonuyla 40 cm yükseklikten yapılan infüzyona, ampüte edilen sol atrium aurikülasından berrak koruma solüsyonu gelene kadar devam edildi. Bu işlem sırasında ventilasyon da sürdürüldü ve akciğerlerin renginin gittikçe beyazlaştığı görüldü. İnfüzyonla verilen koruma solüsyonu miktarı 15-20 cc ve infüzyon süresi ortalama 5 dakika idi. Yer çekiminden yararlanılarak yapılan bu pasif koruma solüsyonu infüzyonu işleminin sonunda ventilasyona son verildi ve akciğerler bütünüyle çıkarıldı.

Akciğerler ateletatik durumda koruma solüsyonu içine konularak soğutucuya yerleştirildi. 0-1°C ısıdaki soğutucuda 6 saat süreyle bekletilen akciğerler, bu iskemik sürecin sonunda soğutucudan çıkartıldı. Trakea tekrar 5 F dilatör kanül ile kanüle edildi ve akciğerler, reoksijenasyon amacıyla, %100 O₂ ile, tidal volüm 3-4 ml olacak şekilde, 30 dakika boyuncaambu ile ventile edildi. Ventilasyon, basınçlar 15/5-15/0 cm H₂O ve solunum frekansı 70-100/dk olacak şekilde uygulandı. Reoksijenasyon sonunda, sağ akciğerler %0.9'luk NaCl solüsyonu ile yıkanıp kuru bir kaba konulduktan sonra buz içine gömülerek biyokimyasal analiz için ilgili laboratuvarlara gönderildi.



Şekil 2. Deney ve kontrol gruplarında ölçülen ortalama MDA doku düzeylerinin karşılaştırılması.

Biyokimyasal analiz

Buz içinde taşınması sağlanan akciğerler -80°C ısıdaki derin dondurucuda muhafaza edildi. Biyokimyasal ölçümler için, akciğer dokuları Ultra Turrax ile homojenize edildi ve 0.15 M KCl çözeltisi ile %10'luk homojenatlar hazırlandı.

Dien konjugat doku düzeyi ölçümü: Akciğer dokusunda lipid peroksidasyonu ara ürünlerinden biri olan dien konjugatın (DC) doku düzeyinin belirlenebilmesi için akciğer homojenatından 0.5 ml alındı. Üzerine 7.5 ml kloroform/metanol (2:1) karışımı eklendi, karıştırıldı ve süzüldü. Süzüntüden 2 ml alınarak azot gazı altında uçuruldu. Kuru kalıntı 3 ml sikloheksana alındı. Bausch-Lomb 21 spektrofotometrede 233 nm dalga boyunda sikloheksana karşı okundu. Dien konjugat düzeyleri 233 nm'de dien konjugatın molar ekstinksiyon katsayısından ($=2.52 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar nmol DC/g doku cinsinden belirtildi.

Malondialdehit doku düzeyi ölçümü: Akciğer dokusunda, lipid peroksidasyonu son ürünlerinden biri olan malondialdehidin (MDA) doku düzeyinin belirlenmesinde Buege-Aust yöntemi tercih edildi. %10'luk akciğer homojenatından 250 ml alındı. Üzerine 750 ml distile su ve 2 ml Buege ayracı eklendi, karıştırıldı ve 15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi, soğutuldu, santrifüj edildi. Absorbanslar, homojenat içermeyen bir ayıraç körüne karşı 532 nm'de spektrofotometrede okundu. Malondialdehit düzeyleri MDA'nın molar ekstinksiyon katsayısı ($=1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar nmol MDA/g doku cinsinden tanımlandı.

(Buege ayracı: %0.67 TBA + 7.5 ml TCA + 1.05 ml derişik HCl + 5 mg BHT / 50 ml H₂O)

İstatistiksel değerlendirme

Tüm sayısal değerlerin ortalaması ve standart sapması hesaplandı. İstatistiksel analizde Mann-Whitney-U testi uygulandı; $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Deney grubu 1, 2, 3 ve 4'te belirlenen dien konjugat ve MDA doku düzeyleri ve hesaplanan ortalama değerler Tablo I'de görülmektedir.

Deney grubu 1'deki sıçan akciğerlerinde ölçülen dien konjugat doku düzeyleri ortalaması 991 ± 26.60 nmol DC/g doku olarak hesaplandı. Deney grubu 2'de dien konjugat düzeyleri ortalaması 1003.50 ± 40.36 nmol DC/g doku olarak hesaplanırken, bu değer, deney grubu 3'te 787.30 ± 18.71 nmol DC/g doku ve deney grubu 4'te 716 ± 18.73 nmol DC/g doku olarak bulundu. Kontrol grubu 1'deki sıçan akciğerlerinde dien konjugat düzeyleri ortalaması $525.10 + 8.18$ nmol DC/g doku olarak hesaplandı. Bu değer kontrol grubu 2'de 1103.10 ± 165.65 nmol DC/g doku olarak belirlendi.

Tüm deney gruplarında ölçülen dien konjugat doku düzeyi ortalama değerleri ile kontrol grubu 1'de hesaplanan değer arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ($p = 0.008$). Kontrol grubu 2 ile yapılan karşılaştırmada, deney grubu 1'de ve deney grubu 2'de hesaplanan dien konjugat doku düzeyleri ortalama değeri ile aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (sırasıyla $p = 0.095$ ve $p = 0.222$). Kontrol grubu 2 ile deney grubu 3 ve 4'te belirlenen ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p = 0.008$). Kontrol grubu 1 ve 2'de ölçülen dien konjugat doku düzeyi ortalama değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.008$). Deney grubu 3 ve 4'te ölçülen dien konjugat doku düzeyi ortalama değerleri arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.008$). Dört deney grubu ve kontrol gruplarında ölçülen dien konjugat doku düzeyi ortalama değerleri Şekil 1'de görülmektedir.

Sıçan akciğerlerinde ölçülen MDA doku düzeyleri ortalaması deney grubu 1'de 260.65 ± 21.12 nmol MDA/g doku, deney grubu 2'de ise 248.90 ± 11.57 nmol MDA/g doku olarak hesaplandı. Bu değer, deney grubu 3'te 194.80 ± 6.60 nmol MDA/g doku ve deney grubu 4'te 193.72 ± 5.48 nmol MDA/g doku olarak bulundu. Kontrol grubu 1'deki sıçan akciğerlerinde MDA düzeyleri ortalaması 127.72 ± 4.43 nmol MDA/g doku ve kontrol grubu 2'de 267.33 ± 16.24 nmol MDA/g doku olarak belirlendi.

Tüm deney gruplarında ölçülen MDA doku düzeyi ortalama değerleri ile kontrol grubu 1'de hesaplanan değer arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlen-

di ($p = 0.008$). Kontrol grubu 2 ile yapılan karşılaştırmada, deney grubu 1'de hesaplanan MDA doku düzeyleri ortalama değeri ile aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p = 0.84$), ve deney grubu 2'de hesaplanan değer ile aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p = 0.095$) bulundu. Kontrol grubu 2 ile deney grubu 3 ve deney grubu 4'te belirlenen ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p = 0.008$). Kontrol grubu 1 ve 2'de ölçülen MDA doku düzeyi ortalama değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.008$). Deney grubu 3 ve 4'te ölçülen MDA doku düzeyi ortalamaları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamsızdı ($p = 0.841$). Dört deney grubu ve kontrol gruplarında ölçülen MDA doku düzeyi ortalama değerleri Şekil 2'de görülmektedir.

TARTIŞMA

Transplante edilmek üzere ekstrakte edilip korunan diğer solid organların aksine, akciğerler aerobik metabolizmanın devamı için gerekli olan moleküler oksijeni sadece vasküler dolaşımdan sağlamaz. Akciğerler özellikle ekspansiyon halinde korunduğunda, perfüzyon olmamasına rağmen, alveoller içindeki oksijen ve koruma solüsyonu içindeki glukoz sayesinde aerobik metabolizmayı sürdürerek uzayan iskemik süreçte ATP seviyelerini koruyabilir [10]. Yine diğer solid organlardan farklı olarak, akciğerlerde, laboratuvar koşullarında, reperfüzyon olmaksızın da iskemi-reperfüzyon hasarı benzeri bir tablo yaratmak mümkündür [11]. İskemik süreçte ortaya çıkan hipoksantinden serbest oksijen radikalleri oluşabilmesi için gerekli olan oksijen, reperfüzyon yerine ventilasyonla da sağlanabilir [12-14]. Sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, akciğer dokusunda ventilasyon sonucu oksijene bağlı olarak gelişen oksidatif hasarın normotermik iskemik 15. dakikasından itibaren ortaya çıktığı ve 30. dakikadan itibaren hızla arttığı gösterilmiştir [13,15]. Reperfüzyon uygulanmadan ortaya çıkan bu iskemik hasar nötrofillerin sorumlu olduğu inflamatuvar fazdan yoksundur ve daha çok serbest oksijen radikallerinin yol açtığı lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna bağlı gelişir [16-18].

Bu çalışmada da, reperfüzyon uygulanmadan, iskemi-reperfüzyon hasarı benzeri bir tablo oluşturabilmek amacıyla, ateletatik durumda 6 saat süren hipotermik iskemik sürecini takiben, 30 dakika boyunca %100 O₂ ile ventilasyon uygulanarak akciğer dokusunda reoksijenasyon sağlanmış, böylece iskemi-reperfüzyon hasarının oksidatif fazı oluşturulmuştur. Bu hasarın göstergesi olarak da, reoksijenasyon sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin yol açtığı lipid peroksidasyonunun ara ürünle-

rinden biri olan dien konjugat ve son ürünlerinden biri olan MDA doku düzeyleri tespit edilmiştir.

Lipid peroksidasyonu hidroksil radikallerinin, özellikle satüre olmamış hücre lipidleriyle reaksiyona girmesiyle başlar. Bu reaksiyon sonucu lipid radikalleri oluşur. Lipid radikalleri, çift bağlarında ortaya çıkan yapısal değişiklikle dien konjugata dönüşür. Dien konjugat, O₂ varlığında lipid hidroperoksiradikale, o da lipid endoperoksiradikale dönüşür. Lipid endoperoksiradikal iki farklı yol izleyebilir; diğer lipid moleküllerini okside ederek daha stabil olan lipid hidroperoksit ve lipid radikali oluşturabilir, veya O₂ ve Fe⁺⁺ varlığında lipid alkoksiradikale dönüşebilir. Lipid alkoksiradikalın yıkılmasıyla alkil radikal, lipid aldehit ve MDA son ürünleri oluşur [11]. Bu moleküller içinde, lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak düzey ölçümü en uygun olanlar dien konjugat ve MDA olarak belirlenmiştir [19,20]. Biz de bu çalışmada, iskemik hasarın biyokimyasal göstergeleri olarak dien konjugat ve MDA doku düzeylerini tercih ettik.

Antioksidan maddeler gibi koruma solüsyonuna eklenen bazı farmakolojik ajanların farklı mekanizmalarla iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı bilinmektedir. Bir metilksantin türevi olan pentoksifilin bir den fazla mekanizmayla iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı yapılan deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır [4-7].

Pentoksifilin, siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimini inhibe edip hücre içinde cAMP düzeyini yükselterek endotel hücrelerinde vazodilatör prostaglandinlerin üretimini artırır, süperoksit anyon üretimini azaltır ve oksijen radikallerinin hücre membranlarında yol açtığı hasarı azaltarak hücre membran bütünlüğünün ve homeostazın korunmasını sağlar, nötrofillerin agregasyonunu, sekestrasyonunu, endotel hücrelerine adezyonunu ve degranülasyonunu önler, TNF üretimini azaltır, endotoksin ve sitokinlerin etkilerini sınırlar, kan hücrelerinin elastikiyetini artırarak ve kanın viskozitesini azaltarak mikrovasküler dolaşımı düzenler [4,7].

1999 yılında Featherstone [9], sıçanlarla yaptığı deneysel çalışmada, pentoksifilin gibi bir metilksantin türevi olan teofilinin de siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimini inhibe edip hücre içinde cAMP düzeyini yükselterek, benzer mekanizmalarla iskemi-reperfüzyon hasarını azaltabileceğini göstermiştir. Teofilin içeren koruma solüsyonu perfüze edildikten sonra 6 saat hipotermik iskemi koşullarında saklanan ve sonrasında, 40 dakika süreyle reperfüze edilen izole sıçan akciğerlerinde, teofilin içermeyen solüsyonla yapılan korumaya nazaran daha iyi uyum, damar direnci, pH ve "ıslak:kuru ağırlık oranı" değerleri elde edilmiştir [9].

Bizim çalışmamızda da farklı dozlarda teofilin içeren

koruma solüsyonu perfüzyonuyla iskemik hasarın azaltılıp azaltılamayacağı araştırıldı ve bu etkiyi sağlayacak teofilin dozu belirlenmeye çalışıldı. Teofilin içermeyen solüsyonla yapılan koruma ve 20-100 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan koruma arasında dien konjugat doku düzeyi açısından anlamlı fark saptanamazken, 400-1000 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan korumada, teofilin içermeyen solüsyonla yapılan korumadan daha iyi sonuçlar elde edildi ve aradaki fark anlamlı bulundu. Ayrıca, deney grubu 3 ve 4'te ölçülen ortalama dien konjugat doku düzeyleri arasındaki farkın da anlamlı olduğu belirlendi. Başka bir deyişle, 1000 mg/L teofilin içeren solüsyonla yapılan korumada, dien konjugat doku düzeyi açısından, 400 mg/L teofilin içeren solüsyonla yapılan korumadan daha iyi sonuçlar elde edildi ve oksidatif hasarın bu grupta diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az görüldüğü sonucuna varıldı.

Aynı şekilde, deney ve kontrol gruplarında ölçülen MDA doku düzeyi ortalama değerleri karşılaştırıldığında, teofilin içermeyen solüsyonla yapılan koruma ile 20-100 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan koruma arasında MDA doku düzeyi açısından anlamlı fark saptanamadı. 400-1000 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan korumada ise, teofilin içermeyen solüsyonla yapılan korumadan daha iyi sonuçlar elde edildi ve aradaki fark anlamlı bulundu. Ancak deney grubu 3 ve 4'te ölçülen MDA doku düzeyi ortalamaları arasındaki fark, bu iki grubun dien konjugat doku düzeyleri ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığının tersine, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Başka bir deyişle, 400 ve 1000 mg/L teofilin içeren solüsyonlarla yapılan korumalar arasında MDA doku düzeyi açısından kayda değer fark saptanamadı. Oysa, lipid peroksidasyonunun ara ve son ürünleri olan dien konjugat ve MDA aynı kimyasal reaksiyonun farklı basamaklarının göstergeleri olduğuna göre bu sonuçların da uyumlu olması beklenirdi. Bu istatistiksel farklılığı deney gruplarındaki denek sayılarının azlığına bağlayabiliriz. Fakat yine de, bu bulgular ışığında, 400 mg/L'ye kadar teofilinin, koruma solüsyonuna oksidatif hasarı azaltma yönünde bir katkısının olmadığını, ancak 400 mg/L ve üstü konsantrasyonlarda, özellikle de 1000 mg/L konsantrasyonunda teofilinin koruma solüsyonuna eklenmesinin hücre düzeyinde oksidatif hasarın azaltılmasına anlamlı derecede katkısı olduğunu söyleyebiliriz.

Bu çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, koruma solüsyonuna eklenen teofilinin donör akciğerinde, hipotermik iskemiye bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif hasarı anlamlı derecede azalttığı ve bu etkiyi 400 mg/L ve daha yüksek dozlarda, özellikle 1000 mg/L düzeyinde gösterdiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Patterson GA, Cooper JD. Lung transplantation. In: Schields TW, ed. *General Thoracic Surgery*. (4th) Philadelphia: Williams & Wilkins 1994; 1064-91.
2. Puskas JD, Hirai T, Christie N et al. A reliable 30-hour lung preservation by donor hyperinflation. *J Thorac and Cardiovasc Surg* 1992; 104: 1077-83.
3. De Leyn PRJ, Lerut TE, Schreinemakers HHJ et al. Effect of inflation on adenosine triphosphate catabolism and lactate production during normothermic lung ischemia. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 1073-9.
4. McDonald RJ. Pentoxifylline reduces injury to isolated rat lungs perfused with human neutrophils. *Am J Respir Dis* 1991; 144: 1347-1350.
5. Berkenboom G, Unger P, Goldman M, Fang ZY, Fontaine J. Prevention of cyclosporine A-induced vascular toxicity by pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 18: 761-8.
6. Reignier J, Mazmanian M, Detroit H. Reduction of ischemia-reperfusion injury by pentoxifylline in the isolated rat lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 342-7.
7. Yamashita M, Schmid RA, Okabayashi K. Pentoxifylline in flush solution improves early lung allograft function. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1055-61.
8. Farrukh IS, Gurtner GH, Michael JR. Pharmacological modification of pulmonary vascular injury: Possible role of cAMP. *J Appl Physiol* 1987; 62: 47-54.
9. Featherstone RL, Kelly FJ, Chambers DJ. Theophylline improves functional recovery of isolated rat lungs after hypothermic preservation. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 798-803.
10. Date H, Matsumura A, Manchester JK. Evaluation of lung metabolism during successful twenty-four-hour canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105: 480-91.
11. Fisher AB, Al-Mehdi AB. Manifestations and mechanisms of ischemia-reperfusion injury to the lung. *J Appl Physiol* 1997; 14: 309-38.
12. Puskas JD, Cardoso PFG, Mayer E et al. Equivalent eighteen-hour lung preservation with low-potassium dextran or Euro-Collins solution after prostaglandin E1 infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 83-9.
13. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT et al. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest* 1991; 88: 674-9.
14. Ayene IS, Dodia C, Fisher AB. Role of oxygen in oxidation of lipid and protein during ischemia-reperfusion in isolated perfused rat lung. *Arch Biochem Biophys* 1992; 296: 183-9.
15. Eckenhoff RG, Dodia C, Tan Z, Fisher AB. Oxygen-dependent reperfusion injury in the isolated rat lung. *J Appl Physiol* 1992; 72: 1454-60.
16. Koyama I, Toung TJK, Rogers MC, Gurtner GH, Traystman RJ. O₂ radicals mediate reperfusion lung injury in ischemic O₂-ventilated canine pulmonary lobe. *J Appl Physiol* 1987; 63: 111-5.
17. Becker PM, Pearse DB, Sylvester JT. Effects of oxygen tension and glucose concentration on ischemic injury in ventilated ferret lungs. *J Appl Physiol* 1993; 75: 1233-7.
18. Deeb GM, Grum CM, Lynch MJ et al. Neutrophils are not necessary for induction of ischemia-reperfusion lung injury. *J Appl Physiol* 1990; 68: 374-81.
19. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 1978; 52: 302-10.
20. Corongiu FP, Banni S, Dessi MA. Conjugated dienes detected in tissue lipid extracts by second derivative spectrophotometry. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 183-