



**AORTİK İSKEMİ-REPERFÜZYONA MARUZ KALAN  
SIÇANLARDA TRANEKSAMİK ASİDİN ELASTİN  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Betül ÖZCAN  
1208205151**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. İbrahim GÜNER**

**Tez No: 179**

**2023 – TEKİRDAĞ**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AORTİK İSKEMİ-REPERFÜZYONA MARUZ KALAN  
SIÇANLARDA TRANEKSAMİK ASİDİN ELASTİN  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Betül ÖZCAN  
1208205151**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. İbrahim GÜNER**

**Bu Çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon  
Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: NKUBAP.02.YL.22.423**

**Tez No: 179**

**2023-TEKİRDAĞ**

**KABUL VE ONAY**

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı, Kardiyovasküler Fizyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde Prof. Dr. İbrahim GÜNER danışmanlığında yürütülmüş  
bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

29/05/2023

Fizyoloji Anabilim dalı, Kardiyovasküler Fizyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Betül ÖZCAN'ın "Aortik iskemi-reperfüzyona maruz kalan sıçanlarda traneksamik asidin elastin üzerindeki etkileri" başlıklı tezi 29.05.2023 günü saat 11:00'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bilgilerini ve tecrübesini benden esirgemeyen, tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Güner hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte yardım ve destekleri ile her konuda yardımcı olan Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Meltem ÖZNUR hocama, Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Birol TOPÇU hocama, Dr. Öğr. Üyesi Murat MENGİ hocama, Doç. Dr. Aliye ÇELİKKOL hocama, Arş. Gör. Dr. Emine UYGUR hocama ve Arş. Gör. Ahsen YILMAZ hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve tezimin her aşamasında yanımda olan yol arkadaşım Dicle Erdoğan'a ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (NKUBAP.02.YL.22.423).

## ÖZET

**Özcan B. Aortik iskemi-reperfüzyona maruz kalan sıçanlarda traneksamik asidin elastin üzerindeki etkileri, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2023.** İnfrarenal abdominal aortik iskemi-reperfüzyon (IAA-IR) akciğerler dâhil, uzak organların hasarlanmasına neden olabilir. IR sırasında aktive olmuş doğal bağışıklık hücrelerinden salınan matriks metalloproteinazlar (MMP), elastin (ELN) ve diğer hücre dışı matriks (HDM) bileşenlerini parçalayabilir. ELN solunum sırasında alveollerin genişlemesinden ve elastik geri çekilmesinden sorumludur. ELN yıkımı akciğerlerde elastikiyet kaybı ile sonuçlanır. Bir plazmin inhibitörü olan traneksamik asit (TXA), tripsinojen ve plazminojen dâhil olmak üzere serin proteazlar üzerindeki lizin bağlanma bölgelerini bloke eder. Böylece TXA, inaktif metalloproteaz öncüllerinin aktif metalloproteinazlara dönüşümünden sorumlu olan plazmini (bir serin proteazdır) inhibe ederek HDM'nin parçalanmasını önleyebilir.

İskemi-reperfüzyon hasarını (IRH) önlemek için çeşitli tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Bu nedenle TXA'nın IRH üzerine etkisini belirlemek amacıyla 21 adet Sprague-Dawley sıçan rastgele 3 gruba ayrıldı (grup başına 7 sıçan). Kontrol grubuna sadece IAA diseksiyonu uygulandı; IR grubuna IAA'nın 60 dakika süreyle klemplenmesinin ardından 120 dakika reperfüzyon uygulandı; TXA+IR grubuna, IR öncesinde 50 mg/kg intravenöz TXA uygulandı. MMP-9 ve ELN seviyesini ölçmek için tüm hayvanlardan kan serumu bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALS) ve akciğer doku örnekleri alındı. Ayrıca akciğer dokusu histopatolojik olarak değerlendirildi.

Aortik IR, MMP-9 seviyesini serum, BALS ve ADS örneklerinde artırmıştır. Buna karşılık ELN düzeyini serum ve BALS örneklerinde artırmış ADS örneklerinde ise azaltmıştır. TXA ile tedavi tüm örneklerde MMP-9 seviyesini azaltırken ELN seviyesini serum ve BALS örneklerinde azaltmış ADS örneklerinde ise artırmıştır.

Sonuç olarak bulgularımız TXA'nın MMP-9 aracılı HDM parçalanmasını ve ELN yıkımını önleyerek AAH'yı hafiflettiğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** İskemi reperfüzyon hasarı, hücre dışı matriks, matriks metalloproteinaz, plazmin.

## ABSTRACT

**Özcan B. The effects of tranexamic acid on elastin in rats exposed to aortic ischemia–reperfusion, Tekirdağ Namık Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Physiology, Master's Thesis, Tekirdağ, 2023.** Infrarenal abdominal aortic ischemia-reperfusion (IAA-IR) can cause damage to distant organs, including the lungs. Matrix metalloproteinases (MMPs) released from activated innate immune cells during IR can degrade elastin (ELN) and other extracellular matrix (ECM) components. ELN is responsible for the expansion and elastic recoil of the alveoli during respiration, and its degradation can result in the loss of elasticity in the lungs. Tranexamic acid (TXA), a plasmin inhibitor, blocks the lysine binding sites on serine proteases, including trypsinogen and plasminogen. As a result, TXA can prevent the degradation of ECM by inhibiting plasmin (a serine protease) that is responsible for the conversion of inactive metalloprotease precursors into active metalloproteinases.

Various treatment methods are being investigated to prevent ischemia-reperfusion injury (IRI). Therefore, 21 Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups (7 rats per group) to determine the effect of TXA on IRI. The control group underwent only IAA dissection; the IR group underwent IAA clamping for 60 minutes followed by 120 minutes of reperfusion; the TXA+IR group received 50 mg/kg intravenous TXA before IR. Blood serum, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissue samples (LTSs) were obtained from all animals to measure MMP-9 and ELN levels. Lung tissue was also evaluated histopathologically.

Aortic IR increased MMP-9 levels in serum, BALF, and LTF samples. However, it increased ELN levels in serum and BALF samples but decreased them in LTF samples. Treatment with TXA reduced MMP-9 levels in all samples while decreasing ELN levels in serum and BALF samples and increasing them in LTF samples.

In conclusion, our findings suggest that TXA alleviates ALI by preventing MMP-9-mediated ECM fragmentation and ELN degradation.

**Keywords:** Ischemia-reperfusion injury, extracellular matrix, matrix metalloproteinase, plasmin.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ivi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ .....	xiii
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1.İskemi.....	3
2.2.Reperfüzyon .....	3
2.3.İskemi-Reperfüzyon Hasarı (IRH) .....	4
2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Mekanizması .....	4
2.4.1. Oksidatif Stres.....	6
2.4.2. Hücre Zarı İyon Pompaları .....	8
2.4.3. Sitokinler.....	10
2.4.4. Matriks Metalloproteinazlar (MMP) .....	11
2.4.5. Elastin .....	13
2.5.Traneksamik Asit .....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	15
3.1. Hayvanlar .....	15
3.2. Deneyin Tasarımı .....	15
3.3. Cerrahi Yöntem .....	16
3.4. Yaş/Kuru Oranı .....	17
3.5. Histolojik Değerlendirme .....	17
3.6. Biyokimyasal Ölçümler.....	18
3.6.1. Kan Serumı Eldesi .....	18
3.6.2. Bronkoalveolar Lavaj Sıvısı (BALS) Eldesi .....	18
3.6.3. Akciğer doku örneği homojenizasyonu .....	19
3.6.4. Kimyasallar.....	19
3.7. Elisa(ELISA)Yöntemi .....	19
3.8. İstatistiksel Analiz .....	22

4. BULGULAR.....	23
4.1. Akciğerlerin Yaş/Kuru (W/D) Oranı.....	23
4.2. Akciğer Histolojisi .....	24
4.3. Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Seviyesinde Oluşan Değişiklikler .....	26
4.4. Elastin (ELN) Seviyesindeki Değişiklikler .....	27
5. TARTIŞMA .....	29
6. KAYNAKLAR .....	33

## EKLER

EK:1- ETİK KURUL ONAYI



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAH	Akut Akciğer Hasarı
ADS	Akciğer Doku Sıvısı
AMP	Adenozin Monofosfat
AP-1	Aktivatör Protein-1
ARDS	Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
ATP	Adenozin Trifosfat
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
BALS	Bronkoalveolar Lavaj Sıvısı
Ca <sup>++</sup>	Kalsiyum
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ELN	Elastin
H&E	Hematoksilen ve Eozin
HDM	Hücre Dışı Matriks
IAA	İnfrarenal Abdominal Aorta
IR	İskemi Reperfüzyon
IRH	İskemi-Reperfüzyon Hasarı
İ.V.	İntravenöz
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
MDA	Malondialdehid
MMP	Matris Metalloproteinaz
MODS	Çoklu Organ İşlev Bozukluğu Sendromu
MOF	Çoklu Organ Yetmezliği
MPO	Miyeloperoksidaz
Na <sup>+</sup>	Sodyum

NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentazlar
O <sub>2</sub>	Oksijen
P <sub>μvask</sub>	Mikrovasküler Geçirgenlik
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
PGE2	Prostaglandin E2
PVR	Pulmoner Vasküler Direnç
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SIRS	Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu
SOD	Süperoksit Dismutaz
TXA	Traneksamik Asit
W/D	Yaş/Kuru
XO	Ksantinoksidaz
Zn <sup>++</sup>	Çinko

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. İskemi-reperfüzyon hasarında mitokondrinin rolü.	5
Şekil 2.2. Akciğerde iskemi-reperfüzyon hasarında fizyolojik değişiklikler.	6
Şekil 2.3. Doku hasarının iskemi ve reperfüzyon bileşenlerine katılan başlıca patolojik olaylar.	8
Şekil 2.4. İskemi-reperfüzyon hasarında iyon pompaları.	9
Şekil 2.5. Akciğerde ksantinoksidaz bağımlı süperoksit oluşumu.	10
Şekil 4.1. Hematoksilen-eozin ile boyanmış kontrol grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı.	24
Şekil 4.2. Hematoksilen-eozin ile boyanmış 1r grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı.	25
Şekil 4.3. Hematoksilen-eozin ile boyanmış TXA+IR grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı.	26

**TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ**

	Sayfa
Tablo 3.1. Histolojik skOrlama sistemi.	18
Tablo 4.1. Akciğerlerin yaş/kuru oranı.	23
Tablo 4.2. Akciğerlerin toplam histolojik hasar skoru.	25
Tablo 4.3 Kan serumu, bronkoalveolar lavaj sıvısı ve akciğer doku sıvısında elastin ve matriks metalloproteinaz-9 değerleri.	27
Grafik 4.1. Akciğerlerin yaş/kuru oranı.	23
Grafik 4.2. Akciğerlerin toplam histolojik hasar skoru.	25
Grafik 4.3. Kan serumu, bronkoalveolar lavaj sıvısı ve akciğer doku sıvısı örneklerinde matriks metalloproteinaz-9 ve elastin bulguları.	28

## 1.GİRİŞ

İnfrarenal abdominal aortanın (IAA) oklüzyonu ve reperfüzyonu insanlarda perivasküler cerrahideve deneysel hayvan modellerinde sıklıkla uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntem akciğerler, kalp ve böbrek gibi uzak organlarda iskemi-reperfüzyon hasarına (IRH) neden olmaktadır. (Kim ve diğ. 2011; Guner ve diğ. 2014; Aksu ve diğ. 2014). İskemik bir dokuya kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) beklenmedik bir şekilde doku veya organın daha fazla hasar görmesine, işlevinin ve canlılığının tehlikeye girmesine neden olur. (Dorweiler ve diğ. 2007). IRH'ye artmış oksidatif stres, nötrofil infiltrasyonu, çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin aktifleşmesi, endotel hasarı ve hücre zarında iyon taşıma mekanizmalarının ve elastin yapısının bozulması ve yıkımı gibi sayısız faktör neden olmaktadır. (de Perrot ve diğ. 2003; Ayala ve diğ. 2018). Şiddetli travma ve kanama akciğer ödemine ve akciğer dokusuna bağışıklık hücrelerinin ve trombositlerin sızmasına, miyeloperoksidaz (MPO), elastaz ve C5a miktarında artışa yol açar. Bu değişikliklerin tamamı enflamasyonun ve akut akciğer hasarı (AAH)'nın belirteçleri olarak kabul edilmektedir. (Wu ve diğ. 2016).

Elastin (ELN), elastik geri çekilme gerektiren dokuların çoğunda üretilmektedir. ELN, plevradaki mezotelyal hücreler, hava yollarındaki ve kan damarlarındaki düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve interstisyel fibroblastlar dâhil, akciğerdeki birçok hücre tipinde üretilmektedir. ELN fibrillin içeren mikrofibrillerle birleşerek hücre dışı matrikste (HDM) işlev gören ve fizyolojik bir yapı olan elastik lifleri oluşturur. Elastik lifler, dokunun mekanik ihtiyaçlarına bağlı olarak çok farklı şekillerde örüntü oluşturabilir. Örneğin akciğerlerdeki büyük damarlarda bulunan ELN, sürekli tabakalar veya lamellar yapı oluşturarak düz kas tabakalarını ayırır. Elastik lifler ayrıca ana bronşlardan kaynaklanan ve distal hava boşluklarına ve visseral plevraya giren geniş bir lif ağı oluşturur. Bu lif ağı, alveolar kanalları ve terminal hava boşluklarını çevreleyen ve uygulanan kuvvetin, akciğerin tüm bölgelerine eşit olarak iletilmesini sağlayan bir döngü sistemi oluşturur. Akciğerlerin normal fonksiyon yapabilmesi için ELN uygun bir şekilde salgılanmalı ve bir araya gelmelidir. ELN liflerinin bir araya gelmesinin engellenmesi veya var olan ELN'nin

bozulması akciğer fonksiyon bozukluğuna ve hastalığına neden olmaktadır. (Mecham 2018).

İskemi-reperfüzyon hasarı (IRH)'na karşı vitamin D3, fluoksetin hidroklorür ve timozin- $\beta$ 4 gibi bazı antioksidan ve anti-enflamatuvar etkili farmakolojik maddelerin koruyucu etkilerinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte, IRH'ye bağlı olarak gelişen AAH'da hastalık ve ölüm oranı tam olarak önlenememiştir. (de Perrot ve diğ. 2003; Shih, 2011; Guner ve diğ. 2014; Yaman ve diğ. 2019).

Traneksamik asit (TXA) plazminojenin plazmine dönüşümünü ve plazminin etkilerini engeller. Ameliyat sırasında ve sonrasında kanamayı önlemek için de kullanılmaktadır. Ayrıca prostoglandin E2 (PGE2) sentezini inhibe ederek enflamasyonu engelleyici etki de göstermektedir. (Endo ve diğ. 2021). TXA verilmesinin enflamasyonu ve AAH'nın belirteçlerinde oluşan artışı azalttığı ve AAH'nın tedavisinde faydalı olabileceği ileri sürülmüştür. (Wu ve diğ. 2017).

TXA'nın insanlarda ve çeşitli hayvan modellerinde dokular ve organlar üzerine etkileri çalışılmasına rağmen, IR'ye bağlı olarak gelişen AAH'nın önlenmesi ve hafifletilmesi üzerindeki etkileri tam olarak araştırılmamıştır. Bu nedenlerle IRH'ye bağlı olarak gelişen AAH'da ELN yıkımının TXA ile engellenebileceğini veya azaltılabileceğini ve böylece oluşabilecek AAH'yı hafifletilebileceğini ve AAH'nın tedavisine katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.

Bu bilgilerin ışığında çalışmamızda TXA'nın IRH'ye bağlı olarak gelişen AAH'ye karşı koruyucu veya hafifletici etkisinin olup olmadığını, kan serumu, akciğer doku sıvısı (ADS) ve bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALS) örneklerinde matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve ELN seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçülerek ve akciğer dokusunun hücresel bütünlüğü histopatolojik açıdan incelenerek araştırılmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.İskemi

İskemi, bir doku bölgesine kan akımının azalması veya durması durumu olarak tanımlanmaktadır. İskemi, IRH'nin ilk hasar seviyesini gösterir. Kan akımının azalması veya durmasına bağlı olarak doku veya organa yetersiz oksijen (O<sub>2</sub>) dağılımı, hücrel metabolizmanın anaerobik yollara dönüşümüne neden olur. (Siemionow ve Arslan, 2004). İskemiye bağlı olarak dokulara kan dolaşımı yoluyla giden O<sub>2</sub>'nin azalması dokuda hipoksiye neden olarak, hipoksik doku hasarı oluşturur. Hipoksi sırasında, reperfüzyon sonrasına göre az miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. (Becker 2004). Bu süreçte oluşan iskemik hasar, dokunun iskemiye olan duyarlılığı ve hipoksinin şiddetine bağlı olarak, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak hücrel hasar ve ardından hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi biyokimyasal reaksiyonları tetikler. (Welbourn ve diğ. 1991; Zimmerman ve Granger 1992). Anoksi olsun ya da olmasın iskemi sırasında arterioller ve kapillerlerde hipoksi ve mekanotransdüksiyon eksikliği makrofajları, endotel hücrelerini ve diğer bağışıklık hücrelerini ROS üretmeye teşvik eder. Kalsiyum/kalmodulin bağımlı nitrik oksit sentazlar (NOS), nükleer faktör kappa B (NF-κB), nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve proinflamatuvar sitokinler aktive olur ve akciğerlerin endotel yüzeyinde hücre-yüzey yapışma moleküllerinin artışına neden olur. (Den Hengst ve diğ. 2010). Uzun süreli iskemi, hücrelerde zar potansiyeli ve iyon dağılımında değişiklik, şişme ve hücre iskeleti düzensizliği, hipoksantin seviyesinde artış ve ATP, fosfokreatin ve glutatyon seviyesinde azalma ve asidoz gibi çok sayıda hücrel metabolik ve ince yapısal değişikliklerle sonuçlanır. (Collard ve Gelman 2001).

### 2.2.Reperfüzyon

İskemi sırasında meydana gelen biyokimyasal ve moleküler değişiklikler serbest radikallerin (süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali vb.) oluşumuna neden olur. (Manson ve diğ. 1983). İskemik dokuda hasarın geri döndürülebilmesi ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılabilmesi için dokuya kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) gerekir. Ancak iskemik dokuya kan akımının yeniden sağlanması bir dizi olaylar zincirini başlatarak beklenmedik bir

şekilde doku hasarına yol açar. Reperfüzyonun, iskemik hasara göre daha fazla toksik ürün oluşturduğu ve bu nedenle iskeminin neden olduğundan daha fazla doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir. (Mangino ve diğ. 1989, Collard ve Gelman 2001).

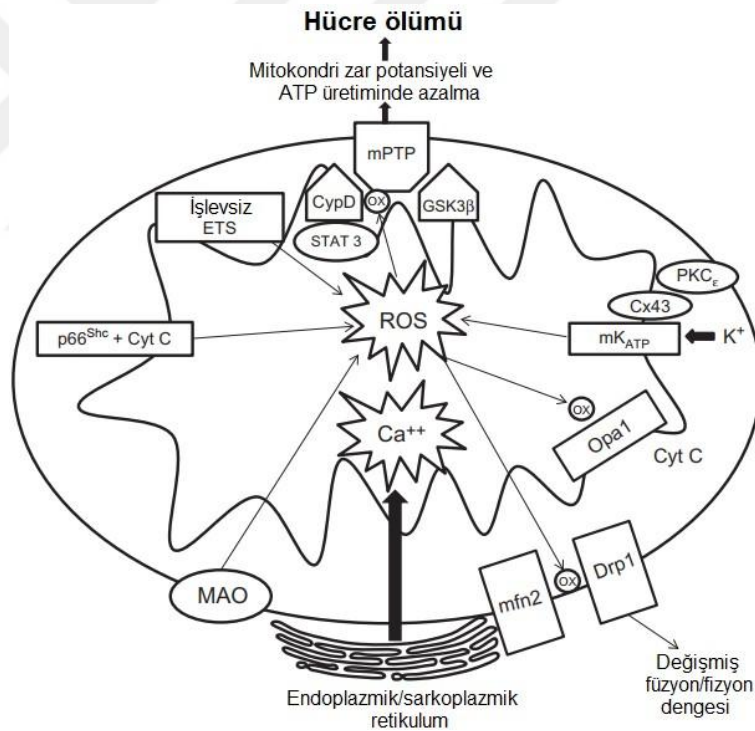
### **2.3.İskemi-Reperfüzyon Hasarı (IRH)**

İskemik dokuların reperfüzyonundan sonra oluşan hücrel hasar, IRH olarak adlandırılmaktadır. İskemi-reperfüzyon (IR) sadece doğrudan iskemiye maruz kalmış organların hasarlanmasına yol açmaz aynı zamanda akciğerler dâhil, iskemik bölgenin dışındaki, iskemiye maruz kalmamış uzaktaki organların da hasarlanma riski ile karşı karşıya kalmasına neden olabilir. (Stefanutti ve diğ. 2005; Suetsugu ve diğ. 2005; Guner ve diğ. 2014). IRH yaygın olarak şok, doku ve organ nakli, miyokard enfarktüsü, inme, belirli enfeksiyonlar ve arter hastalığı ve travma gibi koşullarda meydana gelebilir. IRH'nin tetiklediği yoğun enflamasyon, ilk iskemik hasarda etkilenmemiş olan organlarda enflamatuvar hasarı hızlandırabilir. IRH'nin bu uzak etkileri çoğunlukla akciğerlerde ve kardiyovasküler sistemde gözlenir ve üçüncü basamak yoğun bakım ünitelerine gönderilen hastalarda sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna (SIRS) veya çoklu organ işlev bozukluğu sendromuna (MODS) neden olabilir. SIRS ve MODS, durumu kritik olan hastaların %30-40'nın ölüm nedenidir. (Neary ve Redmond 1999). SIRS, MODS'un ilerlemesinde ilk adımdır ve büyük ölçüde sitokinlerin aracılık ettiği enflamatuvar yolların aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. (Bown ve diğ. 2001; Narwood ve diğ. 2004; Soares ve diğ. 2019). Ayrıca IR sonrası sıklıkla karşılaşılan AAH ve akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) hastalık ve ölüm oranının yaygın sebeplerinden biridir. (Johnson ve Matthay 2010). AAH ve ARDS'de, damar dışına sıvı ve protein çıkışı, lökosit birikmesi ve pulmoner kapiller endotel hücre hasarı histolojik olarak gösterilmiştir. (Schmeling ve diğ.1989; Welbourn ve diğ. 1991; Gerkin ve diğ. 1993; Singleton ve Lennon 2011).

### **2.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Mekanizması**

Dokuya arteriyel kan akımının engellenmesi hipoksiye neden olurken aynı zamanda mitokondrilerde elektron taşıma zincirinin işlevinin bozulmasına da neden olur. Mitokondride ATP üretiminin azalması ile birlikte anaerobik metabolizma aktif

hale gelir. (Wu ve diğ. 2018). Oksidatif fosforilasyonun azalmasına bağlı olarak ATP üretiminin azalması ROS üretiminde artışa neden olur. Mitokondriler hem ROS üretimine katılırlar hem de ROS'un hedeflerinden biridirler. Mitokondriyel hasarın büyük bir kısmı reperfüzyon sırasında gerçekleşir. Birçok organda O<sub>2</sub> eksikliği, elektron alıcılarında eksiklik, oksidatif fosforilasyonun ve ATP üretiminin sona ermesi anlamına gelir. ATP'nin hızla tükenmesi mitokondri zar potansiyelinin azalmasına ve Ca<sup>++</sup>'un mitokondrilere geçişine neden olarak apoptotik sürecin tetiklenmesine yol açar. ROS, mitokondrinin dış zarının geçirgenliğini artırarak *sitokrom c* gibi, çeşitli mitokondriyal moleküllerin serbestleşmesine neden olur. *Sitokrom c*, apoptozda önemli bir rol oynayan kaspaz proteazların ve apoptotik yolların aktivasyonuna neden olur. (Porter ve Janicke 1999; Den Hengst ve diğ. 2010). (Şekil 2.1).

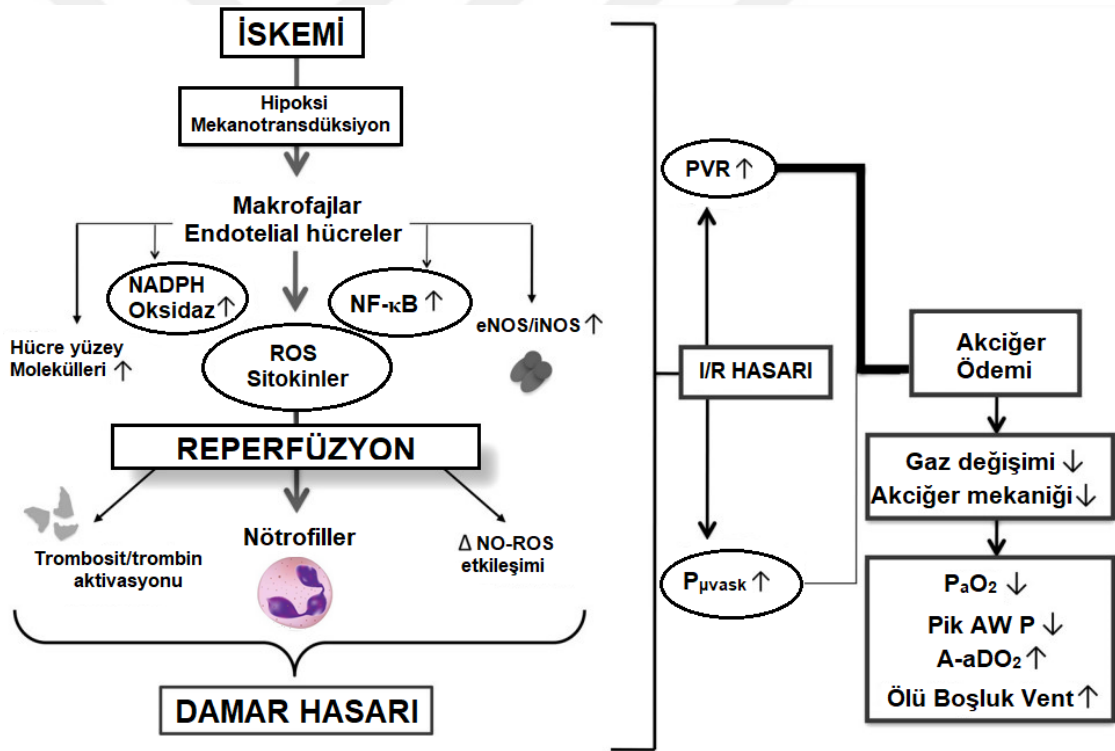


**Şekil 2.1.** İskemi-reperfüzyon hasarında mitokondrinin rolü. (Kalogeris ve diğ. 2012).

İskemi nedeniyle ATP üretiminin azalması ayrıca sitokinler, yapışma molekülleri ve vazoaktif ajanlar (endotelin ve tromboksan-A2) dâhil, çeşitli maddelerin üretiminde artışa, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz pompalarının işlevinin bozulmasına ve

ribozomların ayrılmasına ve  $Ca^{++}$  homeostazında düzensizliklereneden olur. Ayrıca hücrede laktik asit birikimine bağlı olarak metabolik asidoz meydana gelir. (Jaeschke 2003; de Groot ve Rauen 2007).

İskemi sırasında, makrofajlar ve endotelial hücreler ROS üretir ve NADPH, nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), nitrik oksit sentazlar (NOS) ve hücre yüzey moleküllerinin üretilmesine neden olur. Reperfüzyon sırasında, ROS ve sitokinler nötrofilleri aktive eder. Bunlar, trombositler ve nitrik oksit (NO) sinyal yollarıyla birlikte, pulmoner vasküler direnç (PVR) ve mikrovasküler geçirgenlik ( $P_{\mu\text{vask}}$ ) artışı gibi IR kaynaklı vasküler hasara neden olur. PVR, akciğerde ödem gelişimine geçirgenlikteki artıştan çok daha fazla katkıda bulunur. Tüm bu sürecin sonunda akciğerlerde işlev kaybı gerçekleşir. (Den Hengst ve diğ. 2010). (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Akciğerde iskemi-reperfüzyon hasarında fizyopatolojik değişiklikler. (Den Hengst ve diğ. 2010).

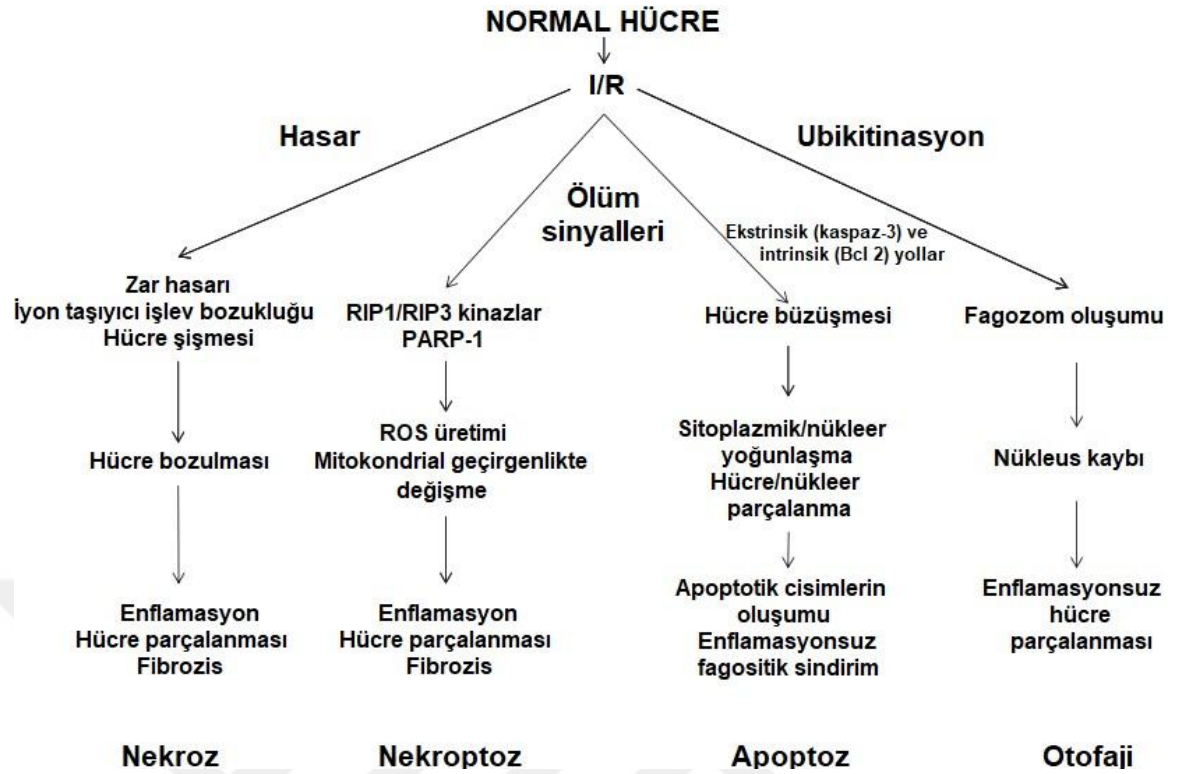
#### 2.4.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, prooksidanların antioksidanlara göre daha baskın olduğu prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. (Teoh ve Farrel

2003). Oksidatif stres süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi ROS'ların oluşumu ile karakteristiktir. Bu moleküller, özellikle de hidroksil radikali son derece kararsızdır ve genellikle hücre zarının lipit bileşeni olmak üzere, ilk karşılaştıkları yapı ile reaksiyona girerler. Lipit peroksidasyonunun neden olduğu hücre hasarı, hücre zarı geçirgenlik artışından hücre yıkımına kadar uzanabilir. (de Perrot ve diğ. 2003). Hücre içi ROS, başta mitokondriler olmak üzere endotel hücreler, Tip II alveolar epitel hücreler, Clara hücreleri gibi çoğunlukla akciğerlerin parankimal hücrelerinde ve alveolar makrofajların yanı sıra silli havayolu epitel hücrelerinde de üretilmektedir. (Teoh ve Farrel 2003; de Perrot ve diğ. 2003).

ROS-aracılı hücresel hasar reperfüzyon sırasında dokuya O<sub>2</sub> sağlanması ile oluşan serbest radikal miktarı akciğerlerin hücresel zehirsizleştirme kapasitesini aştığında meydana gelir. (Singh ve diğ. 2005). Reperfüzyon sonrası erken dönemde ROS ve nitrik oksit (NO) üretiminde önce artış ve sonra azalma şeklinde büyük değişiklikler gözlenir. (Carden ve Granger 2000). Yüksek konsantrasyonlarda NO, peroksinitrit ve diğer nitrojen türleri oluşturmak için ROS ile reaksiyona girer. (Den Hengst ve diğ. 2010). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi endojen antioksidan enzimler hücreleri ROS'un zararlı etkilerinden korur. Bu enzimlerin ölçülmesi IR hasarı sırasında oluşan oksidatif stresin büyüklüğünü belirtir. (Singh ve diğ. 2005; Yaman ve diğ.2019). ROS ve ROS-aracılı lipid peroksidasyonun IR ve komplikasyonlarının patogeneğinde önemli rol oynadığı gösterilmiş ve malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyon hızının bir göstergesi olarak kullanılmıştır. (Yaman ve diğ. 2019). Lipit peroksidasyon hücresel hasarı ve enflamasyonu daha da şiddetlendirmektedir. (dePerrot ve diğ. 2003).

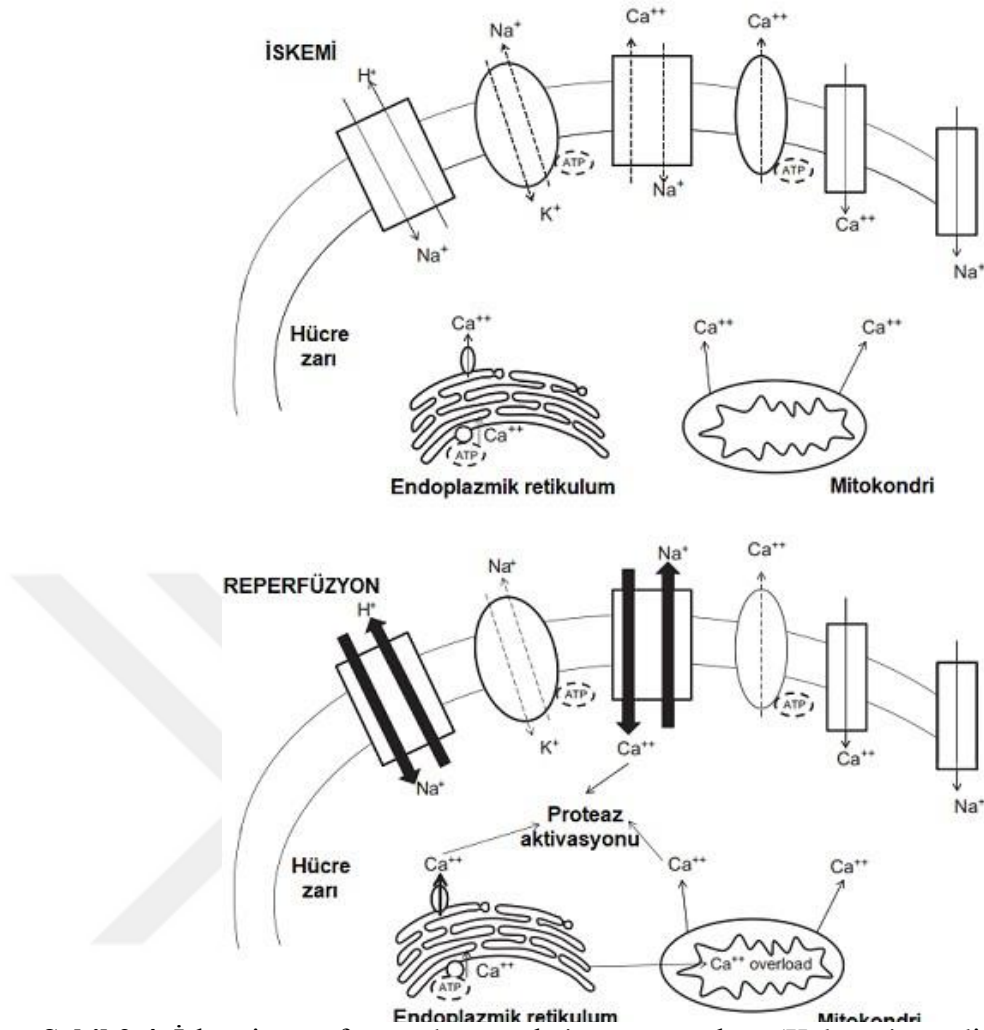
Oksidatif stres gibi çok çeşitli uyarılar, farklı sinyal yolları tarafından düzenlenen endotel hücre apoptozuna ve endotelde işlev bozukluğuna neden olabilir. (de Nigris ve diğ. 2003). Proinflamatuvar yanıt ve apoptoz şeklinde hücre ölümü IRH'nin patogeneğine katılan iki önemli yoldur. (Barkett ve Gilmore 1999; Ross ve diğ. 2000). (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Doku hasarının iskemi ve reperfüzyon bileşenlerine katılan başlıca patolojik olayları. (Kalogeris ve diğ. 2012).

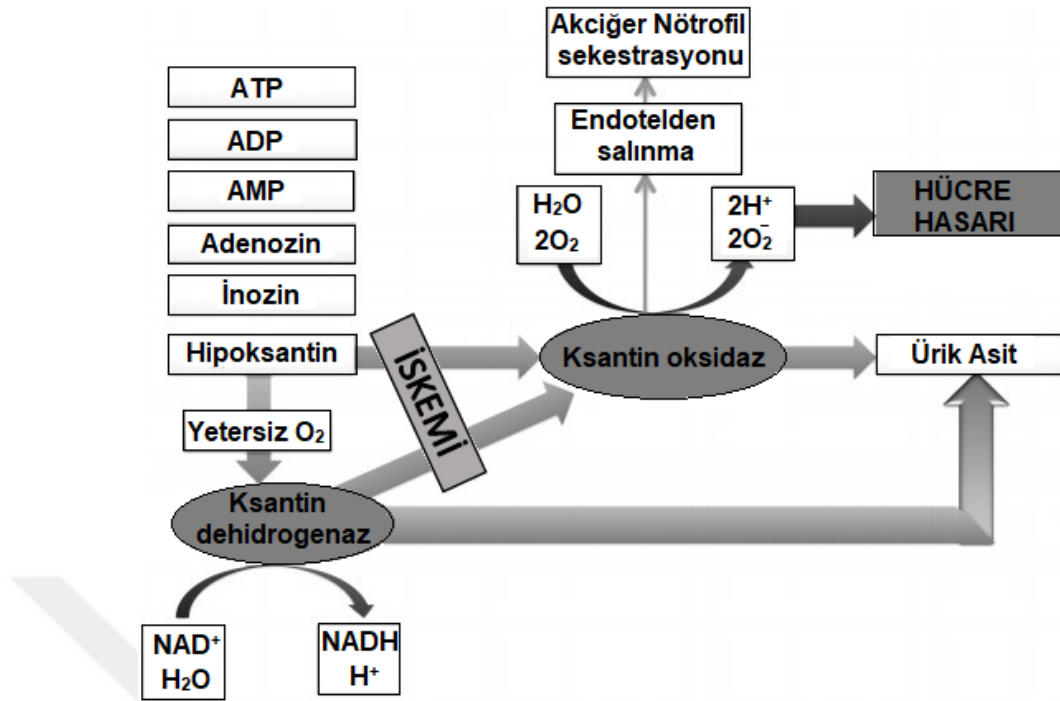
#### 2.4.2. Hücre Zarı İyon Pompaları

İskemi sırasında dokuya kan akımının engellenmesi, şekil 2.4’de gösterildiği gibi hücre yüzeyindeki  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz ve  $\text{Ca}^{++}$ -ATPaz pompalarının bozulmasına neden olabilir. (Wu ve diğ. 2018).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz pompası hücre içi elektrolit derişiminin korunması (yüksek  $\text{K}^+$  ve düşük  $\text{Na}^+$ ) ve alveolar sıvının etkin bir şekilde uzaklaştırılması için son derece önemlidir. (dePerrot ve diğ 2003).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz pompasının bozulması hücrelerde  $\text{Na}^+$  birikimine neden olurken  $\text{K}^+$ ’un hücrelerden çıkışına neden olur. Hücre içinde  $\text{Na}^+$  seviyesinin artması  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  pompalarının aktivitesini azaltır.  $\text{Ca}^{++}$ -ATPaz pompasının bozulması hem endoplazmik retikulum gibi hücre içi depolardan hem de hücre zarından  $\text{Ca}^{++}$  geçişine neden olur ve geri alım mekanizması bozulduğu için hücre içinde  $\text{Ca}^{++}$  birikir. (Wu ve diğ. 2018). pH ve hücre içi  $\text{Ca}^{++}$  derişimindeki değişiklik hücrel hasara neden olan birçok hücre içi süreci tetikler. (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4.** İskemi-reperfüzyon hasarında iyon pompaları. (Kalogeris ve diğ. 2012).

Yüksek hücre içi  $\text{Ca}^{++}$  ayrıca ksantin dehidrogenazın ksantinoksidaza (XO) dönüşümünü artırabilir ve serbest radikallerin mitokondri üzerindeki zararlı etkisini kuvvetlendirebilir. (de Perrot ve diğ. 2003). Elektron alıcısı olarak nikotinamid adenin dinükleotide (NAD) ihtiyaç duyan ksantin dehidrogenaz, endotelde ve tip II alveoler hücrelerde iskemi meydana geldiğinde XO'ya dönüştürülür. XO hipoksantini önce ksantine, ardından oksijen radikali kaynağı olarak kullanılacak olan ürik aside okside eder. Hipoksantin, adenosin trifosfat (ATP) ve adenosin monofosfat (AMP) gibi yüksek enerjili nükleotitlerin parçalanmasındaki son moleküldür. XO tarafından üretilen radikaller endotel hücresine zarar verir. Serbest radikaller endotel hücrelerinden salındığında, XO akciğerlerde nötrofillerin birikimi sürecinde görev alan bir faktördür ve daha fazla IR hasarına yol açar. (Den Hengst ve diğ 2010). (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Akciğerlerde ksantin oksidaz bağımlı süperoksit oluşumu. (Den Hengst ve diğ. 2010).

Hücrelerde  $H^+$ ,  $Na^+$  ve  $Ca^{++}$  birikmesi hücre içinde ozmolarite artışına neden olur. Hücre içinde ozmolarite artışı sitoplazmaya su geçişine ve hücre şişmesine yol açar. Hücrede  $H^+$  birikimi hücre pH'yı düşürür, enzim aktivitesinin bozulmasına ve nükleer kromatinin kümeleşmesine neden olur. Ribozomların ayrılması protein sentezini azaltır. Reperfüzyonun başlaması ile birlikte kan akımının yeniden oluşturulması, iskemik dokunun oksijenlenmesine neden olur. İskemik dokunun reperfüzyonuna paralel olarak, iskemiye maruz kalan hücrelerde antioksidatif kapasite düşük olduğu için dokunun yeniden oksijenlenmesi, ROS oluşumunda artışa neden olur. (Wu ve diğ.2018).

### 2.4.3. Sitokinler

Sitokinler düşük molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir ve öncelikle bağışıklık hücreleri tarafından üretilirler ve bağışıklık sistemi yanıtlarının ve hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesinden sorumludurlar. Ayrıca fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotel hücreleri tarafından da üretilmektedirler. Sitokinlerin büyük bir çoğunluğu etkisini parakrin ve otokrin tarzda gösterir. Aşırı üretilmeleri ve sistemik dolaşıma taşınmaları halinde SIRS ve MODS'a neden olmaktadır. (Bown ve diğ 2001).

IR'nin neden olduğu akciğer hasarı, aktive olmuş lökosit infiltrasyonu (sızması), artmış oksidatif stres, mikrovasküler geçirgenlik ve sistemik enflamatuvar yanıt ile karakterizedir. (Pararajasingam ve diğ. 2000; de Perrot ve diğ. 2003; Den Hengst 2010). Bu hasara lenfositler, pulmoner arteriyel endotel hücreleri, alveolar makrofajlar ve pulmoner alveoler Tip II hücreleri aracılık etmektedir. (Fehrenbach 2001). Tip II alveoler hücreler, uygun koşullar altında uyarıldıklarında çeşitli sitokin ve kemokinleri salgılar. (Crestani ve diğ. 1994). Sitokinler, enflamatuvar yanıtın hem başlatılması hem de sürdürülmesinin yanı sıra, şiddetini ayarlayarak IRH'de önemli bir rol oynamaktadır. (Dwivedi ve diğ. 2007).

Akciğerlerin IR'si sırasında trombin, kompleman (başlıca C3 ve C5a), PAF (trombosit aktive edici faktör), vazokonstriktif ve vazodilatatör araşidonik asit türevli araçılar, nükleer faktör-kappa B (NF-κB) ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörleri ve TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10 ve IL-18 gibi anti-enflamatuvar ve pro-enflamatuvar sitokinler hızlı bir şekilde salınır. IRH'de tüm bu araçıların çok karmaşık ve birbirleri ile ilişkili görevleri bulunur ve farklı koşullardan etkilenirler. Bu sitokinler ve kemokinler, yapışma moleküllerinin artışına, endotel hücrelerinin aktivasyonuna, damar düz kası hücrelerinin hem kasılmasına hem de gevşemesine neden olarak, damar çapına ve enflamasyon bölgesine lökositlerin göçüne neden olmaktadırlar. (Den Hengst ve diğ. 2010).

#### **2.4.4. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)**

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko içeren endopeptidazlardır. Tüm MMP'lerin ortak özellikleri; HDM proteinlerini parçalarlar, aktif bölgelerinde çinko (Zn<sup>++</sup>) içerirler ve kararlı halde olmaları için Ca<sup>++</sup> gerekir ve sadece nötral pH'da fonksiyon yaparlar. Membran tipi (MT)-MMP'ler hariç, tüm MMP'ler öncül molekül şeklinde salgılanırlar ve salgılandıktan sonra hücre dışı boşlukta aktive olurlar. MMP'ler, birkaç alt sınıfa ayrılır: kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13), jelatinazlar (MMP-2, MMP-9), stromelinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11), matrilisin (MMP-7), elastaz (MMP-12) ve MT-MMP'ler (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17). (Chakrabarti ve Patel 2005).

Yapısal olarak MMP-2 üreten endotel hücreleri dışında, akciğerdeki hücreler normalde jelatinaz üretmezler. Ancak enfeksiyonlar ve enflamatuvar hastalıklar sırasında, bronşiyalepitel hücreleri, Clara hücreleri, alveoler tip II hücreler, düz kas

hücreleri ve fibroblastların tümü MMP-9 üretebilir. Hem nötrofiller hem de eozinofiller yapısal olarak MMP-9 üretirken makrofajlar, mast hücreleri ve lenfositler enflamatuvar koşullar altında MMP-9 salgılar. (Atkinson ve Senior 2003).

HDM, çeşitli glikoproteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanların yanı sıra kollajen ve elastin gibi protein bileşenlerinden oluşan karmaşık bir yapıdır. HDM, akciğer dâhil çeşitli organlarda yapısal destek sağlamak için gereklidir. HDM'nin bütünlüğü, protein biriktirme ve bozunumu arasındaki dinamik denge ile korunur. MMP'lerin temel özelliği, HDM'nin proteinlerini parçalama yetenekleridir. Hem MMP-2 hem de MMP-9, jelatin, tip IV ve tip V kollajenler, ELN ve vitronektin dâhil olmak üzere çok çeşitli matriks proteinlerini metabolize eder. (Opdenakker ve diğ. 2001). HDM'nin MMP'ler tarafından bozulması hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda meydana gelir, büyüme ve gelişme, vaskülarizasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi gibi süreçleri düzenler. (Chakrabarti ve Patel 2005). MMP-9'un aşırı üretilmesi, pro-enflamatuvar sitokinlerin ve mikrovasküler geçirgenlik artışı ile uyumlu olan önemli bir faktördür. (Yano ve diğ. 2001). IR sırasında aktive olmuş nötrofillerden salınan MMP'ler ve miyeloperoksidaz gibi proteolitik enzimler, akciğer hasarının önemli belirteçleridir. (Ng ve diğ. 2006). Akciğerlerin geçirgenlik bariyerinin bütünlüğü, sağlam endotel hücre-hücre etkileşimine ve HDM'ye yapışma yeteneğine bağlıdır. Akciğerin bariyer fonksiyonu, MMP'ler gibi akciğer dokusundan kaynaklanan çeşitli enzimler veya nötrofil elastaz gibi lökosit istilasından kaynaklanan enzimler tarafından, hücrenin yapışma yapılarındaki gerekli bileşenlerin (sıkı bağlantılar, adherens bağlantılar ve desmozomlar) enzimatik parçalanması sonucu bozulabilir. (Cummins ve diğ. 2006; Cauwe ve diğ. 2007). MMP'ler ayrıca geniş bir dizi HDM-bağlı sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörlerinin serbestleşmesine ve aktivasyonuna da aracı olur. (Van Lint ve Libert 2007; Manicone ve McGuire 2008).

IRH sonrasında akciğer dokusunda BAL sıvısında MMP-9 seviyelerinin ve aktivitelerinin anlamlı olarak arttığı ve MMP seviyeleri ile akciğerlerin mikrovasküler damar yatağındaki geçirgenlik arasında pozitif bir uyum olduğu gösterilmiştir. (Soccal ve diğ. 2000; Waldow ve diğ. 2009; Yaman ve diğ. 2019). Bütün bu etkiler alveolar-kapiller zarı hasarlayarak, PVR ve  $P_{\mu\text{vask}}$ 'de artış ve akciğer

ödemi oluşturarak, şiddetli ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğu ile gaz değişim bozukluklarına neden olurlar. (Ng ve diğ. 2006; Chen ve diğ. 2010).

#### **2.4.5. Elastin**

Elastin (ELN), büyük çaplı arterler, kalp kapakçıkları, akciğer dokusu, deri ve belirli bağlar ve kıkırdaklar gibi tekrar tekrar şekil değiştirme özelliği olmak zorunda olan, insan dâhil birçok omurgalı dokusunu çevreleyen, esneklik ve elastik geri çekilmeden sorumlu HDM proteindir. Enzimatik olarak çapraz bağlı tropoelastin monomerleri ve mikrofibriler proteinlerin ürünleri olan elastik lifler, çözünmeyen polimerize ELN çekirdeğinden ve periferinde yer alan mikro liflerden oluşur. Elastik lif ağları, normal fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesinde, esneklik kazandırılmasında ve doku ve organlara geri çekilmesinde önemli bir rol oynar. (Wang ve diğ. 2021).

Akciğerlerde elastin lifleri, solunum sırasında alveollerin genişlemesini ve geri çekilmesini desteklemek için solunum ağacı boyunca ince, çok dallı bir ağ oluşturur. Aort ve arterlerde, ELN lifleri medial tabakada bulunur ve damar duvarlarına esneklik ve dayanıklılık veren ortak merkezli pencereci lameller oluşturur. (Kielty ve diğ. 2002). Kapsamlı çapraz bağlı yapıları sayesinde yaklaşık 70 yıllık bir yarılanma ömrü ile sağlıklı dokularda yavaşça parçalanmış uzun ömürlü bir proteindir. (Wang ve diğ. 2021). Bununla birlikte, MMP'ler ve serin proteazlar gibi çeşitli proteazlar, mikrofibrillere ve ELN'ye zarar vererek ELN liflerini parçalayabilir ve bu da elastikiyet kaybına neden olur. Bu elastikiyet kaybı, vasküler anevrizmalar ve amfizem ile birlikte kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) dâhil, bir dizi dejeneratif ve enflamatuvar hastalığın patolojik özelliğidir. Patolojik koşullarda artan ELN yıkımı, vücut sıvılarında ELN içeriğinde azalma veya ELN'nin parçalanmasından sonra oluşan ELN yıkım ürünlerinin salınmasıyla tespit edilebilmektedir. (Jacob ve diğ. 1992; Dillon ve diğ. 1992; Schriver ve diğ. 1992; Kielty ve diğ. 1994; Ashworth ve diğ. 1999; Petersen ve diğ. 2001; Ayala ve diğ. 2018).

#### **2.5. Traneksamik Asit**

Travma, kanama ve resusitasyon, çoklu organ yetmezliği (MOF), AAH, koagülopati ve abartılı enflamatuvar yanıt nedeniyle yüksek ölüm oranı ve hastalık

ile sonuçlanabilmektedir. (Brohi ve diğ. 2003; Hirsiger ve diğ. 2012; Pidcoke ve diğ. 2012; Darlington ve diğ. 2015). AAH'da akciğerlerin bariyer işlevinin kaybolması nedeniyle makrofajların, monositlerin ve trombositlerin akciğerlere sızdığı bilinmektedir. (Wudiğ. 2016). Doğal bağışıklık hücrelerinin akciğerlere sızması, matriks proteinlerini parçalayan ve akciğer endotel fonksiyonunu bozan enflamatuar sitokinlerin, miyeloperoksidaz ve proteazların salınmasını içeren bir dizi biyokimyasal olayı başlatır. Doğal bağışıklık hücreleri proteolitik enzimler (metalloproteazlar, katepsinler ve plazmin) salgılar. Bu enzimler, HDM'yi parçalar ve yeniden biçimlendirir; HDM'nin parçalanması bağışıklık hücrelerinin göçüne ve sızmasına olanak sağlar. (Hopps ve Caimi 2012). Plazminojen/plazmin doğal bağışıklık hücrelerine bağlanır ve bu hücrelerin göçünün gerçekleşebilmesi için HDM'yi yeniden şekillendirip düzenler. Plazminojen, lökositlerde  $\alpha$ -enolaz'a veya plazminojen reseptörüne bağlanabilir. (Diaz-Ramos ve diğ. 2012; Miles ve diğ. 2012). Plazminojen, ürokinaz tip plazminojen aktivatör (uPA) reseptörü ve uPA'ya yakın olduğunda aktif formu plazmine dönüştürülebilir. Plazmin, HDM'yi doğrudan yeniden şekillendirebilen ve aynı zamanda metalloproteaz öncüllerini aktif formlarına dönüştürebilen bir serin proteazdır. (Hopps ve Caimi 2012). Plazmin ayrıca kompleman C5'i, C5a'ya dönüştürür. (Foley ve diğ. 2016). C5a, şiddetli alveolar-kapiller bariyerin fonksiyonun bozulmasına neden olan lökositlerin toplanması ve ayrılması ile ilişkilidir. (Russkamp ve diğ. 2015).

Traneksamik asit (TXA), tripsinojen ve plazminojen dâhil, serin proteazlar üzerindeki lizin bağlanma bölgelerini bloke eden bir lizin türevidir. (McCormack 2012). TXA kanamayı durdurmak için antifibrinolitik ajan olarak kullanılmaktadır. (Tengborn ve diğ. 2015). IR'de sistemik enflamasyonun geliştiği uzun yıllardır bilinmektedir. (Neary ve Redmond 1999). Fibrinolizin sistemik enflamasyonun başlangıcı için bir belirteç olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. (Cvachovec ve diğ. 2000). Ryniak ve diğ. (2014)'nin yayımladıkları bir çalışmada antifibrinolitik ajan TXA'nın travma geçirmiş bir hastada ventilatör mekaniği belirgin bir şekilde iyileştirdiği ve kan transfüzyonundan sonra AAH'da iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir. TXA'nın akciğer dokusuna lökosit ve trombosit sızmasını ve akciğerlerin bariyer fonksiyon kaybını azaltarak AAH gelişimini azaltabileceği ileri sürülmüştür. (Wu ve diğ. 2017).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hayvanlar

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları  $312 \pm 7,6$  g olan 21 adet erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Hayvanlar Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (Tarım ve Orman Bakanlığı) tarafından 13 Aralık 2011 tarihli Resmî Gazetede yayımlanan, Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik kurallarına uygun olarak, aydınlık-karanlık döngüsü (12 saat) ve sıcaklık ( $23 \pm 1$  °C) kontrollü bir odada, yiyecek ve suya serbestçe erişimlerine olanak sağlanan kafeslerde barındırıldı. Tüm deney protokolleri, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 07 Mart 2022 tarihli toplantısında T2022-858 sayılı karar ile onaylandıktan sonra gerçekleştirildi.

#### 3.2. Deneyin Tasarımı

Sıçanlar kontrol (Sham), iskemi-reperfüzyon (IR) ve traneksamik asit+iskemi reperfüzyon grubu (TXA+IR) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı (her grupta yedi adet sıçan;  $n=7$ ).

**Kontrol (Sham Grubu) ( $n=7$ ):** Laparotomi ve infrarenal abdominal aorta (IAA) diseksiyonu uygulandıktan sonra insizyon yeri kapatıldı, ancak IR uygulanmadı.

**İskemi-reperfüzyon (IR) Grubu ( $n=7$ ):** Laparotomi ve IAA diseksiyonu uygulandıktan sonra, IAA'ya mikrovasküler klemp yerleştirilerek 60 dakika oklüzyon sağlandı ve süre bitiminde batın tekrar açıldı ve IAA'daki mikrovasküler klemp uzaklaştırılarak 120 dakika reperfüzyon gerçekleştirildi.

**Traneksamik asit (TXA)+IR Grubu ( $n=7$ ):** İskemiden 30 dakika önce sıçanlara intravenöz olarak ilk doz traneksamik asit (Haver Pharma İlaç A.Ş. İstanbul-Türkiye, yarılanma ömrü 120 dk.) 50 mg/kg olarak verildi. (Ho ve Ismail 2003). Otuz dakikalık sürenin sonunda laparotomi ve IAA diseksiyonunu yapıldıktan sonra, IAA'ya mikrovasküler klemp yerleştirilerek 60 dakika oklüzyon sağlandı ve reperfüzyona başlamadan 15 dakika önce ikinci doz traksenamik asit (50 mg/kg) verildi ve süre bitiminde batın tekrar açılarak ve IAA'daki mikrovasküler klemp kaldırıldı 120 dakika reperfüzyon sağlandı.

### 3.3. Cerrahi Yöntem

Tüm sıçanlara tiopental sodyum (Pental Sodyum Flakon, İ.E. ULAGAY, İstanbul, Türkiye) (60 mg/kg, intraperitoneal; i.p) verilerek anestezi edildi. (Guner ve diğ. 2014). Anesteziyi takiben sıçanlar bir ısıtma levhası üzerinde sırtüstü pozisyonda yatırılarak tüm deney boyunca vücut ısılarının  $37\pm 0.5$  °C'de sabit kalması sağlandı. Gerekliğinde, ilave anestetik ve sıvı kayıplarına karşı serum fizyolojik vermek için lateral kuyruk veni kanüle edildi. Trakeotomiye takiben trakeasına 14 kalibrelik kateter yerleştirildi ve hayvanların spontan solunum yapmalarına olanak sağlandı. Deney süresince kan basıncı takibi yapabilmek amacıyla sıçanların sağ karotis arterine kanül (24G) yerleştirildi. Kan basıncı, karotis arterindeki kanüle bağlı bir transdüser (SS13L, BSL Pressure Transducer, Biopack Systems, USA) aracılığı ile bilgisayarlı sistem (MP36, Biopack Systems, USA) kullanılarak kaydedildi. Deney süresince oluşabilecek pıhtılaşmaları önlemek amacıyla, serum fizyolojik ile sulandırılmış ve toplam hacmi 500 µL olacak şekilde, 50 U/kg heparin (Nevparin; Mustafa Nevzat İlaç Şirketi, İstanbul, Türkiye) lateral kuyruk veninden intravenöz olarak verildi. Daha sonra batin bölgesinde cilt aseptik olarak hazırlandı ve orta hatta laparotomi yapıldı.

Abdominal aorta, bağırsaklar hafifçe sola ya da sağa çekilerek açığa çıkarıldı. Abdominal aortanın infrarenal segmentinin ince izolasyonundan sonra, iskemi sürecini başlatmak üzere IAA'ya travmaya yaratmayan mikrovasküler bir klemp (vascu-statts II, midistraight 1001-532; ScanlanInt. St Paul, MN, ABD) yerleştirildi. Abdomen bölgesi kapatılmadan hemen önce deney süresince hayvandan sıvı kaybını önlemek için periton boşluğuna 10 mL serum fizyolojik ilave edildi ve daha sonra abdomen bölgesi cerrahi iplikle dikilerek kapatıldı. Abdomende insizyon bölgesinin kurummasını önlemek için, bu bölge tüm deney süresince serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bezle örtüldü. İskemi sürecini sonlandırmak üzere IAA'ya yerleştirilmiş olan mikrovasküler klemp 60 dakika sonra uzaklaştırıldı ve 120 dakika sürecek olan reperfüzyon süreci başlatıldı.

Aortik oklüzyon ve reperfüzyon, distal aortta tatmin edici nabzın kaybı ve yeniden ortaya çıkmasıyla doğrulandı. Sistemik arteriyel kan basınçları kaydındaki değişiklikler de bu yöntemi doğruladı.

Reperfüzyon süresinin bitiminden hemen sonra akciğerlerden BALS ve kan serumu örnekleri için karotis arterinden kan örnekleri alındı. Deneyin sonunda hayvanlara lateral kuyruk veninden intravenöz (i.v.) olarak yüksek doz anestezi madde (pentobarbital sodyum, 150 mg/kg) verilerek ötenazi uygulandı. Daha sonra akciğerler derhal çıkarıldı ve %0,9'luk serum fizyolojik ile yıkandı. Sol akciğerin dış yarısı histolojik değerlendirme için formaldehitte saklandı. Sağ akciğerin alt lobu, akciğerin yaş/kuru (W/D) oranını belirlemek için kullanıldı. Akciğerlerin geri kalan kısımları ve serum örnekleri -20 °C'de saklandı. Tüm örneklerde matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve elastin seviyeleri hazır kitler kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü.

### **3.4. Yaş/Kuru Ağırlık Oranı**

Akciğer ödeminin göstergesi olarak yaş/kuru (W/D) ağırlık oranları hesaplandı. Her sıçanın sağ akciğerin alt lobu çıkarıldı, serum fizyolojik içinde yıkandı ve ardından yaş ağırlığı belirlemek üzere tartıldı. Akciğerler daha sonra 60°C'ye ayarlanmış etüvde 24 saat kurutuldu ve kuru ağırlığı elde etmek için yeniden tartıldı. W/D oranları ıslak ağırlığın kuru ağırlığa bölünmesiyle hesaplandı.

### **3.5. Histolojik Değerlendirme**

Histolojik değerlendirme için akciğer dokuları diseke edildi, %10 nötr formalinde sabitlendi, parafin içine gömüldü ve ardından 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler slaytlara yerleştirildi, ardından ksilen içinde deparafinize edildi ve dereceli alkolde yeniden hidrate edildi. Slaytlar, histolojik değerlendirme için ve standart protokoller kullanılarak genel doku morfolojisini saptamak için hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyandı. Slaytlar ışık mikroskobu (Olympus CX41, Tokyo, Japonya) altında incelenerek fotoğrafları çekildi. Doku hasarı, Kandilci ve diğ. (2006) ve Pirat ve diğ. (2006)'dan modifiye edilen skorlama sistemine göre patolog tarafından değerlendirildi ve puanlandı. Puanlama şu şekilde derecelendirildi: skor 0 (sıfır); %0 tutulumu, skor 1; %1-25 tutulumu, skor 2; %26-50 tutulumu, skor 3; %51-75'i tutulumu ve skor 4; %75-100 tutulumu göstermektedir. Akciğer hasarı için beş parametre (interstisyel ödem/infiltrasyon, intra-alveoler ödem/infiltrasyon, intra-alveoler kanama, kapiller konjesyon ve hava yolu epitel hücre hasarı) değerlendirildi ve toplam akciğer hasarı skoru hesaplandı (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Histolojik skorlama sistemi

Parametre	Skorlar				
	4	3	2	1	0
İnterstisyel ödem/infiltrasyon	%75-100 tutulum	%51-75 tutulum	%26-50 tutulum	%1-25 tutulum	%0 tutulum
İntraalveolar ödem/infiltrasyon	%75-100 tutulum	%51-75 tutulum	%26-50 tutulum	%1-25 tutulum	%0 tutulum
İntraalveolar kanama	%75-100 tutulum	%51-75 tutulum	%26-50 tutulum	%1-25 tutulum	%0 tutulum
Kapiller konjestion	%75-100 tutulum	%51-75 tutulum	%26-50 tutulum	%1-25 tutulum	%0 tutulum
Hava yolu epiteli hücre hasarı	%75-100 tutulum	%51-75 tutulum	%26-50 tutulum	%1-25 tutulum	%0 tutulum

### 3.6. Biyokimyasal Ölçümler

#### 3.6.1. Kan Serum Eldesi

Sıçanlardan jelli tüpe alınan kan örnekleri serum elde etmek amacıyla 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hettich, UNIVERSAL 320R model soğutmalı santrifüj) edildi. Elde edilen serum örnekleri mikrosantrifüj tüplere ayrıldıktan sonra derin dondurucuda (-20 °C) çalışma gününe kadar saklandı. Serum örnekleri çalışma günü oda ısısına getirildikten sonra analiz edildi.

#### 3.6.2. Bronkoalveolar Lavaj Sıvısı (BALS) Eldesi

Sol ana bronş kanüle edilerek emniyete alındı. 5 mL serum fizyolojik hızlı bir şekilde enjektör yardımı ile akciğerlere verildi ve verilen serum fizyolojik BALS örneği almak için yavaşça geri çekildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Sıvı geri kazanımı rutin olarak %90 veya daha fazlaydı. Bu sıvı 4000 rpm ve 4 °C 'de 10 dakika santrifüj (Hettich, UNIVERSAL 320R soğutmalı santrifüj, Germany) edildi. Süpernatant, biyokimyasal değerlendirmeler için analiz edilene kadar -20 °C 'de saklandı.

### 3.6.3. Akciğer Doku Örneği Homojenizasyonu

Sıçanlardan alınan akciğer doku örnekleri derin dondurucuda (-20 °C) çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü fosfat tampon çözeltisi (PBS pH 7,4) (HANNA, pHmeter, USA) hazırlandı. Dokulardaki kan kalıntıları bu tamponla yıkayıp temizlendikten sonra hassas terazide (Shimadzu Corporation, ATX224 hassas terazi, Japan) tartıldı ve miktarları kaydedildi. Tartılan tüm dokular 10 katı hacimlerindeki tampon çözelti içinde ve buzun üzerinde homojenize edildi (Yellow Line Homojenizatör, Thailand). Homojenatlar tüplere aktarıldı. Homojenat içeren tüplerin üzerleri yazıldı ve bu tüpler 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant ayrı bir tüpe aktarıldı ve homojenatlar hazırlandıkları gün hemen analiz edildi.

### 3.6.4. Kimyasallar

Traneksamik asit (Transamine %5, 5 mL, 250 mg, Haver Pharma İlaç A.Ş. İstanbul-Türkiye) eczaneden temin edildi ve kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında güneş görmeyen ortamda saklandı. Diğer tüm reaktifler (MMP-9 ve ELN ölçümünde kullanılacak olan kitler) 4 °C 'de saklandı. Reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığında dengelendi.

## 3.7. Elisa(ELISA)Yöntemi

### MMP-9 Çalışma Yöntemi

Serum, BALS ve doku örneklerindeki MMP-9 düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle ölçüldü. Bu ölçüm için 96 testlik Bioassay Technology Laboratory (Shangai Korain BiotechCo., Ltd. Shangai, China) markalı ticari ELISA kiti (Katalog No: E0321Ra) kullanıldı. Bu kitle sandviç ELISA prensiyle ölçüm yapıldı. Kit'in ölçüm aralığı: 0,05-10 ng/mL; Kit'in inter-assay CV (coefficient of variation)'si<%10.

**Analiz Prensi:** Stok standart kullanılarak seri dilüsyonla kitin ölçüm aralığındaki standartlar hazırlandı. Plaka üzerinde bulunan mikrokuyucuklar sıçan MMP-9'a spesifik antikorla kaplıdır. Örnekler ve standartlar bu mikrokuyucuklara eklendiğinde içlerinde bulunan MMP-9, bu spesifik antikora bağlanır. Sonra mikrokuyucuklara MMP-9'a spesifik biyotinli antikor eklenir ve bu biyotinli antikor örneklerdeki MMP-9'a bağlanır. Daha sonra Streptavidin-Horseradish Peroksidaz

(HRP) konjugatı mikrokuyucuğa eklenir ve bu konjugatın inkübasyonla biyotinli-MMP-9 antikoruna bağlanması sağlanır. İnkübasyon sonrası bağlanmayan maddeler yıkamayla uzaklaştırılır. Daha sonra substrat eklenir ve sadece MMP-9 bulunan kuyucuklarda mavi renk oluşumu gözlenir. Enzim substrat reaksiyonu asidik stop solüsyonun eklenmesiyle durdurulur ve sarı renk oluşumu gözlenir. Bütün kuyucukların optik dansiteleri 450 nm’de ölçülür. Standart eğrisi çizilir ve bu eğriye göre örneklerdeki MMP-9 konsantrasyonu hesaplanır. Optik dansite örneklerdeki MMP-9 konsantrasyonu ile orantılıdır.

**Analiz İçin Hazırlık Aşaması:** Kitin bileşenleri oda ısısına getirildikten sonra kullanıldı.

**Standartların Hazırlanması:** Standartların hazırlanmasında 12,8 ng/mL konsantrasyondaki stokstandartı ve standart dilüenti kullanıldı. Seri dilüsyon yapılarak 6,4, 3,2, 1,6, 0,8 ve 0,4 ng/mL konsantrasyondaki standartlar hazırlandı.

**Yıkama solüsyonunun hazırlanması:** 20 mL hacmindeki konsantre yıkama tamponu, distile suyla 25 kat dilüe edildi.

**Analiz Prosedürü:** Bütün reaktifler oda ısısına getirildikten sonra kullanıldı. Plaka üzerinde kör, standart ve örnek eklenecek kuyucukların yeri belirlendi. Standartlar seri dilüsyonla hazırlandı. Standart kuyucuklarına standart numunesinden 50 µL pipetlendi. Örnek kuyucuklarına her bir örnekten 40 µL pipetlendikten sonra sadece serum pipetlenen bu kuyucuklara 10 µL antikor eklendi. Daha sonra standart ve örnek pipetlenen tüm kuyucuklara (kör kuyucuk hariç) 50 µL streptavidin-HRP eklendi ve plaka üzeri bantla kapatıldı. Plaka iyice karıştırıldıktan sonra etüvde 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaka yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Bu yıkamada her bir kuyucuk 350 µL’lik yıkama solüsyonuyla yıkandı. Plaka ters çevrilerek kâğıt havlu üzerinde kurutuldu. Hemen tüm kuyucuklara sırasıyla 50’şer µL A ve B substrat solüsyonu eklendi. Derhal plaka üzeri bantla kapatıldı ve etüvde 37 °C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklar 450 nm’de derhal okundu. Okunan standart değerlerle standart eğrisi çizildi. Eğride “X” konsantrasyonu, “Y” ise absorbansı ifade etmektedir. Bu eğri kullanılarak örneklerdeki MMP-9 konsantrasyonu hesaplandı.

### **Elastin (ELN) Çalışma Yöntemi**

Serum, BALS ve doku örneklerindeki elastin düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle ölçüldü. Bu ölçüm için 96 testlik Bioassay Technology Laboratory (Shangai Korain Biotech Co., Ltd. Shangai, China) markalı ticari ELISA kiti (Katalog No: E1807 Ra) kullanıldı. Bu kitle sandviç ELISA prensiyle ölçüm yapıldı. Kit'in ölçüm aralığı: 0,6-180 ng/mL; Kit'in inter-assay CV (coefficient of variation)'si < %10.

**Analiz Prensi:** Stok standart kullanılarak seri dilüsyonla kitin ölçüm aralığındaki standartlar hazırlanır. Plaka üzerinde bulunan mikrokuyucuklar rat elastine spesifik antikorla kaplıdır. Örnekler ve standartlar bu mikrokuyucuklara eklendiğinde içlerinde bulunan elastin, bu spesifik antikora bağlanır. Sonra mikro kuyucuklara elastine spesifik biyotinli antikor eklenir ve bu biyotinli antikor örneklerdeki elastine bağlanır. Daha sonra Streptavidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjugatı mikrokuyucuğa eklenir ve bu konjugatın inkübasyonla biyotinli-elastin antikoruna bağlanması sağlanır. İnkübasyon sonrası bağlanmayan maddeler yıkama ile uzaklaştırılır. Daha sonra substrat eklenir ve sadece elastin bulunan kuyucuklarda mavi renk oluşumu gözlenir. Enzim substrat reaksiyonu asidik stop solüsyonun eklenmesiyle durdurulur ve sarı renk oluşumu gözlenir. Bütün kuyucukların optik dansiteleri 450 nm'de ölçülür. Standart eğrisi çizilir ve bu eğriye göre örneklerdeki elastin konsantrasyonu hesaplanır. Optik dansite örneklerdeki elastin konsantrasyonu ile orantılıdır.

**Analiz İçin Hazırlık Aşaması:** Kitin bileşenleri oda ısısına getirildikten sonra kullanıldı.

**Standartların Hazırlanması:** Standartların hazırlanmasında 200 ng/mL konsantrasyondaki stok standardı ve standart dilüenti kullanıldı. Seri dilüsyon yapılarak 100, 50, 25, 12,5 ve 6,25 ng/mL konsantrasyonlarındaki standartlar hazırlandı.

**Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması:** 20 mL hacmindeki konsantre yıkama tamponu, distile suyla 25 kat dilüe edildi.

**Analiz Yöntemi:** Bütün reaktifler oda ısısına getirildikten sonra kullanıldı. Plaka üzerinde kör, standart ve örnek eklenecek kuyucukların yeri belirlendi. Standartlar seri dilüsyonla hazırlandı. Standart kuyucuklarına standart numunesinden

50 µL pipetlendi (Eppendorf marka pipet, Germany). Örnek kuyucuklarına her bir örnekten 40 µL pipetlendikten sonra sadece serum pipetlenen bu kuyucuklara 10 µL antikor eklendi. Daha sonra standart ve örnek pipetlenen tüm kuyucuklara (kör kuyucuk hariç) 50 µL streptavidin-HRP eklendi ve plaka üzeri bantla kapatıldı. Plaka iyice karıştırıldıktan (DRAGON LAB marka MX-M model plaka karıştırıcı, P.R.C.) sonra etüvde (Termal marka) 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaka yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı (BioTek marka, ELx50 model plaka yıkayıcı, USA). Bu yıkamada her bir kuyucuk 350 µL'lik yıkama solüsyonuyla yıkandı. Plaka ters çevrilerek kâğıt havlu üzerinde kurutuldu. Hemen tüm kuyucuklara sırasıyla 50'şer µL A ve B substrat solüsyonu eklendi. Derhal plaka üzeri bantla kapatıldı ve etüvde (Termal marka, Türkiye) 37 °C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklar 450 nm'de derhal okundu. (BioTek marka, ELx800 model plaka okuyucu, USA). Okunan standart değerlerle standart eğrisi çizildi. Eğride x konsantrasyonu, y ise absorbansı ifade etmektedir. Bu eğri kullanılarak örneklerdeki elastin konsantrasyonu hesaplandı.

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

Bulgularımızın istatistiksel değerlendirilmesi, GraphPad Prismversion 5.0 for Windows (GraphPad Software v5.0, San Diego, CA, USA) hazır istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Non-parametric ANOVA (Kruskall-Wallis) ile istatistiksel olarak analiz edildi ve sonuçların  $p < 0.05$  çıkması durumunda post hoc analiz olarak "Dunn's Multiple Comparison Test" kullanıldı. Tüm analizler için  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Değerler, ortalama±standart hata (ORT±SE) olarak verildi.

## 4. BULGULAR

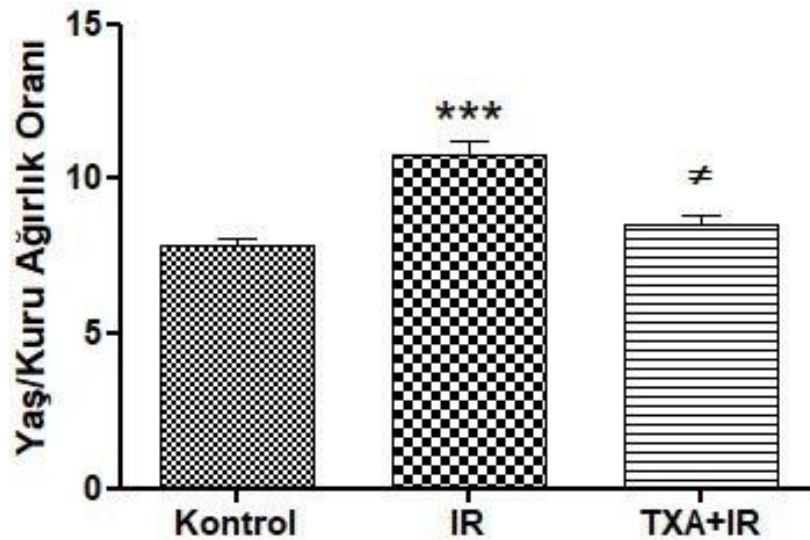
### 4.1. Akciğerlerin Yaş/Kuru (W/D) Ağırlık Oranı

Akciğer ödemi belirlemek amacıyla akciğerlerin W/D oranı hesaplandı. IR grubu ( $10,76 \pm 0,41$ ) kontrol grubu ( $7,83 \pm 0,21$ ) ile karşılaştırıldığında W/D oranında anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir artışın olduğu gösterildi. TXA+IR grubu ( $8,53 \pm 0,24$ ), IR grubu ( $10,76 \pm 0,41$ ) ile karşılaştırıldığında akciğer ödemi anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak azaldı. Kontrol grubu ile TXA+IR grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. (Tabo 4.1, Grafik 4.1).

**Tablo 4.1.** Akciğerlerin yaş/kuru (W/D) ağırlık oranı. Değerler, ortalama  $\pm$  standart hata (Ort.  $\pm$  SE) olarak verilmiştir.

Parametre	Gruplar		
	Kontrol	IR	TXA+IR
W/D	$7,83 \pm 0,21$	$10,76 \pm 0,41^{***}$	$8,53 \pm 0,24^{\neq}$

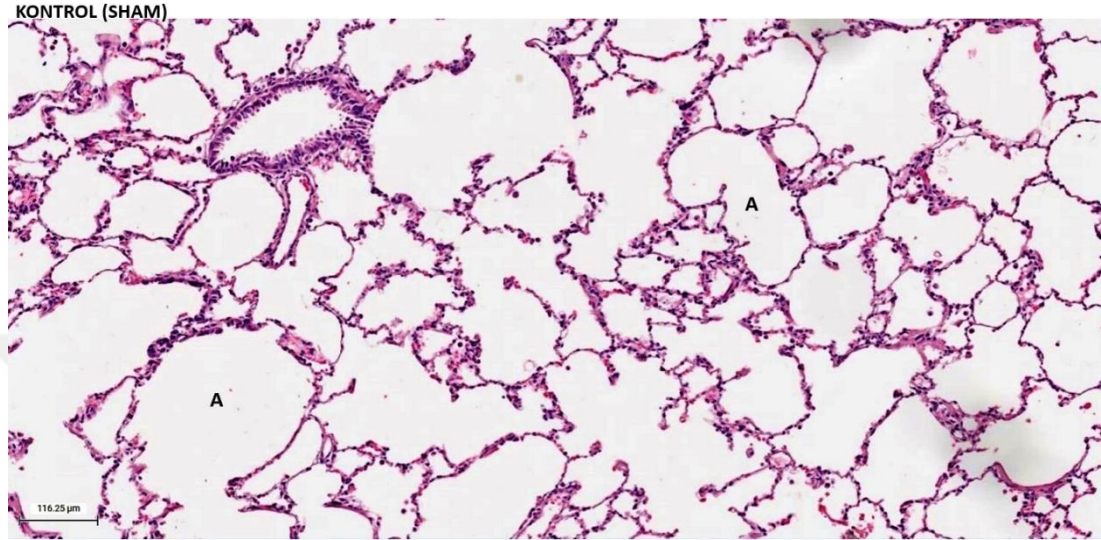
\*\*\*; Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı ( $p < 0,001$ ),  $\neq$ ; IR grubu ile TXA+IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirtmektedir ( $p < 0,05$ ).



**Grafik 4.1.** Akciğerlerin yaş/kuru (W/D) oranı. \*\*\*; Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı ( $p < 0,001$ ),  $\neq$ ; IR grubu ile TXA+IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı ( $p < 0,05$ ) göstermektedir.

## 4.2. Akciğer Histolojisi

Kontrol (Sham) grubu sıçanların akciğerlerinde minimal histolojik değişiklikler gözlemlendi. Alveol duvarları, sağlıklı akciğerde olması gerektiği şekilde çok incedir ve alveollerin çoğunda infiltratif hücre görülmemiştir. (Şekil 4.1).



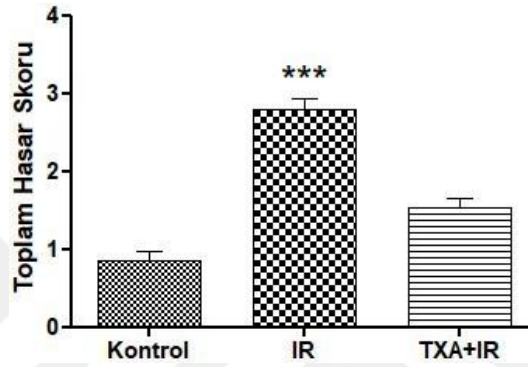
**Şekil 4.1.** Hematoksilen-eozin ile boyanmış kontrol grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı. A; alveol (X20).

IR grubu sıçanlarda, kapiller konjestiyon, interstisyel ödem ve infiltrasyon ve intra-alveolar kanama dâhil olmak üzere orta derecede akciğer hasarı oluştu. Alveoler boşluklar mononükleer ve nötrofilik infiltratlarla doluydu. İnterstisyel ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun kapiller konjestiyonla birlikte bazı bölgelerde alveol duvarlarında kalınlaşmaya ve yıkıma neden olduğu gözlemlendi. Alveollerin hacmi küçülmüş gibi görünmektedir ve bazı örneklerde farklı komşu bölgelerde alveoller ve alveolar keselerde telafi edici dilatasyonu görülmüştür. Hasarlı alanlar, numuneler boyunca heterojenite göstermiştir; yukarıda belirtilen patolojik değişiklikler, sadece minimal değişiklikler gösteren bazı alanlarla serpiştirilmiş haldedir. Bronşiole pitelde şişme ve vakuolizasyon görüldü ve epitelyumun önemli kısımlarında erozyon (dökülme) olduğuna dair kanıtlar vardı (Şekil 4.2). IR grubunda toplam akciğer hasarı skoru, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4.2, Grafik 4.2).

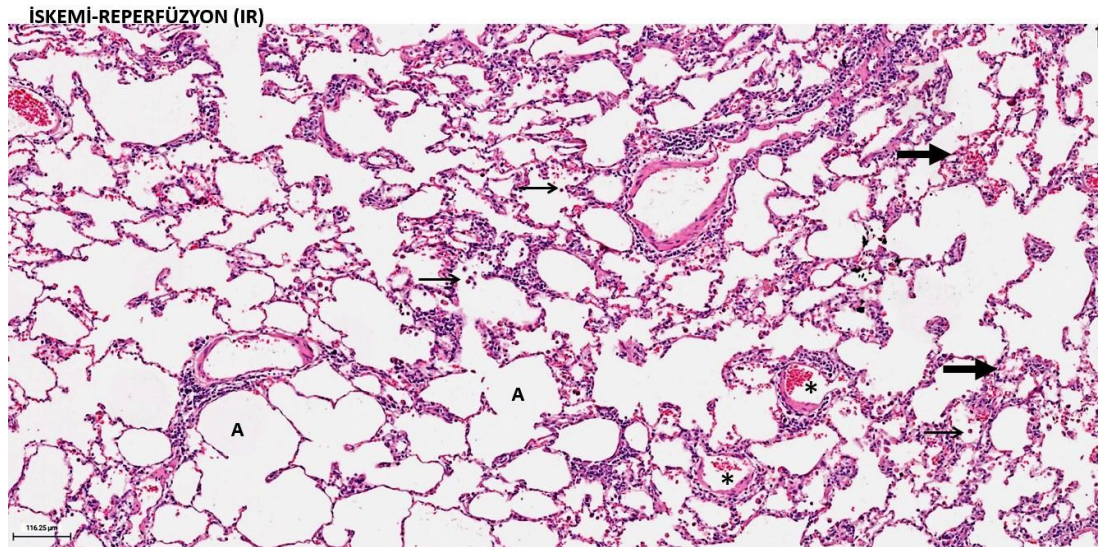
**Tablo 4.2.** Akciğerlerin toplam histolojik hasar skoru. Değerler, ortalama  $\pm$  standart hata (Ort.  $\pm$  SE) olarak verilmiştir.

Parametre	Gruplar		
	Kontrol	IR	TXA+IR
Toplam histolojik hasar skoru	0,86 $\pm$ 0,12	2,80 $\pm$ 0,12***	1,54 $\pm$ 0,10

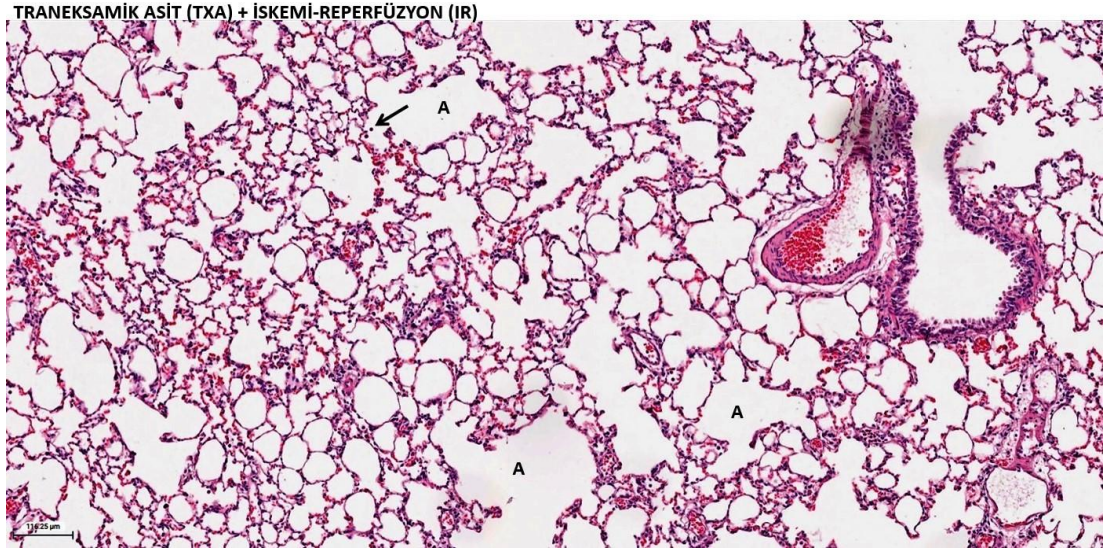
\*\*\*; Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı (\*\*\*) ( $p < 0,001$ ) belirtmektedir.



**Grafik 4.2.** Akciğerlerin toplam histolojik hasar skoru. \*\*\*;Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4.2.** Hematoxilen-eozin ile boyanmış IR grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı. \*; kapiller konjestiyonu, kalın siyah ok; intraalveolar kanamayı ve interstisyel aralıkta kalınlaşmayı, ince siyah ok; alveolar boşluğa lökosit infiltrasyonunu göstermektedir. A; alveol (X20).



**Şekil 4.3.** Hematoksilin-eozin ile boyanmış TXA+IR grubuna ait akciğer dokusu örneğinin mikro fotoğrafı. İnce siyah ok; alveolar boşluğa lökosit infiltrasyonunu göstermektedir. A; Alveol (X20).

TXA+IR grubu sıçanlarda toplam akciğer hasarı skoru IR grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi; fakat toplam akciğer hasarı IR grubundaki sıçanlara göre önemli ölçüde daha azdı. (Tablo 4.2, Grafik 4.2). İncelenen bazı kesitlerdeki bazı alanlarda, kapiller dilatasyon ve staz ve interalveolar infiltrasyona bağlı olarak interalveolar septumda kalınlaşma görüldü; ancak bu belirtiler IR grubundakine göre daha az belirgindi. Bronş epitelisi kısmen dökülmüştü. (Şekil 4.3).

#### 4.3. Matris Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Seviyesinde Oluşan Değişiklikler

IR grubundaki sıçanların, serum, BALS ve ADS örneklerindeki MMP-9 değerleri (sırasıyla,  $1,57 \pm 0,05$  ng/mL,  $2,60 \pm 0,17$  ng/mL,  $653,20 \pm 15,98$  ng/mg protein/mL) kontrol grubunun MMP-9 değerleri (sırasıyla,  $1,15 \pm 0,08$  ng/mL,  $1,72 \pm 0,17$  ng/mL ve  $527,25 \pm 23,79$  ng/mg protein/mL) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttı (sırasıyla,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ). Sıçanlara intravenöz TXA verilmesi, IR grubunda MMP-9 seviyelerinde oluşan artışı anlamlı olarak azalttı. (sırasıyla,  $1,24 \pm 0,06$  ng/mL,  $1,88 \pm 0,07$  ng/mL ve  $508,50 \pm 21,95$  ng/mg protein/mL), ( $p < 0,5$ ,  $p < 0,5$ ,  $p < 0,01$ ) (Tablo 4.3, Grafik 4.3).

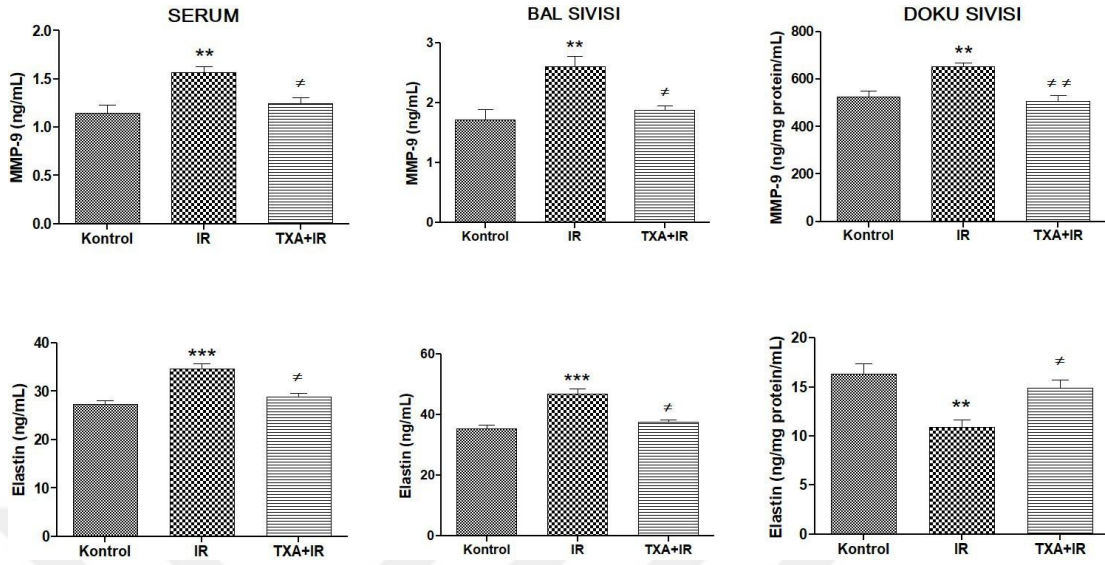
#### 4.4. Elastin (ELN) Seviyesindeki Değişiklikler

IR grubuna ait serum, BALS örneklerindeki ELN değerleri (sırasıyla, 34,63±1,03ng/mL, 46,92±1,76ng/mL) kontrol grubuna ait örneklerdeki değerler (sırasıyla, 27,27±0,88 ng/mL, 36,33±1,21ng/mL) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artarken (sırasıyla, p<0,001, p<0,001) ADS örneğinde IR grubunun ELN seviyesi (10,93±0,75 ng/mg protein/mL) kontrol grubundaki değer (16,29±1,09 ng/mg protein/mL) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldı (p<0,01). Diğer taraftan TXA+IR grubunun serum ve BALS örneklerindeki ELN değerleri (sırasıyla, 28,83±0,71 ng/mL, 37,54±0,78 ng/mL) IR grubunun ELN değerleri (sırasıyla, 34,63±1,03 ng/mL, 46,92±1,76 ng/mL) karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalırken (sırasıyla p<0,05, p<0,05) TXA+IR grubunun ADS örneğindeki ELN değeri (14,92±0,77 ng/mg protein/mL) IR grubundaki değere (10,93±0,75 ng/mg protein/mL) göre anlamlı olarak arttı (p<0,05). Bu bulgular intravenöz TXA'nın, IR sırasında gözlenen MMP-9 seviyesindeki artışları engelleyerek, bu enzimin ELN yıkımına olan etkisini azalttığını göstermektedir. (Tablo 4.3, Grafik4.3).

**Tablo 4.3.** Kan serumu, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BALS) ve akciğer doku sıvısında (ADS), elastin (ELN) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) değerleri. Değerler ortalama ± standart hata (Ort.±SE) olarak verilmiştir.

Örnek	Parametre	Gruplar		
		Kontrol	IR	TXA+IR
Serum (ng/mL)	MMP-9	1,15 ± 0,08	1,57 ± 0,05 **	1,24 ± 0,06 †
	ELN	27,27 ± 0,88	34,63 ± 1,03 ***	28,83 ± 0,71 †
BALS (ng/mL)	MMP-9	1,72 ± 0,17	2,60 ± 0,17 **	1,88 ± 0,07 †
	ELN	35,33 ± 1,21	46,92 ± 1,76 ***	37,54 ± 0,78 †
ADS (ng/mg protein/mL)	MMP-9	527,25 ± 23,79	653,20 ± 15,98 **	508,50 ± 21,95 ††
	ELN	16,29 ± 1,09	10,93 ± 0,75 **	14,92 ± 0,77 †

\*; Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (\*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001). †; IR grubu ile TXA+IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirtmektedir (†p<0,05, ††p<0,01).



**Grafik 4.3.** Kan serumu, BALS (bronkoalveolar lavaj sıvısı) ve akciğer doku sıvısı örneklerinde MMP-9 ve elastin bulguları. \*; Kontrol grubu ile IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirtmektedir (\*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). #; IR grubu ile TXA+IR grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirtmektedir ( $^{\#}p < 0.05$ ,  $^{\#}p < 0.01$ ).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçanlarda infrarenal abdominal aortanın iskemi reperfüzyonunun (IAA-IR) serum, BALS ve akciğer dokusunda MMP-9 aktivitesini artırarak HDM'nin parçalanmasına ve ELN yıkımına yol açtığı ve böylece akut akciğer hasarına (AAH) neden olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan sıçanlara intravenöz TXA verilmesi, MMP-9 aracılı ELN yıkımını engelleyerek AAH'yı azaltmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda oksidatif stres, inflamasyon, hücre nekrozu ve apoptozun birlikte AAH'dan sorumlu olabileceği gösterilmiştir. (Goodman ve diğ. 2003; de Perrot ve diğ. 2003; Wanderer 2008; Guner ve diğ. 2014; Yaman ve diğ. 2019). Oksidatif stres ve inflamasyon alveolar-kapiller zara hasar vererek akciğerlerde geçirgenliğin artmasına ve ekstravasküler alana sıvı geçişine ve böylece akciğer ödemi neden olmaktadır. (Shih ve diğ. 2011; Guner ve diğ. 2014).

Akciğer ödemi AAH'nın ayırt edici özelliklerinden biridir. Akciğer ödeminin değerlendirilmesinde W/D oranı sıklıkla kullanılmaktadır. (Yaman ve diğ. 2019). Çalışmamızda IR grubunda akciğer ödeminin bir göstergesi olan W/D oranı anlamlı olarak artarken, TXA verilen grupta akciğer ödemi IR grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. (Tablo 4.1, Grafik 4.1). Bu bulgularımız hem IR grubunun (Tablo 4.2, Şekil 4.2, Grafik 4.2) hem de TXA verilen grubun akciğer dokusunda gözlenen toplam akciğer hasar skoru ve histolojik değişiklikler ile de desteklenmiştir. (Tablo 4.2, Grafik 4.2, Şekil 4.3).

AAH'da akciğerlerin bariyer fonksiyonunun bozulmasının bir sonucu olarak makrofajlar, monositler, nötrofiller ve trombositler gibi doğal bağışıklık hücrelerinin akciğerlere sızdığı gösterilmiştir. (Perl ve diğ. 2011). Doğal bağışıklık hücrelerinin akciğerlere infiltrasyonu, matris proteinlerini parçalayan ve akciğerlerin endotel fonksiyonunu bozan enflamatuvar sitokinlerin, miyeloperoksidaz ve proteazların salınmasını içeren çeşitli biyokimyasal olayları başlatmaktadır. (Guner ve diğ. 2014; Yaman ve diğ. 2019). Metalloproteinazlar, katepsinler ve plazmin gibi enzimler HDM'yi yıkarak yeniden şekillenmesine ve böylece bağışıklık hücrelerinin akciğerlere göçüne ve sızmasına neden olur. (Hopps ve Caimi 2012). MMP-9, HDM'nin parçalanmasından sorumlu önemli proteinazlardan biri olarak kabul edilmektedir. (Zhen ve diğ. 2008). Çalışmamızda IAA-IR'nin, sıçanlardan alınan serum, BALS ve ADS örneklerinde MMP-9 seviyesini artırdığı gösterilmiştir. (Tablo

4.3, Grafik 4.3). Bu nedenle MMP-9'un HDM'yi parçaladığını ve hasarlı alveolar-kapiller membrandan enflamatuvar infiltratif hücrelerin akciğerlere göçüne neden olduğunu ve böylece AAH oluşturduğunu söyleyebiliriz. IAA-IR'ye maruz bıraktığımız sıçanlarda pulmoner kapiller damarlarda konjestiyon, interstisyel ödem, infiltrasyon ve intra-alveoler kanamalar gibi karakteristik morfolojik değişiklikler gözlemlediğimiz histolojik bulgularımız (Şekil 4.2) ve total akciğer hasarı skoru bulgularımızda bu sonucu desteklemektedir. (Tablo 4.2, Grafik 4.2).

Akciğerlerin HDM'sinin son derece önemli bir proteini olan elastin akciğerlere esneklik, gerilme kuvveti ve sağlamlık kazandırmaktadır. (Davidson 1990; Skjøt-Arkil ve diğ. 2012). ELN, plevradaki mezotel hücreler, hava yollarındaki ve kan damarlarındaki düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve interstisyel fibroblastlar dâhil olmak üzere akciğerdeki birçok hücrede üretilmektedir. Akciğer fonksiyonlarının normal bir şekilde gerçekleşebilmesi için elastin uygun şekilde salgılanmalı ve bir arada bulunmalıdır. ELN lif yapısının inhibe olması ya da var olan ELN'nin bozulması akciğer fonksiyon bozukluğuna ve hastalığa neden olmaktadır. (Skjøt-Arkil ve diğ. 2012; Mecham 2018). ELN lifleri uzun ömürlüdür ve sağlıklı dokularda çok az yenilenirler. (Petersen ve diğ. 2001). MMP'ler ve serin proteazlar gibi çeşitli proteazlar mikrofibrillere ve ELN'ye zarar vererek ELN liflerini parçalar ve böylece elastikiyet kaybı gerçekleşir. Elastikiyet kaybı, vasküler anevrizmalar ve amfizem ile birlikte kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) dâhil olmak üzere bir dizi dejeneratif ve enflamatuvar hastalığın patolojik özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir. (Jacop ve diğ. 1992; Dillon ve diğ. 1992; Schriver ve diğ. 1992; Kielty ve diğ. 1994; Ashwoeth ve diğ. 1999; Petersen ve diğ. 2001).

Çalışmamızda IR grubu sıçanlardan alınan serum ve BALS örneklerinde ELN seviyesinde oluşan artışa paralel olarak ADS'de azaldığı gösterilmiştir. (Tablo 4.3, Grafik 4.3). ELN'nin serum ve BAL sıvısında artması ve ADS'de azalması HDM yıkımı nedeniyle elastinin dolaşım sistemine ve BAL sıvısına geçmesinden kaynaklanmaktadır. Bu bulgumuza dayanarak akciğerlerde MMP-9 aracılı ELN yıkımının gerçekleştiğini ve böylece akciğer dokusunda ELN seviyesinin azaldığını ve bu nedenle de akciğerlerin görevlerini tam olarak yerine getiremeyeceğini söyleyebiliriz. Diğer taraftan TXA ile tedavi edilen sıçanlarda bakılan tüm

örneklerde MMP-9 seviyesinde azalma oluşurken, ELN'nin serum ve BALS örneklerindeki seviyesinde azalma oluşmuş buna karşılık ADS örneğinde ELN'de artış meydana gelmiştir. (Tablo 4.3, Grafik 4.3). Bu bulgumuz TXA'nın lökositik hücrelerin akciğerlere göçünü ve infiltrasyonunu azalttığını ve böylece HDM hasarına neden olan ROS, enflamatuvar sitokinler ve MMP-9 gibi proteazların salınmasını engelleyerek AAH'yi önlediğini söyleyebiliriz. Bu bulgumuz, TXA verdiğimiz grupta, istatistiksel olarak anlamsız olmakla birlikte IR grubunda gözlemlediğimiz pulmoner kapiller damarlarda konjestiyon, interstisyel ödem, lökosit infiltrasyonu ve intra-alveoler kanamalar gibi karakteristik morfolojik değişikliklerin azaldığını gösterdiğimiz total akciğer hasarı skoru (Tablo 4.2, Grafik 4.2) ve histolojik bulgularımız (Şekil 4.3) ile de desteklenmektedir. Diğer taraftan TXA verdiğimiz grupta oluşan akciğer hasarının istatistiksel olarak tam olarak düzelmemiş olmasını, çalışmamızın akut bir çalışma olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu kadar kısa bir süre içinde akciğer dokusunda tam bir iyileşme beklemek doğru değildir. Akciğer dokusunun tamamen iyileşebilmesi için belirli bir süreye ihtiyaç vardır. Bilindiği gibi tip II pnömositler akciğerlerde sürfaktan üretiminden ve rejenerasyondan sorumlu hücrelerdir ve Tip I pnömositlere dönüşebilmektedirler. (Fehrenbach 2001; Paris ve diğ. 2016). Bu nedenle onarım için belirli bir sürenin beklenmesi gerekmektedir.

TXA klinikte travma, hemofili, menoraji ve çeşitli cerrahi prosedürlerde kanamayı durdurmak için antifibrinolitik bir ajan olarak kullanılmaktadır. (Tengborn ve diğ. 2015). Bir lizin türevi olan TXA, tripsinojen ve plazminojen dâhil serin proteazlar üzerindeki lizin bağlanma bölgelerini bloke eder. (McCormack 2012). Plazminojen/plazmin, doğal bağışıklık hücrelerine bağlanır ve HDM'nin yeniden şekillendirilmesinde görev alır. Plazminojen, uPA (ürokinaz tip plazminojen aktivatör) reseptörü aracılığı ile aktif formu plazmine dönüştürülür. Plazmin, HDM'yi doğrudan yeniden şekillendiren ve aynı zamanda pro-metaloproteazları aktif formlarına dönüştürebilen bir serin proteazdır. (Hopps ve Caimi 2012). Plazmin ayrıca kompleman C5'i, aktif kompleman C5'e (C5a) dönüştürür. (Foley ve diğ. 2016). C5a, lökositlerin bir araya gelmesine ve ayrılmasına neden olarak alveoler-kapiller bariyerin hasar görmesine neden olur. (Russkamp ve diğ. 2015). TXA'nın akciğer dokusuna lökosit ve trombosit infiltrasyonunu azalttığı ve ciddi travma ve

kanama sonrası akciğerlerdeki bariyer fonksiyon kaybını azalttığı da gösterilmiştir. (Wu ve diğ. 2017). Bu çalışmaların sonuçları da bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Sonuç olarak TXA, MMP-9 aktivitesini kontrol ederek HDM parçalanmasını ve dolayısıyla ELN yıkımını engellemiştir. Bu nedenle TXA'nın, alveolar-kapiller bariyerin bütünlüğün korunmasına yardımcı olarak, muhtemelen enflamatuvar lökositlerin akciğer dokusuna infiltrasyonunu ve enflamasyona bağlı olarak gelişen akciğer ödemi azaltarak IAA-IR'nin neden olduğu AAH'yı hafiflettiğini söyleyebiliriz. Diğer taraftan iskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidatif stres ve enflamasyona bağlı olarak gelişen akut akciğer hasarında, TXA'nın olası koruyucu etkilerinin de araştırılması gerekmektedir. Bu amaçla TXA'nın oksidatif stres ve enflamasyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla çalışmamızın devamı planlanmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- AKSU, U., GUNER I., YAMAN, M.O., ERMAN, H., UZUN, D., INCELI M.S., SAHIN, A., YELMEN, N., GELISGEN, R., UZUN, H., SAHIN, G. 2014. Fluoxetine ameliorates imbalance of redox homeostasis and inflammation in an acute kidney injury model. *J Physiol Biochem.* 70:925–934.
- ASHWORTH, J.L., MURPHY, G., ROCK, M.J., SHERRATT, M.J., SHAPIRO, S.D., SHUTTLEWORTH, C.A., KIELTY, C.M. 1999. Fibrillin degradation by matrix metalloproteinases: implications for connective tissue modelling. *Biochem J.* 340(Pt 1):171-181.
- ATKINSON, J.J., SENIOR, R.M. 2003. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 28:12-24.
- AYALA, P., VIVAR, R., MONTALVA, R., OLMOS, P., MENESES, M., BORZONE, G.R. 2018. Elastin degradation products in acute lung injury induced by gastric contents aspiration. *RespirRes.* 19:165.
- BARKETT, M, GILMORE T.D. 1999. Control of apoptosis by Rel/NF-kappa B transcription factors. *Oncogene.* 18: 6910-6924.
- BECKER, L.B. 2004. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res.* 61:461-470.
- BOWN, M. J., NICHOLSON, M.L., BELL, P.R.F., SAYERS, R.D. 2001. Cytokines and inflammatory pathways in the pathogenesis of multiple organ failure following abdominal aortic aneurysm repair. *Eur J VascEndovascSurg.* 22: 485–495.
- BROHI, K., SINGH, J., HERON, M., COATS, T. 2003. Acute traumatic coagulopathy. *J Trauma.* 54(6): 1127-1130.
- CARDEN D.L., GRANGER, D.N. 2000. Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. *J Pathol.* 190: 255-266.
- CAUWE, B., Van Den STEEN, P.E., OPDENAKKER, G. 2007. The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 42:113-185.
- CHAKRABARTI, S., PATEL, K.D. 2005. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res.* 31(6): 599-621.
- CHEN, K.H., CHAO, D., LIU, C.F., CHEN, C.F., WANG, D. 2010. Ischemia and reperfusion of the lung tissues induced increase of lung permeability and lung edema is attenuated by dimethylthiourea (PP69). *Transplant Proc.* 42: 748-750.
- COLLARD, C.D., GELMAN, S. 2001. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 94:1133-138.
- CRESTANI, B., CORNILLET, P., DEHOUX, C., GUENOUNOU, M., AUBIER, M. 1994. Alveolar type II epithelial cells produce interleukin-6 in vitro and in vivo. Regulation by alveolar macrophage secretory products. *J Clin Invest.* 94(2): 731-740.

- CUMMINS, P.M., Von OFFENBERG SWEENEY, N., MARIA T. KILLEEN, M.T., BIRNEY, Y.A., REDMOND, E.M., PAUL A. CAHILL, P.A. 2007. Cyclic strain-mediated matrix metalloproteinase regulation within the vascular endothelium: a force to be reckoned with. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 292: H28-H42.
- CVACHOVEC, K., HORACEK, M., VISLOCKY, I. 2000. A retrospective survey of fibrinolysis as an indicator of poor outcome after cardiopulmonary bypass and a possible early sign of systemic inflammation syndrome. *Eur J Anaesthesiol*. 17: 173-176.
- DARLINGTON, D.N, GONZALES, M.D, CRAIG, T., DUBICK, M.A., CAP, A.P., SCHWACHA, M.G. 2015. Trauma-induced coagulopathy is associated with a complex inflammatory response in the rat. *Shock*. 44(suppl 1): 129-137.
- DAVIDSON, J.M. 1990. Biochemistry and turnover of lung interstitium. *Eur Respir J*. 3:1048-1068.
- De GROOT, H., RAUEN, U. 2007. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: A review. *Transplant Proc*. 39: 48-484.
- De NIGRIS, F., LERMAN, A., IGNARRO, L.J., WILLIAMS-IGNARRO, S., SICA, V., BAKER, A.H., LERMAN, L.O., GENG, Y.J., NAPOLI, C. 2003. Oxidation-sensitive mechanisms, vascular apoptosis and atherosclerosis. *Trends in Mol Med*. 9(8): 351-359.
- De PERROT M., LIU M., WADDELL T.K., KESHAVJEE S. 2003. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Crit Care Med*. 167: 490-511.
- Den Hengst, W.A., GIELIS, J.F., LIN, J.Y., Van SCHIL, P.E., De WINDT, L.J., MOENS, A.L. 2010. Lung ischemia-reperfusion injury: a molecular and clinical view on a complex pathophysiological process. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 299: H1283-H1299.
- DIAZ-RAMOS, A., ROIG-BORRELLAS, A., GARCIA-MELERO, A., LOPEZ-ALEMANY, R. 2012.  $\alpha$ -Enolase, a multifunctional protein: its role on pathophysiological situations. *J Biomed Biotechnol*. 2012: 156795.
- DILLON, T.J., WALSH, R.L, SCICCHITANO, R., ECKERT B, CLEARY, EG., MCLENNAN, G. 1992. Plasma elastin-derived peptide levels in normal adults, children, and emphysematous subjects. Physiologic and computed tomographic scan correlates. *Am Rev Respir Dis*. 146: 1143-1148.
- DORWEILER, B., PRUEFER, D., ANDRASI, T.B., MAKSAN, S.M., SCHMIEDT, W., NEUFANG, A., VAHL, C.F. 2007. Ischemia-reperfusion injury: pathophysiology and clinical implications. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 33:600-612.
- DWIVEDI, A.J., WU, R., NGUYEN, E., HIGUCHI, S., WANG, H., KRISHNASASTRY, K., MARINI, C.P., RAVIKUMAR, T.S., WANG, P. 2007. Adrenomedullin and adrenomedullin binding protein-1 prevent acute lung injury after gut ischemia-reperfusion. *J Am Coll Surg*. 205: 284-293.

- ENDO, K., NIKI, Y., OHASHI, Y., MASAKI, H. 2021. Tranexamic acid improves the disrupted formation of collagen and fibrillin-1 fibers produced by fibroblasts repetitively irradiated with UVA. *BiolPharmBull.* 44(2): 225-231.
- FEHRENBACH, H. 2001. Alveolar epithelial type II cell: defender of the alveolus revisited. *RespirRes.* 2: 33-46.
- FOLEY, J.H., WALTON, B.L., ALEMAN, M.M., O'BYRNE, A.M., LEI, V., HARRASSER, M., FOLEY, K.A., WOLBERG, A.S., CONWAY, E.M. 2016. Complement activation in arterial and venous thrombosis is mediated by plasmin. *EBioMedicine.* 5:175-182.
- GERKIN T.M., OLDHAM, K.T., GUICE, K.S., HINSHAW, D.B., RYAN, U.S. 1993. Intestinal ischemia-reperfusion injury causes pulmonary endothelial cell ATP depletion. *AnnSurg.* 217(1): 48-56.
- GOODMAN, R.B., PUGIN, J., LEE, J.S., MATTHAY, M.A. 2003. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. *CytokineGrowthFactorRev.* 14: 523-535.
- GUNER, I., YAMAN, M.O., AKSU, U., UZUN, D., ERMAN, H., INCELI, M., GELISGEN, R., YELMEN, N., UZUN, H., SAHİN, G. 2014. The effect of fluoxetine on ischemia reperfusion after aortic surgery in a rat model. *J Surg Res.* 189:96-105.
- HIRSIGER, S., SIMMEN, H.P., WERNER, C.M., WANNER, G.A., RITTIRSCH, D. 2012. Danger signals activating the immune response after trauma. *MediatorsInflamm.* 2012: 31594.
- HO, K.M., ISMAIL, H. 2003. Use of Intravenous Tranexamic Acid to Reduce Allogeneic Blood Transfusion in Total Hip and Knee Arthroplasty: A Meta-analysis. *AnaesthIntensiveCare.* 31: 529-537.
- HOPPS, E., CAIMI, G. 2012. Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome. *Eur J InternMed.* 23(2): 99-104.
- JACOB, M.P., WEI, S.M., GHUYSEN-ITARD, A., FULOP, T., ROBERT, L. 1992. Elastin and arterio sclerosis: determination and characterization of elastin peptides in blood. *C R SeancesSocBiol Fil.* 186: 342-348.
- JAESCHKE, H. 2003. Molecular mechanisms of hepatic ischemia reperfusion injury and preconditioning. *Am J PhysiolGastrointestLiverPhysiol.* 284: G15-26.
- JOHNSON, E.R., MATTHAY, M.A. 2010. Acute lung injury: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *J AerosolMedPulmDrugDeliv.* 23 (4): 243-252.
- KALOGERIS, T., BAINES, C.P., KRENZ, M., KORTHUIS, R.J. 2012. Cell Biology of ischemia/reperfusion injury. *IntRev Cell MolBiol.* 298: 229-317.
- KANDILCI, H.B., GUMUSEL, B., TOPALOGLU, E., UCAR, G., KORKUSUZ P., UGUR Y., ASAN, E., DEMİRYÜREK A.T. 2006. Effects of ischemic preconditioning on rat lung: role of nitric oxide. *ExpLungRes.* 32(7):287-303.

- KIELTY C.M., SHERRATT, M.J., SHUTTLEWORTH, C.A. 2002. Elastic fibres. *J Cell Sci.* 115: 2817-2828.
- KIELTY, C.M., WOOLLEY, D.E., WHITTAKER, S.P., SHUTTLEWORTH, C.A. 1994. Catabolism of intact fibrillin microfibrils by neutrophilelastase, chymotrypsin and trypsin. *FEBS Lett.* 351: 85-89.
- KIM, G.S., AHN, H.J., KIM W.H., KIM M.J., SANG HYUN LEE, S.H. 2011. Risk factors for postoperative complications after open infrarenal abdominal aortic aneurysm repair in Koreans. *YonseiMed J.* 52(2):339-346.
- MANGINO, M.J., ANDERSON, C.B., MURPHY, M.K., BRUNT, E., TURK, J. 1989. Mucosal arachidonate metabolism and intestinal ischemia-reperfusion injury. *Am J PhysiolGastrointestLiverPhysiol.* 257(2):G299-G307.
- MANICONE, A.M., MCGUIRE, J.K. 2008. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Semin Cell Dev Biol.* 19(1): 34-41.
- MANSON, P.N., ANTHENELLI, R.M., IM M.J., BULKLEY, G.B., HOOPES, J.E. 1983. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *AnnSurg.* 198:8790.
- McCORMACK, P.L. 2012. Tranexamic acid: a review of its use in the treatment of hyperfibrinolysis. *Drugs.* 72(5): 585-617.
- MECHAM, R.P. 2018. Elastin in lung development and disease pathogenesis. *MatrixBiol.* 73: 6-20.
- MILES, L.A., LIGHVANI, S., BAIK, N., ANDRONICOS. N.M., CHEN, E.I., PARMER, C.M., KHALDOYANIDI, S., DIGGS, J.E., KIOSSES, W.B., KAMPS, M.P., YATES 3RD, J.R., PARMER, R.J. 2012. The plasminogen receptor, Plg-R(KT), and macrophage function. *J BiomedBiotechnol.* 2012: 250464.
- NEARY, P., REDMOND, H.P. 1999. Ischaemia-reperfusion injury and the systemic inflammatory response syndrome. In: Grace PA and Mathie RT, editors. *Ischemia-Reperfusion Injury.* Oxford: Blackwell Science. S: 123-136.
- Ng, C.S.H., WAN, S., ARIFI, A.A., ANTHONY, YIM, P.C. 2006. Inflammatory response to pulmonary ischemia-reperfusion injury. *SurgToday.* (36): 205-214.
- NORWOOD, M.G.A., BOWN M.J., SAYERS, R.D. 2004. Ischaemia-reperfusion injury and regional inflammatory responses in abdominal aortic aneurysm repair. *Eur J VascEndovascSurg.* 28: 234-245.
- OPDENAKKER, G., VAN DEN STEEN, P.E., DUBOIS, B., NELISSEN, I., VAN COILLIE, E., MASURE, S., PROOST, P., VAN DAMME, J. 2001. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J LeukocBiol.* 69(6): 851-859.
- PARARAJASINGAM, R., WEIGHT, S.C., BELL, P.R.F., NICHOLSON, M.L., SAYERS, R.D. 2000. Pulmonary nitric oxide metabolism following infrarenal aortic cross-clamp-induced ischaemia-reperfusion injury. *Eur J VascEndovascSurg* 19: 47-51.

- PARIS A.J., LIU Y., MEI J., DAI N., GUO L., SPRUCE L.A., HUDOCK, K.M., BRENNER, J.S., ZACHARIAS, W.J., MEI, H.D., SLAMOWITZ, A.R., BHAMIDIPATI, K., BEERS, M.F., SEEHOLZER, S.H., MORRISEY, E.E., WORTHEN, G.S. 2016. Neutrophils promote alveolar epithelial regeneration by enhancing type II pneumocyte proliferation in a model of acid-induced acute lung injury. *Am J PhysiolLung Cell MolPhysiol.* 311(6): L1062-L1075.
- PERL, M., LOMAS-NEIRA, J., VENET, F., CHUNG, C.S., AYALA, A. 2011. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury. *ExpertRevRespirMed.* 5:115-126.
- PETERSEN. E., GINEITIS, A., WAGBERG, F., ANGQUIST, K.A. 2001. Serum levels of elastin derived peptides in patients with ruptured and asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Eur J VascEndovascSurg.*, 22: 48-52.
- PIDCOKE, H.F., ADEN, J.K., MORA, A.G, BORGMAN, M.A., SPINELLA, P.C., DUBICK, M.A., BLACKBOURNE, L.H., CAP, A.P. 2012. Ten-year analysis of transfusion in operation Iraqi free domand operationen during freedom: increased plasma and plateletuse correlates with improved survival. *J TraumaAcuteCareSurg.* 73(6 suppl 5): S445-S452.
- PIRAT, A., ZEYNELOGLU, P., ALDEMIR, D., YUCEL, M., OZEN, O., CANDAN S., ARSLAN G. 2006. Pretreatment with simvastatin reduces lung injury related to intestinal ischemia-reperfusion in rats. *AnesthAnalg.* 102(1):225-232.
- PORTER, A.G., JANICKE, R.U. 1999. Emergingroles of caspase-3 in apoptosis. *Cell DeathDiffer.* 6: 99-104.
- ROSS, S.D., KRON, I.L., GANGEMI, J.J., SHOCKEY, K.S., STOLER, M., KERN, J.A, TRIBBLE, C.G., LAUBACH, V.E. 2000. Attenuation of lung reperfusion injury after transplantation using an inhibitor of nuclear factor-kappaB. *Am J PhysiolLung Cell MolPhysiol.* 279: L528-5836.
- RUSSKAMP, N.F., RUEMLER, R., ROEWE, J., MOORE, B.B., WARD, P.A., BOSMANN, M. 2015. Experimental design of complement component 5a-induced acute lung injury (C5a-ALI): a role of CC-chemokine receptor type 5 during immune activation by anaphylatoxin. *FASEB J.* 29(9): 3762-3772.
- RYNIAK, S., HARBUT, P., OSTLUND, A., MYSIAK, A., JAKOBSSON, J.G. 2014. Suspected transfusion related acute lung injury improving following administration of tranexamic acid: a casereport. *Case RepAnesthesiol.* 2014:710813.
- SCHMELING, D.J., CATY, M.G., OLDHAM, K.T., GUICE, K.S., HINSHAW, D.B. 1989. Evidence for neutrophil-related acute lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Surgery.* 106(2): 195-201.
- SCHRIVER, E.E., DAVIDSON J.M., SUTCLIFFE, M.C., SWINDELL, B.B., BERNARD, GR. 1992. Comparison of elastin peptide concentrations in body fluids from healthy volunteers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *AmRevRespirDis.* 145: 762-766.

- SHIH, P.K., CHEN, Y.C., HUANG, Y.C., CHANG, Y.T., CHEN, J.X., CHENG, C.M. 2011. Pretreatment of Vitamin D<sub>3</sub> ameliorates lung and muscle injury induced by reperfusion of bilateral femoral vessels in a rat model. *J SurgRes*. 171: 323-328.
- SIEMIONOW, M., ARSLAN, E. 2004. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 24:468-475.
- SINGH, D., CHANDER, V., CHOPRA, K. 2005. Protective effect of catechin on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *PharmacolRep*. 50:70-76.
- SINGLETON, P.A., LENNON, F.E. 2011. Acute lung injury regulation by hyaluronan. *J AllergyTher*. 4: 1-19.
- SKJØT-ARKIL H., CLAUSEN R.E., NGUYEN O.H.T., WANG Y., ZHENG O., MARTINEZ F.J., HOGABOAM, C.M., HAN, M., KLINKSTEIN, L.B., LARSEN, M.R., NAWROCKI, A., LEEMING, D.J., KARSDAL, M.A. 2012. Measurement of MMP-9 and -12 degraded elastin (ELM) provides unique information on lung tissue degradation. *BMC PulmMed*. 12 (34): 1-12.
- SOARES, R.O.S., LOSADA, D.M., JORDANI, M.C, ÉVORA, P., CASTRO-E-SILVA, O. 2019. Ischemia/reperfusion injury revisited: An overview of the latest pharmacological strategies. *Int J MolSci*. 20 (5034): 1-45.
- SOCAL, P.M., GASCHÉ, Y., PACHE, J.C., SCHNEUWLY, O., SLOSMAN, D.O., MOREL, D.R., SPILIOPOULOS, A., SUTER P.M., NICOD, L.P. 2000. Matrix metalloproteinases correlate with alveolar-capillary permeability alteration in lung ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 70(7): 998-1005.
- STEFANUTTI, G., PIERRO, A., VINARDI, S., SPITZ, L., EATON, S. 2005. Moderate hypothermia protect against systemic oxidative stress in a rat model of intestinal ischemia and reperfusion injury. *Shock*. 24:159-164.
- SUETSUGU, H., IIMURO, Y., UEHARA, T., NISHIO, T., HARADA, N., YOSHIDA, M., HATANO, E., SON, G., FUJIMOTO, J., YAMAOKA, Y. 2005. Nuclear factor {kappa} B inactivation in the rat liver ameliorates short term total warm ischaemia/reperfusion injury. *Gut*. 54:835-842.
- TENGBORN, L., BLOMBACK, M., BERNTORP, E. 2015. Tranexamic acid-an old drug still going strong and making a revival. *ThrombRes*. 135(2): 231-242.
- TEOH, N.C., FARRELL, G.C. 2003. Hepatic ischemia reperfusion injury: Pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J GastroenterolHepatol*. 18: 891-902.
- Van LINT, P., LIBERT, C. 2007. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. *J LeukocBiol*. 82: 1375-1381.
- WALDOW, T., WITT, W., BUZIN, A., ULMER, A., MATSCHKE, K. 2009. Prevention of ischemia/reperfusion-induced accumulation of matrix metalloproteinases in rat lung by preconditioning with nitric oxide. *J Sur Res*. 152: 198-208.

- WANDERER, A.A. 2008. Ischemic-reperfusion syndromes: Biochemical and immunologic rationale for IL-1 targeted therapy. *Clin Immunol.* 128: 127-132.
- WANG K., MENG, X., GUO, Z. 2021. Elastin structure, synthesis, regulatory mechanism and relationship with cardiovascular diseases. *Front Cell Dev Biol.* 9: 596702.
- WELBOURN, C.R., GOLDMAN, G., PATERSON, I.S., VALERI, C.R., SHEPRO, D., HECHTMAN, H.B. 1991. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg.* 78(6):651-655.
- WU, M.Y., YANG, G.T., LIAO, W.T., TSAI, A.P.Y., CHENG, Y.L., CHENG, P.W., LI, C.Y., LI, C.J. 2018. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem.* 46:1650-1667.
- WU, X., DUBICK, M.A., SCHWACHA, M.G., CAP, A.P., DARLINGTON D.N. 2017. Tranexamic acid attenuates the loss of lung barrier function in a rat model of polytrauma and hemorrhage with resuscitation. *Shock.* 47(4): 500–505.
- WU, X., SCHWACHA, M.G., DUBICK, M.A., CAP, A.P., DARLINGTON. D.N. 2016. Trauma-related acute lung injury develops rapidly irrespective of resuscitation strategy in the rat. *Shock.* 46:108-114.
- YAMAN, M.O., GUNER, I., GUNTAS, G., SONMEZ, O.F., TANRIVERDI, G., CAKIRIS, A., AKSU, U., AKYOL, S., GUZEL, E., UZUN, H., YELMEN, N., SAHIN, G. 2019. Protective Effect of thymosin  $\beta$ 4 against abdominal aortic ischemia-reperfusion-induced acute lung injury in rats. *Medicina.* 55 (187): 1-13.
- YANO, M., OMOTO, Y., YAMAKAWA, Y., NAKASHIMA, Y., KIRIYAMA, M., SAITO, Y., FUJII, Y. 2001. Increased matrix metalloproteinase 9 activity and mRNA expression in lung ischemia reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant.* 20 (6): 679-686.
- ZHEN E.Y., BRITAIN I.J., LASKA D.A., MITCHELL P.G., SUMER E.U., KARSDAL M.A., Duffin, K.L. 2008. Characterization of metallo protease cleavage products of human articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 58:2420-2431.
- ZIMMERMAN, B.J., GRANGER, D.N. 1992. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am.* 72(1): 65-83.

**EK 1- ETİK KURUL ONAYI**

**T.C.**  
**Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi**  
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı  
**KARARLAR**

**Toplantı Tarihi-Saati:**2022-03-07 - 15.00

**Toplantı Sayısı:**T2022-858

**Toplantı Yeri:**Telekonferans

**KARAR - 3 :**

"Proje yürütücülüğünü Prof. Dr. İbrahim GÜNER'in yaptığı, Yüksek Lisans Öğrencisi Betül ÖZCAN, Dr. Öğr. Üyesi Murat MENGİ, Doç. Dr. Meltem ÖZNUR, Dr. Öğr. Üyesi Aliye ÇELİKKOL ve Dr. Öğr. Üyesi Birol TOPÇU ile ortak çalışmaları olan "Aortik İskemi- Reperfüzyona Maruz Kalan Sıçanlarda Traneksamik Asidin Elastin Üzerindeki Etkileri" adlı proje hakkında görüşüldü. İlgili mevzuatlara uygunluğu incelenerek mevcudun oybirliği ile uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.

Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan, 21 Adet
-----------------------	----------------