

**YANIKTA NİTRİK OKSİT ÜRETİMİNİN DESTEKLENMESİ VEYA AZALTIMASININ
İSKEMİK HASARI AZALTMADAKİ ROLÜ****THE ROLE OF SUPPLEMENTATION OR INHIBITION OF NITRIC OXIDE PRODUCTION IN
BURN INJURY TO REDUCE ISCHEMIC DAMAGE**

Dr. Aydın ZİLAN¹, Dr.Oğuz ÇETİNKALE², Dr. Bayram KIRAN³
Dr. Yeşim ÜNLÜÇERÇİ⁴, Dr.Vakur OLGAC⁵, Dr. Günnur DENİZ³
Dr. Selda BEKPINAR⁴

ÖZET

Amaç: Vazoregülatör ajan ve enflamatuar sitokinlerden biri olan nitrik oksit'in (NO) etkisi yanık modelinde araştırıldı.

Gereç ve yöntem: Çalışmada sıçanlar 5 gruba ayrıldı ve üzerinde % 30 oranında III. derecede yanık oluşturuldu. Grup 1: yaniksız, grup 2; yanıklı kontrol grubu, ve yanıklı tedavi gruplarında grup 3; L-Arginin, grup 4; L-nitro-L-Arginine methylester (L-NAME) ve grup 5; her iki ilaç aynı dozlarda verildi. Yanıktan 24 saat sonra kanda nötrofil ve akciğer nötrofil infiltrasyonu sayımı ve hematokrit, plazmada TNF-alfa, NO ve Malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Sadece L-NAME verilerek NO üretimi engellenen grupta plazmaTNF-alfa, MDA, kan ve akciğer nötrofil değerlerinde grup 2'ye göre anlamlı düşüş görüldü. Tedavi gruplarında plazma MDA düzeylerinde anlamlı azalma görüldü.

Sonuçlar: Yanıktan sonra kanda seviyesi artan NO miktarının hem indüklenerek artırılması hem de üretiminin engellenmesi ile lipid peroksidasyonun azalabileceğini ortaya koymuş ancak indüklenmesi mortalite ile birlikte plazmaTNF-alfa ve nötrofil sayısını arttırmıştır. NO üretiminin engellenmesinin daha yararlı olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: yanık, nitrik oksit, yanık şoku, lipid peroksidasyonu

ABSTRACT

Background: To determine the role of nitric oxide (NO) which is vasodilator agent and inflammatory cytokine, in burn injury.

Methods: Rats were divided into 5 groups, and a 30 % burn was inflicted. In addition to sham control and burn control groups, other 3 groups were given L-Arginin, and L-nitro-L-Arginine methylester (L-NAME), and both.

Neutrophil and heametocrit percentage in blood, NO, TNF-alfa and malondialdehit (MDA) levels in plasma and neutrophil infiltration in the lung were evaluated at 24 hours after thermal injury.

Results: The inhibition of NO production with L-NAME treatment significantly decreased these parameters when compared to burned control group. MDA was decreased significantly in all groups which were given drugs.

Conclusion: The induction and inhibition of NO production both reduced lipid peroxidation but induction increased the mortality, plasma TNF-alfa and neutrophil in the blood. Inhibition of NO production is found more useful after thermal injury in rats.

Key words: burn, nitric oxide, burn shock, lipid peroxidation

GİRİŞ

Termal yaralanmaya bağlı olarak gelişen yaygın permeabilite artışı zincirleme olaylar sonucu bir çok doku ve hücre grubundan salgılanan çeşitli mediyatörlerden kaynaklanmaktadır. Bu mediyatörlerin başlıcaları; Katekolaminler, Histamin, Tümör nekroz faktörü (TNF), interlökin 1-beta, interlökin-6, prostaglandinler, endotelin-1, ve nitrik oksit (NO) dir. Yanık yaralanması sonrası bir çok enflamatuar sitokin gibi NO'in kandaki değerinin çok yükseldiği ve NO'in spesifik metabolik ürünleri

olan NO₂ ve NO₃ değerlerinin 10 kat arttığı tespit edilmiştir.¹⁻⁴ Endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen NO vasküler tonusun önemli bir regülatörü ve direkt bir vazodilatördür. NO, L-arginin'in guanidine-nitrojen grubundan NO-sentaz enziminin etkisi ile üretilir. Kan basıncı ve mikrosirküler kan akımı regülasyonunda önemli rol alır. Vazodilatör etkisi kadar hem trombosit hem de nötrofillerin agregasyonu ve adezyonunun önlenmesinde oldukça etkilidir. Trombosit agregasyonunun engellenmesi mikrotrombozis oluşumunu

azaltırken, nötrofil adezyonunun engellenmesi bu hücrelerin saldırdığı serbest radikal ve mediyatörlerin azalması sonucunu çıkartır.

NO oksijenle birleşerek bir radikal olan peroksinitrit'i ortama çıkarır ve bu da dokulara zarar verir. Böylece NO enflamatuvar olaylarda ortaya çıkan bir oksidan olarak da ortamda bulunur.^{5,6} NO metabolitlerinin yanıktan 24 saat sonra plazmada yüksek olduğunu gösteren Soejima ve ark. NO oluşumunun engellenmesi ile yanık sonrası gelişen kardiyak depresyon ve hemokonsantrasyonun önlenemediğini deneysel olarak göstermiştir.² NO'nun vasküler permeabilite üzerine etkisini çalıştıran Sozumi yaptığı deneysel yanık çalışmasında, NO oluşumu azaltılınca permeabilitenin de azaltılabildiğini göstermiştir.⁵ Yanıktan 24 saat sonra NO seviyesinin hem yanık bölgesinde hem de plazmada seviyesinin arttığını deneysel olarak göstermiş ve permeabilite üzerine olan etkisini belirtmiştir.⁵ Klinik çalışmalarda yanıklı hastalarda NO üretiminin arttığı hatta sepsis gelişen yanıklı hastalarda bu yükselişin daha fazla olduğu gösterilmiştir.⁷ Yanık sonrası oluşan enflamatuvar reaksiyonun yoğunluğu ile orantılı olarak NO seviyesinin arttığı bulunmuştur.⁸

NO, vazodilatör bir ajan olduğu için bu olumlu etkisi bir çok dokuyu da iskemi-reperfüzyon hasarından korur.⁹ Bunun aksine olarak iskemi - reperfüzyon çalışmasında NO'nun bu hasarda etkili mediyatör olduğu ve NO inhibisyonu ile IR hasarının azaltılabildiği gösterilmiştir.¹⁰ Literatürde toplanan bu veriler NO oluşumunu bazı hasar verici olayların gelişiminden sorumlu tutarken, NO'nun ba-

tiği kabul edilmektedir.

Bu çalışmada ilk aşamada "bu yükselmenin yeterli olmadığı varsayımını" ortaya koymak üzere planlama yapıldı. Bu varsayımdan hareketle yanık öncesi NO üretimini yükseltmek amacı ile L-arginin verilmesi planlandı. Bu varsayımın aksine, eğer "NO yükselmesi vücuttaki dengeyi düzeltmeye yönelik değil de, serbest radikal hasarını arttıran ya da mediyatörlerle ilişkiye girerek bazı mekanizmaları tetiklediği ve hasarı arttıran özelliği" varsa düşüncesiyle de yine aynı model kullanılarak NO inhibisyonu yapmak amacıyla NO-sentaz (NOS) inhibitörü olan L-nitro-L-Arginin metilester (L-NAME) vermeyi planladık. L-Arginin ile NO'yu arttırarak, L-Nitroarginin (NOS antagonisti, L-NAME) vererek seviyesini ve olası NO toksisitesini azaltarak klinik verilere faydalı olup olamayacağını değerlendirmek için her iki ilaç aynı zamanda ayrı ayrı verildi. NO etkinliğini takip üzere plazmada ortaya çıkan doku hasarı parametreleri, klinik parametreler ve deneklerin canlı kalma oranları ile değerlendirildi.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi DETAE araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiş ve çalışmada 220-240 gr. ağırlığında 60 adet non-spesifik patojen taşımayan erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Herbiri 12 sıçandan oluşan 5 grup oluşturulmuştur.

1- Deneysel Protokolü

Deneysel kullanılan toplam 60 sıçan 5 gruba ayrıldı. (Tablo 1)

Tablo 1. Deneysel protokolü ve ilaç uygulamaları

Gruplar	Yanık	İlaç	Veriliş yolu	ve doz*	Mortalite
Grup 1	Hayır	Hayır	---	% 0
Grup 2	Evet	Hayır	---	% 0
Grup 3	Evet	L-Arginin	IP	300 mg/kg	% 83
Grup 4	Evet	L-NAME	IP	300 mg/kg	% 0
Grup 5	Evet	L-Arginin+L-NAME	IP	300 mg/kg	% 53

* Tedavi gruplarındaki ilaçlar yanıktan 15 dakika önce verilmiştir.

zı hasarları da önlediği belirlenmiştir.

NO'nun bahsedilen bu özellikleri onun hem aşırı toksik olduğunu göstermekte ve yanıkta kanda ilk 24 saatte çok yüksek düzeylerde olması nedeniyle yanığa karşı bir savunma mekanizması olarak NO oluştuğu fikrini doğrulamaktadır. Hem de ortama çıkan çeşitli mediyatörlerin ve serbest radikallerin nötrleştirilmesinde rol oynadığı, kapiller permeabiliteyi azalttığı ve nötrofil fonksiyonlarını düzelt-

Grup 1 (n:12) Kontrol grubu; sağlıklı ve deney yapılmamış hayvanlarda aşağıdaki parametrelerin normal kontrol değerleri elde edildi. Grup 2 (n: 12) Yanık Kontrol grubunda hiç bir madde (ilaç) verilmeyen bu hayvanlarda sadece %30 yanık oluşturuldu. Grup 3 (n:12) de yanıktan 15 dakika önce hayvanlara 300 mg/kg Periton içi (Pi) L-Arginin verilirken, Grup 4 (n:12) deki deneklere 300 mg/kg, IP, L-Name, grup 5 (n:12) deki deneklere ise yine yanık-

tan 15 dakika önce 300 mg/kg, Pİ, ve L-Name ve 300 mg/kg, Pİ, L-Arginin verildi. Yanıklı grupların tümünde yanıktan sonra 24. saatte aşağıda belirtilen parametreler çalışıldı.

2- Yanık Modeli

Hazırlanan hayvanlara periton içi pentobarbital (40 mg/kg) ve rompum verilerek genel anestezi sağlandı. Ardından hayvanların lumbosakral ve sırt traşları yapıldı. Bu işlemi takiben kontrol grubu (grup 1) dışındaki gruplar, içinde yaklaşık 95°C su bulunan özel olarak hazırlanmış bir kaba yatırıldılar. Burada 12 saniye tutularak toplam vücut alanlarının % 25-30'nu kaplayan III.derece yanık oluşturuldu.¹¹ Resüsitasyon amacıyla periton içi 6 cc. serum fizyolojik verildi. Oluşturulan yanık III. derece olduğu için ağrısızdı.

3- İlaç Tedavisi

Tedavi grubundaki sıçanlara yanıktan 15 dakika önce Pİ yoldan tedavi uygulandı. Uygun konsantrasyonda serum fizyolojikle sulandırılan ajanlar (Tablo 1) 3. gruba 300 mg/kg Pİ L-Arginin (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO), dördüncü gruba 300 mg/kg Pİ L-nitro-L-Arginine methylester (L-NAME) (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO), beşinci gruba 300 mg/kg L-Arginin ve hemen akabinde 300 mg/kg L-NAME beraberce Pİ yoldan hayvanlara tek doz olarak injekte edildi. Kullanılan dozlar literatürde benzeri çalışmalarda kullanılan dozların en üst seviyesinde seçildi. İnjesiyondan 15 dakika sonra tüm hayvanlara belirtildiği gibi %25-30 tam kalınlıkta yanık oluşturuldu. Bundan 24 saat sonra tüm hayvanlar sakrifiye edilerek hepsinde aşağıdaki parametreler çalışıldı.

4- Biyokimyasal analizler

Plazma Tümör Nekroz Faktörü -alfa düzeyi

Plazma Tümör Nekroz Faktör-alfa tayini için hayvandan alınan kuru kan örneğinden soğuk santrifüj ile (+4°C, 800 g, 5 dak.) serum ayrıldı. Ependorf tüplere aligne edilerek derin dondurucuya (-70°C) kondu. Bu örnekler ELISA kiti ile çalışıldı ve son aşamada mikrokuyucuklar 620 nm referans ile 450 nm dalga boyunda optic density (OD) değerlerine karşı gelen TNF-alfa plazma konsantrasyonu pg/ml cinsinden saptandı.¹²

Plazma Malondialdehit düzeyi

Plazma MDA seviyesi tayini için hayvandan alınan EDTA'lı kan örneği santrifüje edilerek, plazması ayrıldı ve -70 dereceye konuldu. Plazmada lipid peroksidasyon ürünü seviyesi (MDA) Satoh tiobarbütirik asit değerlendirme yöntemi ile ölçüldü. Tiobarbütirik asit MDA ile 532 nm.'de maksimum

absorbansı renk veren bir kompleks oluşturur. MDA değerleri plazmada nmol/ml olarak ve 532 nm.'de MDA-TBA kompleksi ekstaksiyon katsayısı $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ kullanılarak hesaplandı.¹³

Plazma Nitrik Oksit düzeyi

Plazma NO seviyesi tayini için hayvandan alınan EDTA'lı kan örneği santrifüje edilerek, plazma ayrıldı ve -70 dereceye konuldu. NO, stabil yıkım ürünleri olan nitrit ve nitratın spektrofotometrik olarak Griess reaksiyonu ile 540 nm. de ölçümü ile saptandı. Sonuçlar nmol/L olarak ifade edildi.¹⁴

Kan yayma nötrofil sayımı

Alınan kan örneğinden bir lama yayma yapıldı. Örnekler kurutulup boyandıktan sonra grupları bilmeyen bir araştırmacı tarafından sayım yapıldı.

Hematokrit

Kapiller tüpe alınan kan santrifüje edildikten sonra skala ile ölçüm yapıldı.

5- Histopatolojik Değerlendirme: Akciğerde biriken nötrofil sayımı

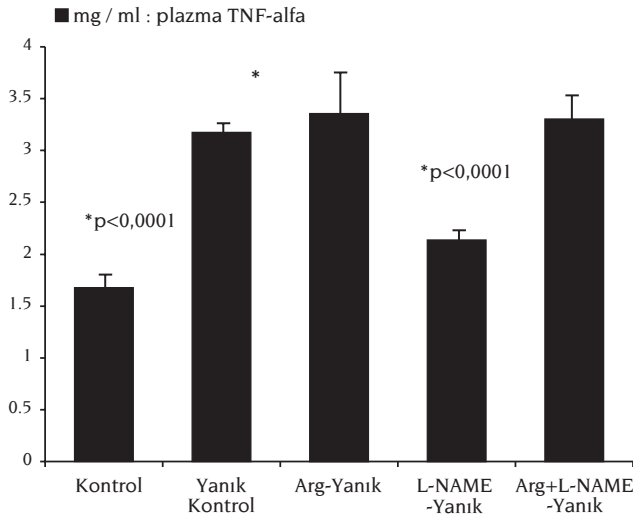
Akciğer doku örneği alındıktan hemen sonra %10 formolde tespit edildi ve parçalar gerekli işlemlerden sonra mikrotom ile yaklaşık 4 mikron kalınlığında kesilerek Hematoksilin-Eosin ile boyandı. Işık mikroskopunda 400'lük büyütmede nötrofiller damar içinde ve dokuda sayıldı. Damar sayımlarında ortalama çapı 20-40 mikron olan 3-5 damarda endotele adezyon gösteren nötrofiller sayıldı ve ortalaması alındı. Doku aralıklarında sayım ise 400 büyütmede 5 ayrı alandaki doku içindeki nötrofiller sayıldı ve ortalaması alındı. Hepsi aynı araştırmacı tarafından gruplar bilinmeksizin sayım yapıldı.

6- İstatistik Değerlendirme

Yazı içinde ve tablolarda değerler "ortalama \pm SEM" (\pm standard error mean) şeklinde kullanılmıştır. Gruplar arasındaki anlamlılık karşılaştırmalarında çift kuyruklu (two tailed student t test) t testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ ve daha küçük değerler anlamlı olarak yorumlanmıştır.

SONUÇLAR

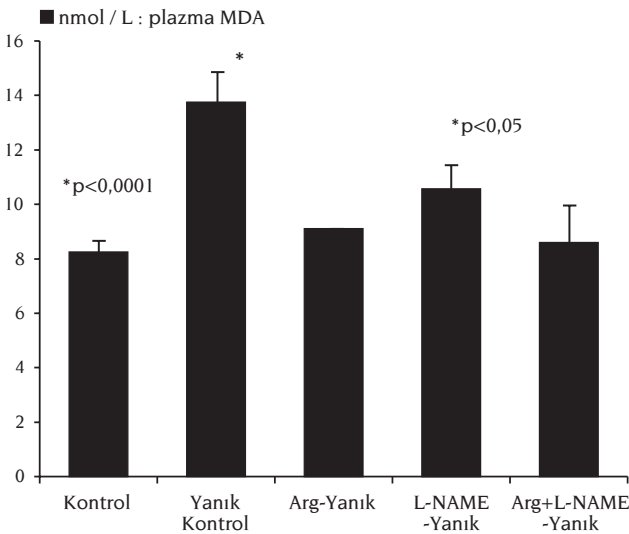
Çalışma gruplarındaki deneklerin %20'si yanıktan sonra çeşitli nedenlerle kaybedildi. Tablo 1. Mortalite oranları Grup 2: %0, Grup 3: %83, Grup 4: %0, ve Grup 5: %58 olarak gelişti. Yanık kontrol grubunda (Grup 2) serum TNF-alfa, serum MDA, kan nötrofil oranında sağlıklı hayvanlara göre (Grup 1) anlamlı yükseliş görüldü. Serum NO düzeyindeki artış anlamlı değil idi. Serum TNF-alfa düzeyleri karşılaştırıldığında (Şekil 1) yanıklı grupta anlamlı



Şekil 1. Tüm gruplarda elde edilen plazma TNF-alfa düzeyleri ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.

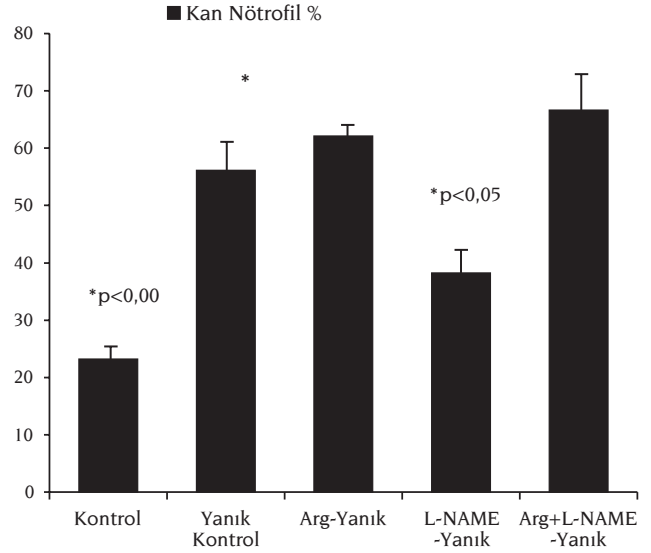
bir yükseliş ($p<0.0001$) görülürken bu yükseliş sadece L-NAME verilen (Grup 4) grupta anlamlı düşüş gösterdi ($p<0.0001$) ve normal düzeye indi. Diğer iki tedavi grubunda TNF-alfa düzeyleri yanık kontrol grubunda olduğu gibi yüksek kaldı.

Tedavi gruplarından sadece L-NAME verilen grupta plazma TNF-alfa, MDA ve kan nötrofil değerlerinde yanık kontrol grubuna (Grup 2) göre anlamlı düşüş görüldü (sırasıyla $p<0.0001$, $p<0.05$ ve $p<0.05$). Plazma MDA değeri yanık kontrol grubunda (Şekil 2) önemli bir artış ($p<0.0001$) gösterdi.



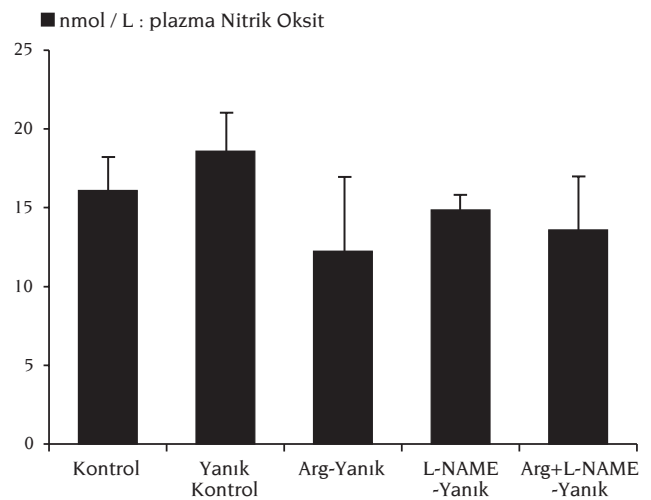
Şekil 2. Tüm gruplarda elde edilen plazma MDA düzeyleri ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.

Tedavi gruplarının üçünde de plazma MDA düzeyleri anlamlı azalma gösterdi ($p<0.05$). Yanık travması nötrofil oranında (Şekil 3) anlamlı artış gösterdi.

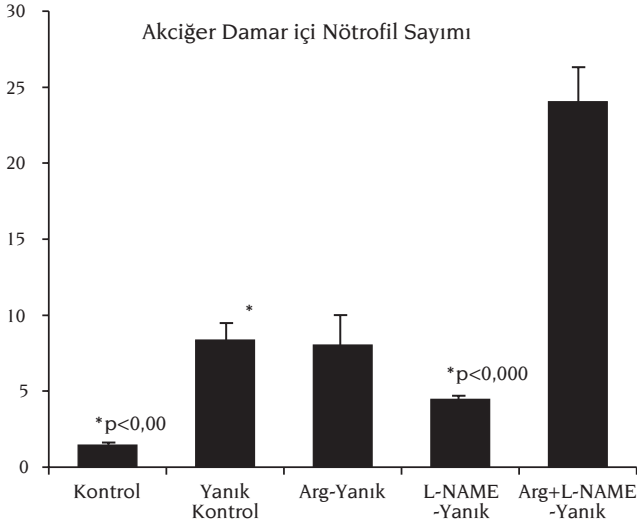


Şekil 3. Tüm gruplarda elde edilen kandaki nötrofil oranları ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.

irken ($p<0.0001$), tedavi gruplarından sadece grup 4'de L-NAME verilen grupta anlamlı düşüş görüldü ($p<0.05$). L-arginin verilen grup 3 ve grup 4'de kan nötrofil düzeyleri yanık kontrol grubu (Grup 2) seviyesinde kaldı. Plazma NO düzeyleri (Şekil 4) tüm tedavi gruplarında yanık kontrol (Grup 2) grubuna kıyasla düşüş göstermesine rağmen bu düşüş an-

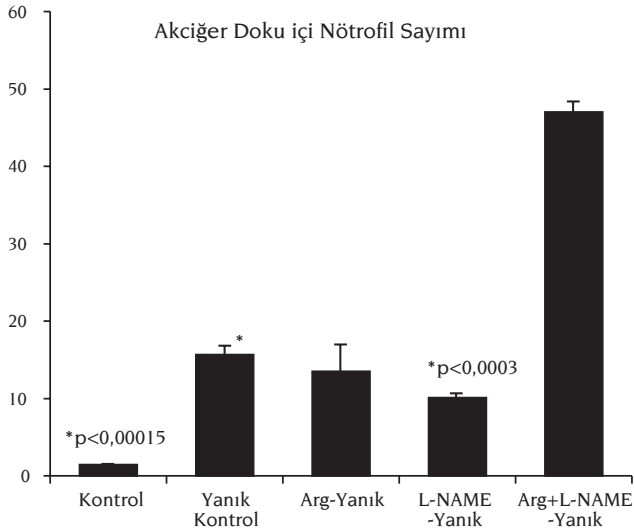


Şekil 4. Tüm gruplarda elde edilen plazma NO sonuçları ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.



Şekil 5. Tüm gruplarda elde edilen akciğerde damar içinde adezyon gösteren nötrofil sayımları ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.

lamli değil idi. Gruplar arasında kan Hct değerlerinde farklılık görülmedi. Akciğerde damar içi (Şekil 5) ve damar dışı, doku (Şekil 6) nötrofil enfiltrasyonu yanıktan sonra belirgin ve anlamlı şekilde artarken, bu artış sadece NO inhibisyonu (Grup 4) yapılan grupta anlamlı olarak düşüş gösterdi ($p<0.0005$ damar içi ve $p<0.0003$ doku).



Şekil 6. Tüm gruplarda elde edilen akciğerde dokusu içinde biriken nötrofil sayımları ve yanık kontrol grubu (*) ile karşılaştırıldığında bulunan anlamlılık değerleri.

TARTIŞMA

Yanık yaralanmasından sonra NO üretimi artar.

Fizyolojik konsantrasyonlarda zararlı olduğu kabul edilmese de aşırı üretimi iskemi-reperfüzyon yaralanması ve endotoksik şokta olduğu gibi doku yaralanmasından sorumlu tutulmaktadır.^{10,15} Muhtemel NO toksisitesi tam olarak ortaya konulmuş olmasına rağmen, NO'nun üretiminin tamamen durdurulması da yararlı olmamaktadır.¹⁶ Kısaca NO, başlangıçta vazodilatör bir ajandır ve enflamatuvar olaylarda ortaya çıkmakta ve mediatör gibi rol oynamaktadır. Serbest radikal gibi hareket etmesinin yanı sıra sitoprotektif olduğu da düşünülmektedir. Ayrıca tromboregülatör olarak bilinmesi ve vasküler tıkanmalara karşı trombosit disaggregasyonunu yönlendirmesi, dolaşım bozukluğuna neden olacak olan trombosit ve lökositlerin endotelial hücrelere adezyonunun inhibisyonunu sağlaması bu tanımını güçlendirmektedir. L-arginin verilerek NO seviyesi artırılan deneklerde daha az ödem, daha az nötrofil enfiltrasyonu ve daha az nekroz ile flaplarda reperfüzyon hasarının azaltılabildiği gösterilmiştir.¹⁵ NO üretiminin artırılması ile doku hasarının azaltılması arasında direkt ilişki kurulmuştur. Bunun aksine olarak Lindblom yanık sıçan modelinde gerçekleştirdiği çalışmada NO öncüsü, L-arginin verildiğinde NO üretiminin artırılarak yanıktaki plazma ekstrasvazasyonunun azaldığını göstermiştir. L-NAME verilmesi ile NO üretimi azaltıldığında ekstrasvazasyon normalde olduğu gibi devam etmiştir.¹⁶ Arginin yarı-esansiyel bir amino asit olup NO üretimi için ana yapı taşıdır. Bunun alımı arttığında oksidatif hasarın da azaltılabildiği gösterilmiştir.¹⁷

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar yanık travmasının ağır bir yaralanma olduğunu tekrar ortaya koymuştur. Yaralanmadan 24 saat gibi kısa bir süre sonra plazma TNF-alfa ve plazma MDA değerleri anlamlı olarak artmıştır. Plazma NO değeri de yanıktan sonra artmış ancak bu çalışmada alınan artış değeri anlamlı bulunmamıştır. Yapılan bir çok deneysel ve klinik çalışmada yanık sonrası erken dönemde akut faz mediatörleri arasında hem yanık bölgesinde hem de plazmada NO hemen hemen her zaman yüksek bulunmuştur.^{5,18} NO sentezinin artırılması yanıkta ekstrasvazasyonu azaltarak ödem gelişimini azaltmakta¹⁷ ve bunun yanı sıra diürez ve proteinüriye yol açmaktadır. Burada kapiller geçirgenlik artışı NO ile azalmaktadır. NO'nun nötrofil adezyonunu azaltıcı özelliği dikkate alındığında bu çalışmanın sonuçları daha anlamlı olmaktadır. Kısmi kalınlıkta yanık alanlara komşu bölgedeki cildin perfüzyonu NO'nun üretiminin engellenmesi ile bozulurken, üretimin artması ile her hangi bir değişiklik olmamaktadır.¹⁹ Bu da NO'nun yanık yarasında ortaya çıktığını muhtemelen doku hasarına katıldığı ancak perfüzyonu farklı yönde et-

kilediğini (muhtemelen bir çok mediatörün salınmasını başlattığını) göstermektedir.

Bu çalışmada yanıktan sonra NO ve TNF-alfa miktarlarındaki artış plazma lipid peroksidasyon değerinin artışına paralel bir seyir izlemiştir. Yine bu enflamatuvar sitokinlerdeki artışa paralel olarak kanda nötrofil yoğunluğu ileri derecede anlamlı olarak artmıştır. Dışardan L-Arginin vererek indüklenebilen NO değeri vucutta yükseltildiğinde mortalitenin aşırı derecede artması ile birlikte plazmada TNF-alfa değeri artarken MDA değeri düşmüştür. Bu sonuçlar Zhang ve Yeh'in bulgularına paralellik göstermektedir.^{20,21} Bu grup için örnek sayısının oldukça azalmış olmasına rağmen L-arginin'in lipid peroksidasyonunu muhtemelen kan antioksidan seviyesini arttırarak yavaşlattığını ancak nötrofil stimülasyonunu azaltmadığı aksine minimal de olsa arttırdığını tespit ettik. Grup 4 de yani NO-antagonisti verilen bu grupta plazma TNF-alfa ve MDA değerlerinde yanık kontrol grubuna göre anlamlı düşüşler olduğu gözlenmiştir. Bu düşüşler lipid peroksidasyonunun azaldığını göstermektedir. NO antagonist tedavinin yanıkta daha etkili ve faydalı olduğu görülmüştür. Bu grupta yine nötrofil oranının artmadığı ve akciğer dokusu nötrofil infiltrasyonu sayımında hem damar içi hem de damar dışı enflamasyonun azaldığı dikkati çekmektedir. Bu bulgu Soejima'nın bulgularına para-

lellik göstermektedir. Bu araştırıcı da NO oluşumunun önlenmesi ile enflamatuvar sitokinlerin neden olduğu kardiyak kontraktıl disfonksiyonun azaltılabildiğini göstermiştir.²

Her iki ajanın hayvanlara verildiği beşinci grupta ise plazma TNF-alfa değeri yanık kontrol grubunda olduğu gibi yüksek kalmıştır. Plazma MDA değerinde anlamlı düşüş gözlenirken nötrofil oranı hem kanda hem de akciğer dokusunda yine artmış ve bu artış yanıklı hayvanlardaki artışla hemen hemen aynı seviyede olmuştur. Bu grupta da mortalitenin yanık kontrol grubuna oranla oldukça yüksek olması, ancak sadece L-arginin verilen gruba oranla daha iyi olması dışardan sağlanan NO'nun fayda değil yanıkta daha zararlı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma: yanıktan sonra oluşan ve kanda seviyesi artan NO miktarının indüklenecek artırılması ile lipid peroksidasyonun azalabileceğini ortaya koymuş ancak mortalite ile birlikte plazma TNF-alfa ve nötrofil sayısının arttığını göstermiştir. NO antagonist tedavinin ise daha yararlı olduğu açıkça ortaya çıkmıştır. Bu tedavilerin yanıktan önce değil de yanıktan sonra verilerek etkisinin araştırılması ve ayrıca diğer önemli vital parametreler üzerine etkisinin takip edilmesi yanıkta NO metabolizması hakkında daha geniş bilgiler verecektir. Ancak bu çalışmalardan sonra klinikte bu tür tedaviler denenmeye başlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Becker WK, Shippee RL, Mc Manus AT, et al. Kinetics of nitrogen oxide following experimental thermal injury in rats. *J Trauma*. 1993; 34: 855 - 862.
2. Soejima K, Schmalstieg, Traber LD, et al. Role of nitric oxide in myocardial dysfunction after combined burn and smoke inhalation injury. *Burn*. 2001; 27: 809 - 813.
3. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY, et al. The protective effect of L-arginine on ischemia reperfusion injury in rat skin flap. *Plast Reconstr Surg*. 1997; 100: 1227 - 1233.
4. Shridan RL, Tompkins RG. Etiology and prevention of multisystem organ failure. In: Hendon DN. ed. *Total Burn Care, Chapter 29*, London, WB Saunders 1996: 302-312.
5. Sozumi T. The role of nitric oxide in vascular permeability after a thermal injury. *Ann Plast Surg*. 1997; 39: 272-277.
6. Gamelli RL, George M, Sharp-Pucci M, et al. Burn-induced nitric oxide release in humans. *J Trauma*. 1995; 39: 869-878.
7. Preiser JC, Reper P, Vlasselaer D, et al. Nitric Oxide production is increased in patients after burn injury. *J Trauma*. 1996; 40: 368-371.
8. Nakae H, Endo S, Inada K. et al. Are nitrite/nitrate (NOx) levels elevated by inhalation injury? *Burns*. 2000; 26: 515-519.
9. Cordeiro PG, Santamaria E, Hu QY. Use of a nitric oxide precursor to protect pig myocutaneous flaps from ischemia-reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg*. 1998; 102: 2040-2051.
10. Oshima H. The influence of skin flap ischemia on serum nitric oxide concentrations. *Microsurgery*. 1996; 17: 191-197.
11. Walker HL, Mason AD. A standard animal burn. *J Trauma*. 1968; 8:1049-1051.
12. Bender Med Systems Diagnostics GmbH, Rennweg 95b A-1030 Vienna, Austria Europe. Cat No: BMS 622.
13. Yoshioka T, Kawaka K, Shimada T, et al. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanisms against achieved oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*. 1979; 135: 372-376.
14. Grisham MB, Johnson GG, Gautreaux MD, et al. Measurement of nitrate and nitrite in extracellular fluids: A window to systemic nitric oxide metabolism. *Methods*. 1995; 7: 84-90.

Yanıkta Nitrik Oksit Üretiminin Desteklenmesi Veya Azaltılmasının İskemik ...

15. Lovett JE, Fink BF, Bernard A, et al. Analysis of nitric oxide activity in prevention of reperfusion injury *Ann Plast Surg.* 2001; 46: 269- 274.
16. Lindblom L, Cassuto J, Yregard L, et al. Importance of nitric oxide in the regulation of burn oedema, proteinuria and urine output. *Burn.* 2000; 26; 13-18.
17. Tsai HJ, Shang HF, Yeh CL, et al. Effects of arginine supplementation on antioxidant enzyme activity and macrophage response in burned mice. *Burns.* 2002; 28: 258-263.
18. Onuoha G, Alpar K, Jones I. Vasoactive intestinal peptide and nitric oxide in the acute phase following burns and trauma. *Burns.* 2001; 27: 17-21.
19. Lindblom L, Cassuto J, Yregard L, et al. Role of nitric oxide in the control of burn perfusion. *Burn.* 2000; 26; 19-24.
20. Zhang B, Huang YH, Chen Y, et al. Plasma tumor necrosis factor-alpha, its soluble receptors and interleukin-1 beta levels in critically burned patients. *Burns.* 1998; 24:599-603.
21. Yeh FL, Lin WL, Shen HD, et al. Changes in serum tumour necrosis factor-alpha in burned patients. *Burns.* 1997; 23: 6-10.

¹Genel Cerrahi Uzmanı, İstanbul. Büyükşehir Belediyesi, Sağlık İşleri Müdürlüğü, Şehzadebaşı Tıp Merkezi

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif, Cerrahi Anabilim Dalı

³İstanbul Üniversitesi, DETAE, İmmunoloji Anabilim Dalı

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

⁵İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Patoloji Bölümü

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü, Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

(1062/031297 sayılı ve “yanıktan sonra sistemik hasarın azaltılmasına yönelik Nitrik oksit ve antagonistlerinin sıçan modelinde araştırılması” başlıklı proje)

Yazışma Adresi: Dr. Oğuz Çetinkale

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D., KMP İSTANBUL
E-mail: droguz@istanbul.edu.tr