

# Organ Koruma Sıvısı Hazırlamak için Basit Bir Yöntem

## A Simple Method to Prepare an Organ Preservation Solution

Dr. Ali YEĞİNSU,<sup>a</sup>  
Dr. Makbule ERGİN,<sup>a</sup>  
Dr. Hüseyin ÖZYURT,<sup>b</sup>  
Dr. Çiğdem ELMAS,<sup>c</sup>  
Dr. Güleser ÇAĞLAR GÖKTAŞ,<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Göğüs Cerrahisi AD,

<sup>b</sup>Biyokimya AD,

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Tıp Fakültesi, Tokat

<sup>c</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD,

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Ankara

Geliş Tarihi/Received: 12.08.2008

Kabul Tarihi/Accepted: 04.11.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:

Dr. Ali YEĞİNSU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi AD,

Tokat,

TÜRKİYE/TURKEY

yeginsu@hotmail.com

**ÖZET Amaç:** Çalışmamızın amacı basit, ucuz ve kolay hazırlanabilen bir organ koruma sıvısı elde etmektir. **Gereç ve Yöntemler:** Organ koruma sıvısı halen klinik kullanımda olan bazı parenteral sıvılar ve ilaçlar kullanılarak hazırlandı. 24 adet sıçan kalp-akciğer bloğu çıkarıldı ve 4 gruba bölündü (n= 6). Kontrol grubunda akciğer blokları izotonik ile perfüze edildikten hemen sonra tetkikler için saklandı. Diğer gruplarda akciğer blokları düşük potasyumlu dekstran (Perfadeks), Wiskonsin Üniversitesi (UWS) ve bizim hazırladığımız (GOPOKS) solüsyonlarla perfüze edildikten sonra yine bu solüsyonlar içerisinde 24 saat muhafaza edildiler. Hücre ölümü, dejenerasyon, sitokin düzeyleri, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri araştırıldı ve maliyetler değerlendirildi. **Bulgular:** Organ koruma solüsyonları arasında hücre ölümü ve dejenerasyon şiddeti açısından bir fark bulunmadı (p>0.05). İnterlökin-8 düzeyleri UWS'de diğer organ koruma solüsyonlarına oranla daha yüksekti (p< 0.05) ancak Perfadeks ile GOPOKS arasında fark bulunmadı. Süperoksit dizmutaz düzeyleri GOPOKS'ta diğer organ koruma solüsyonlarına kıyasla daha düşüktü (p< 0.05). GOPOKS'un maliyeti Perfadeks ve UWS'ye göre oldukça ucuzdu (25-30 TL/L'ye karşın sırasıyla 400-500 TL/L ve 700-800 TL/L). **Sonuç:** GOPOKS, Perfadeks ve UWS kadar iyi bir organ koruma sıvısıdır. GOPOKS oksidatif strese karşı diğer organ koruma sıvılarından daha iyi bir koruma sağlamaktadır. Ayrıca GOPOKS diğer organ koruma sıvılarına kıyasla oldukça ucuzdur. İlk sonuçlarımıza göre, GOPOKS deneysel çalışmalarda rahatlıkla kullanılabilir, ancak klinik kullanım için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Organ nakli; organ koruma solüsyonu; akciğer; Perfadeks; sıçan

**ABSTRACT Objective:** The purpose of this study was to provide an inexpensive and easy method to prepare organ preservation solution. **Material and Methods:** The organ preservation solution was prepared by using solutions and drugs, which are still used in clinical practice. Twenty-four rat heart-lung blocks were removed and were randomly divided into 4 groups (n= 6). In the control group, lung blocks were perfused with isotonic saline solution and were immediately processed for examinations. In the other three groups, lung blocks were perfused with low potassium dextran (Perfadex), University of Wisconsin (UWS) and the solution prepared by us (GOPOKS), respectively and they were preserved in these solutions for 24 hours. Cell death, degeneration, cytokin level, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities were studied, and the costs were evaluated. **Results:** No difference between the groups was found regarding severity of cell death and degeneration (p> 0.05). IL-8 level was significantly higher in the UWS group than in others (p< 0.05); however, there was no difference between Perfadex and GOPOKS. SOD activity was significantly lower in the GOPOKS as compared to others (p< 0.05). In addition, the cost of GOPOKS was much lower than that of Perfadex and UWS (25-30 TL/L vs. 300-400 L/lt and 700-800 TL/L, respectively). **Conclusion:** In this study, as an organ preservation solution, GOPOKS proved as good as Perfadex and UWS. GOPOKS provided better preservation against oxidative stress as compared to the others. Additionally, GOPOKS was much cheaper than other organ preservation solutions examined in this study. According to initial results, GOPOKS can be used in experimental studies without any concern; however, further studies are required before use in clinical practice.

**Key Words:** Organ transplantation; organ preservation solutions; lung; Perfadex; rat

**A**kcığer nakli, son dönem akciğer yetmezliklerinin tedavisinde halen tek ve en etkili tedavi yöntemidir. Verici akciğerinin iyi korunması akciğer naklinin başarısını artıran faktörlerden birisidir.<sup>1</sup> Ayrıca organın transplantasyon öncesi korunmasında organ koruma (OK) solüsyonları çok önemlidir.

OK solüsyonları, vericiden alıcıya nakledilene kadar geçen sürede, organın canlılığını ve metabolizmasını korumak ve nakledildikten sonra da iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak için kullanılan solüsyonlardır. OK sıvılarının içeriğinin mantığı tüm OK sıvıları için hemen hemen aynıdır. Bütün OK sıvıları oranları değişmekle birlikte temel olarak; elektrolitler (Na, K, Cl, Gukonat, Mg), asiditeyi düzenleyiciler (sülfat, bikarbonat, fosfat, laktobiyonat), şeker (glukoz, trehaloz, rafinoz), kolloid (HES, Dextran), serbest oksijen radikal temizleyicileri (N-asetilsistein, allopürinol, glutatyon) ve diğer bazı maddeler içerirler.

Elektrolitlerin kullanılmasında amaç, hücre içi ve dışı ortamdaki elektrolit dengesini korumaktır. Soğuk organ korumada Na-K ATPaz pompasının fonksiyonu azalır.<sup>2</sup> Na ve Cl hücre dışı ortamdaki hücre içine geçerken beraberinde su da çeker. Bu durum hücre ödemine neden olur. Bazı OK sıvılarında Cl yerine glukonat kullanılmaktadır.<sup>1</sup> Yüksek potasyumlu ve kalsiyum içeren sıvıların damarlarda kasılmaya neden olarak negatif bir etki yarattıkları tespit edilmiştir.<sup>3</sup> Bu nedenle OK sıvıları genelde kalsiyum içermezler.

Sakkaridlerin dokuda ödem oluşumunu engellediği ve membran geçirgenliğini azalttığı bildirilmiştir. Sakkaridlerin diğer bir görevi de hücreye enerji sağlamaktır.<sup>1</sup> Disakkarid ve polisakkaridlerin hücre koruyucu etkilerinin glukozla göre daha iyi olduğunu bildiren yayınlar vardır.<sup>4,5</sup>

Kolloidlerin kullanım amacı, sıvının ozmolaritesini ayarlamaktır. Akciğeri korumada kolloid olarak dekstran kullanılmasının bazı avantajları bilinmektedir. Dekstranın trombosit agregasyonunu engellemek, endoteli korumak, lökosit kemotaksisini süprese etmek gibi üstünlükleri olduğu bildirilmiştir.<sup>6-8</sup>

Serbest oksijen radikal temizleyicileri oksijen radikallerinin hücreye verdiği zararı engellemeye yönelik olarak kullanılmaktadır.<sup>1</sup> Bunların dışında, nitrogliserin (NO sağlayıcı olarak), dibütiril cAMP (cMAP analogu olarak), mannitol, histidin, triptofan, ketoglutarat gibi kimyasallar da değişik amaçlarla OK sıvılarında kullanılmaktadır.<sup>3,9,10</sup> Bununla birlikte, ideal OK sıvısı geliştirme çalışmaları halen devam etmektedir.

Bizim amacımız, ucuz ve basit hazırlanabilen bir OK sıvısı elde etmektir. Bu amaçla halen klinik kullanımda olan OK sıvılarının bileşimlerini inceledik ve bu bileşimlere yakın bir organ koruma sıvısını elde etmek için halen klinik kullanımda olan bazı solüsyon ve ilaçlardan değişik oranlarda karışımlar hazırladık. Elde ettiğimiz nihai karışımın etkinliğini Perfadeks ve UWS solüsyonları ile karşılaştırdık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Denekler

Çalışmada 24 adet 280-320 gr ağırlığında Wistar cinsi, erkek sıçan kullanıldı. Çalışma üniversitemizin Etik Kurulu tarafından onaylandı. Sıçanlar Üniversitemizin Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlandı. Sıçanların bakımı "Laboratuvar hayvanları kullanım ve bakım kılavuzu"na uygun olarak yapıldı.<sup>11</sup>

### Organ Koruma Solüsyonları

Perfadeks (Vitrolife, İsveç) bu çalışma için Vitrolife firmasından ücretsiz olarak temin edildi, UWS (ViaSpan, USA) ticari olarak satın alındı.

Geliştirdiğimiz organ koruma sıvısı (GOPOKS) Üniversitemizin Biyokimya laboratuvarında hazırlandı. Nihai solüsyonun hazırlanmasında 800 mL dengeli elektrolit solüsyonu (Isolyte-S, Eczacıbaşı-Baxter, İstanbul, Türkiye), 200 mL Rheomacrodex (Eczacıbaşı-Baxter, İstanbul Türkiye), 1 ampul asetilsistein (Asist, Hüsnü Arsan İlaçları, İstanbul, Türkiye), 1 ampul molar sodyum bikarbonat (Haver İlaç, İstanbul Türkiye) ve 10 g saf glukoz kullanıldı. Kullanılan ilaçların bileşimleri Tablo 1'de verilmiştir.

Nihai solüsyonun biyokimyasal içeriği: Na= 163 mM/L; K= 4.1 mM/L, Cl= 108, glukonat= 20 mM/L,

**TABLO 1:** Organ koruma sıvısı hazırlamak için kullanılan serum ve ilaçların bileşimleri.

Kullanılan ilaç/serum	Bileşimi	Miktarı**
Isolyte-S solüsyon*		(800 mL)
	Magnezyum klorür 6H <sub>2</sub> O	30 mg
	Potasyum klorür	37 mg
	Sodyum asetat. 3H <sub>2</sub> O	370 mg
	Sodyum klorür	530 mg
	Sodyum glukonat	500 mg
	Monobazik potasyum fosfat	0.82 mg
	Dibazik sodyum fosfat.7H <sub>2</sub> O	12 mg
Reomakrodeks 40 solüsyon		(200 mL)
	Dekstran	10 gr
	Sodyum klorür	0.9 gr
Sodyum bikarbonat ampul		1 ampul
	Molar sodyum bikarbonat	0.84 mg
Asetilsistein ampul		1 ampul
	Asetilsistein	30 mg
Glukoz		1 gr

\* Solüsyonun elektrolit yoğunlukları (mEq/L): Sodyum: 141; Asetat: 27; Fosfat: 1; Magnezyum 3; glukonat: 23; Klorür 98.

\*\* Her 100 mL solüsyondaki bileşen miktarı.

asetat= 26 mM/L; Mg= 2.7 m M/L, bikarbonat= 8.4 mM/L, fosfat= 0.5 mMol/L, glukoz= 10 g/L, N-asetilsistein= 300 mg/L, dekstran 40= 20 g/L, ozmolarite= 290-310 mOsm, pH= 7.8 olarak ölçüldü. solüsyon kullanılmadan 24 önce steril ortamda hazırlandı ve +4 °C'de muhafaza edildi. GOPOKS ve diğer bazı OK sıvılarının bileşimleri Tablo 2'de verilmiştir.

### Cerrahi Yöntem

Sıçanlar 30 mg/kg intraperitoneal sodyum pentotal ile uyutulduktan sonra trakeostomi yapılarak uygun ölçüde anjiyokat ile entübe edildi ve ventilatöre (Harvard Instruments Inspira ASV, MA, USA) bağlandı. 70/dk solunum, 10 mL/kg tidal volüm 2 cm H<sub>2</sub>O PEEP ile oda havasında solunum yaptırıldı. Daha sonra median laparosternotomi yapılarak 50 U heparin intrakardiyak olarak verildi. 5 dk bekledikten sonra vena kava inferior, sağ ve sol atriyum apeksleri kesildi, ana pulmoner arter kesilerek 14 F anjiyokat ile kanüle edildi. AC bu kanül yardımı ile 20 mL 4°C'de OK solüsyonu ile 20 cm H<sub>2</sub>O basınçla perfüze edildi. Perfüzyon sırasında ventilasyon devam ettirildi. Perfüzyondan hemen sonra trakea akciğerler inspirasyonda iken bağlandı. Kalp ve akciğerler blok olarak çıkarıldı ve 4°C 40 mL OK so-

lüsyonu içerisinde 24 saat saklandı. Cerrahi işlem yaklaşık 10-15 dk, ventilasyon ise yaklaşık 15-20 dk sürdü.

### Gruplar:

**1- Kontrol grubu (n= 6):** AC bloğu izotonik NaCl ile perfüzyon sonrası hemen tetkikler için hazırlandı. 24 saat soğuk iskemik koruma uygulanmadı. Sol akciğer hücre ölümünün değerlendirilmesi için kullanıldı. Sağ akciğer -80 derecede muhafaza edilerek malondialdehid (MDA), antioksidan enzim ve interlökin (IL)-8 düzey tespiti için kullanıldı.

**2- Perfadeks grubu (n= 6):** AC bloğu perfadeks ile perfüzyon sonrasında 24 saat 4°C perfadeks solüsyonu içerisinde bekletildi.

**3- GOPOKS grubu (n= 6):** AC bloğu GOPOKS ile perfüzyon sonrasında 24 saat 4°C GOPOKS solüsyonu içerisinde bekletildi.

**4- UWS grubu (n= 6):** AC bloğu UWS ile perfüzyon sonrasında 24 saat 4°C UWS solüsyonu içerisinde bekletildi.

**TABLO 2:** GOPOKS ve diğer bazı organ koruma solüsyonlarının bileşimleri.

Bileşim	Etki	Perfadeks	GOPOKS	UWS
Sodyum*	Kasyon	149	163	30
Potasyum*	Kasyon	3.7	4.1	125
Glukonat*	Anyon	---	20	---
Klor*	Anyon	100	108	---
Magnezyum*	Kasyon	1.4	2.7	5
Sülfat*	AD	---	---	5
Bikarbonat*	AD	---	8.4	---
Fosfat*	AD	34	0.5	25
Asetat*	AD	---	26	---
Laktobiyonat*	AD	---	---	100
Dekstran 40**	Kolloid	20	20	---
HES**	Kolloid	---	---	50
Glukoz**	Şeker	---	10	---
Raffinoz*	Şeker	---	---	30
Trehaloz*	Şeker	---	---	---
Asetilsistein**	AO	---	0.3	---
Adenozin*	Enerji	---	---	5
Allopurinol*	AO	---	---	1
Glutatyon *	AO	---	---	3
pH	---	5.8	7.8	7.4
Ozmolarite (mOsm)	---	290	290-310	320

\*: mM/L; \*\*: g/L; E-C: Euro-Collins solüsyonu; ET-Kyoto: Ekstrasellüler tip Kyoto solüsyonu; HES: Heksaetil nişasta solüsyonu; AD: Asidite düzenleyici; AO: Antioksidan.

**Ölçülen Parametreler:** Sol akciğer hücre ölümünün değerlendirilmesi için kullanıldı. Sağ akciğer -80 derecede muhafaza edilerek MDA, antioksidan enzim ve IL-8 düzey tespiti için kullanıldı.

#### Hücre Ölümünün ve Dejenerasyonun Histolojik Değerlendirilmesi

Sol AC'ler, 500 mmol/L Trypan mavisinin 20 mL Krebs-Henseleit solüsyonunda çözülmesiyle elde edilen sıvıyla 5 dk süresince pulmoner arterden perfüze edildi. Perfüzyon sonrasında 20 mL %0.9 izotonik NaCl ile pulmoner arterden perfüzyon ile yıkama yapıldı. Sonra AC'ler %10 formalinde en az 48 saat bekletildi. Dokular daha sonra tekrar eozin ile boyandı ve böylece Trypan mavisi ile boyanan ölü hücreler (mavi renkli) ile Eozinle boyanan canlı hücreler (pembe renkli) ayırt edildi. Sayım, 40 büyütme ile her slaytta rastgele seçilen 10 ayrı alandaki hücreler sayılarak yapılmıştır. Trypan mavisi ile boyanan ölü hücrelerin canlı hücrelere oranı stereolojik olarak ölçüldü.

Dejenerasyonun değerlendirilmesinde, dokular Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra tüm slaytlar fotomikroskop (DM 4000 B, Leica, Weetlar, Germany, DFC280 Plus Camera, Leica, Weetlar, Germany) ile değerlendirildi. On adet slayttan rastgele seçilen 10'ar alandaki hücrelerde infiltrasyon, terminal bronş duvar hasarı ve debris, respiratuar bronş duvar hasarı ve debris ve alveoler dejenerasyon değerlendirildi. Bulgular, 1= yok, 2= hafif; 3= orta ve 4= şiddetli olarak derecelendirildi. Her deneye ait ortalama skor kaydedildi.

#### Doku Malondialdehid, Antioksidan Enzim ve Sitokin Düzeyi Ölçümü

Süperoksit dizmutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntemle, sitokinlerden IL-8 düzeyi ELISA yöntemiyle ölçüldü.<sup>12-14</sup>

#### İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS 10.0 istatistik paket programı ile değerlendirildi. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SS) olarak alındı. Gruplar arası karşılaştırmalarda nonparametrik Kruskal Wallis

testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı. 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı olarak kaydedildi.

## BULGULAR

Hücre ölümü oranı tüm OK sıvılarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksekti. UWS'te hücre ölümü diğer OK sıvılarına göre daha yüksek olmakla birlikte anlamlı fark yoktu. Organ koruma solüsyonları arasında dejenerasyon açısından bir fark bulunmadı ( $p=0.867$ ). IL-8 düzeyleri UWS'de diğer organ koruma solüsyonlarına oranla daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Perfadeks ile GOPOKS grubunda IL-8 düzeyleri kontrol grubuna nazaran daha yüksek olmakla birlikte anlamlı fark görülmedi. SOD aktivitesi GOPOKS'ta diğer organ koruma solüsyonlarına ve kontrol grubuna kıyasla daha düşüktü ( $p<0.05$ ), GPX aktivitesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olmakla birlikte sadece UWS grubunda anlamlı olarak farklıydı. İstatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

## TARTIŞMA

Çalışmamızın sonuçları hazırlamış olduğumuz OK sıvısı GOPOKS'un organ korumada diğer sıvılar kadar etkin olduğunu göstermiştir. 24 saatlik iskemik akciğer koruma sırasında akciğer dokusunda gelişen hasarın şiddetinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

İdeal OK sıvısının elde edilmesi için tüm dünyada çalışmalar devam etmektedir. İdeal bir akciğer koruma sıvısı koruma periyodu süresince akciğeri olabildiğince canlı tutabilmeli, doku ve hücrelerin yapısını korumalı ve transplantasyon sonrasında gelişebilecek hasara karşı da koruyucu olabilmelidir. Bununla birlikte maliyeti de düşük olmalıdır. GOPOKS, hücre canlılığını ve yapısını en az diğer OK sıvıları kadar iyi korumuştur. Bununla birlikte, GOPOKS'un maliyeti 25-30 TL/L civarında iken, perfadeks 400-500 TL/L, UWS ise 700-800 TL/L civarındadır.

Hazırlamış olduğumuz OK solüsyonu ekstrasellüler tip (düşük potasyumlu ve yüksek sodyumlu) bir solüsyondur. Ekstrasellüler OK solüsyonlarının akciğer dokusunda, intrasellüler tip (yük-

**TABLO 3:** Değişik organ koruma sıvılarının (Perfadeks, GOPOKS ve UWS) karşılaştırılması.

Parametreler	Kontrol	Perfadeks	GOPOKS	UWS	P
Ölü hücre	2.3 ± 0.4	33 ± 5	32 ± 3	37 ± 3	<0.001*
Dejenerasyon	1.1 ± 0.4	1.3 ± 0.5	1.1 ± 0.4	1.1 ± 0.4	<0.867
İL-8	49 ± 19	63 ± 20	70 ± 21	114 ± 14	<0.001*
MDA	1624 ± 233	1931 ± 260	1917 ± 258	2108 ± 371	<0.001*
SOD	503 ± 90	776 ± 99	345 ± 96	487 ± 59	<0.001*
GPX	16327 ± 1889	23083 ± 669	20668 ± 5293	26933 ± 10626	0.028*

**İkili karşılaştırmalar:** Ölü Hücre: Kontrol-Perfadeks= <0.001\*; Kontrol-GOPOKS= <0.001\*; Kontrol-UWS= <0.001\*; Perfadeks-GOPOKS= 1.000; Perfadeks-UWS= 0.663; GOPOKS-UWS= 0.503; **Dejenerasyon:** Kontrol-Perfadeks= 0.699; Kontrol-GOPOKS= 1.000; Kontrol-UWS= 1.000; Perfadeks-GOPOKS= 0.699; Perfadeks-UWS= 0.699; GOPOKS-UWS= 1.000; **İL-8:** Kontrol-Perfadeks= 0.093; Kontrol-GOPOKS= 0.132; Kontrol-UWS= 0.002\*; Perfadeks-GOPOKS= 0.699; Perfadeks-UWS= 0.002\*; GOPOKS-UWS= 0.002\*; **MDA:** Kontrol-Perfadeks= 0.132; Kontrol-GOPOKS= 0.041\*; Kontrol-UWS= 0.015\*; Perfadeks-GOPOKS= 0.937; Perfadeks-UWS= 0.310; GOPOKS-UWS= 0.180; **SOD:** Kontrol-Perfadeks= 0.002\*; Kontrol-GOPOKS= 0.009\*; Kontrol-UWS= 0.699\*; Perfadeks-GOPOKS= 0.002\*; Perfadeks-UWS= 0.002\*; GOPOKS-UWS= 0.041\*; **GPX:** Kontrol-Perfadeks= 0.132; Kontrol-GOPOKS= 0.180; Kontrol-UWS= 0.002\*; Perfadeks-GOPOKS= 0.589; Perfadeks-UWS= 0.485; GOPOKS-UWS= 0.240.

Kısaltmalar: İL-8: İnterlökin-8; MDA: Malondialdehid; SOD: Süperoksit dismutaz; GPX: Glutatyon peroksidaz.

Birimler: İL-8: pg/ml; SOD: U/g.protein; GPX: U/mg.protein

\*: İstatistiksel olarak anlamlı.

sek potasyumlu) OK solüsyonlarına kıyasla daha iyi koruma sağladığı bildirilmiştir.<sup>1,3,14</sup> Yüksek potasyum pulmoner damarlarda vazokonstrüksiyona neden olmaktadır, ki bu transplantasyon sonrasında gelişmesi istenmeyen bir durumdur. Aynı vazokonstrüktif etki kalsiyum varlığında da ortaya çıkmaktadır.<sup>15</sup> Bu nedenle GOPOKS'u hazırlarken dengeli elektrolit içeren isolyte-S solüsyonunu tercih ettik çünkü potasyum düzeyi düşüktü ve kalsiyum içermiyordu.

Kolloid kaynağı olarak dekstran 40 içeren reomakrodeks solüsyonu kullanıldı. Dekstran 40'ın mikrosirkülasyonu artırdığı, eritrositlerin agregasyonunu engellediği ve deformasyon kabiliyetini artırdığı ve antitrombotik etkilerinin olduğu bildirilmiştir.<sup>6-8</sup> solüsyonun asiditesini dengelemek için sodyum bikarbonat, antioksidan etkinliği sağlamak için asetilsistein ve son olarak da enerji kaynağı ve endotelial bariyer desteği vazifesi gören glukoz (glukoz tolerans testinde kullanılan saf glukoz) kullandık. Saydığımız bileşenlerin tercih etmemizin nedeni hepsinin kolayca elde edilebilen, ucuz ve klinikte halen kullanılan OK solüsyonlarının bileşiminde bulunan maddeler olmasıydı. Biz bu çalışmada, herkesin kolayca elde edebileceği malzemelerden hazırlanan basit ama diğer OK solüsyonları kadar etkin bir OK solüsyonu yapmayı amaçladık. Hazırlamış olduğumuz bu solüsyon, el-

de ettiğimiz ilk sonuçlara göre, akciğer dokusunu diğer OK solüsyonları kadar başarılı şekilde korumaktadır. Bu nedenle, bize göre bu solüsyon en azından deneysel çalışmalarda kullanılmaya uygundur, ancak klinik kullanım için birçok çalışmanın yapılması gereklidir.

Yapmış olduğumuz çalışma akciğerin dokusunun korunması sonrasında akciğerde gelişen hasarı tespit etmek için tasarlanmıştır ancak, transplant sonrası hasarın derecesini tespit etmeye yönelik bir çalışma değildir. Bu durum çalışmanın bir eksikliği olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, yapmış olduğumuz tetkikler transplant sonrası gidişat ile ilgili dolaylı olarak bize fikir verebilir.

Hücre canlılığının transplant sonrası greft disfonksiyonu gelişiminde belirleyici bir faktör olduğu bildirilmiştir.<sup>16</sup> Fischer ve ark., akciğer dokusunu korumanın erken dönemlerinde (6-12 saat) hücre ölümünün %3'ten az olduğunu, ancak 24. saatte bu oranın %27 olduğunu göstermişlerdir.<sup>16</sup> Yine aynı çalışmanın sonuçlarına göre, hücre ölümü ile transplant sonrası greft disfonksiyonu arasında doğrudan bir bağlantı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, 24 saatlik iskemik korumada perfadeks, GOPOKS ve UWS'te hücre ölümü oranları sırasıyla %33, %32 ve %37 olarak bulundu. Bu bulgular literatür bilgisinin teyidi niteliğindedir.

Fisher ve ark., verici akciğerindeki IL-8 düzeylerinin yüksek olmasının transplantasyon sonrası erken dönem greft yetmezliği ile ilişkili olduğunu bildirdiler.<sup>17</sup> Kaneda ve ark., verici akciğerindeki sitokin m-RNA ekspresyonlarının yükselmesi ile transplant sonrası ölüm arasında ilişki olduğunu gösterdiler.<sup>18</sup> IL-6, IL-8, TNF alfa ve IL-1b mortalite için risk oluştururken, IL-10 ve IFN- $\gamma$ 'nin koruyucu etkisi olduğunu belirttiler.

Arbak ve ark., 24 saatlik korumadan sonra akciğerdeki alveoler morfolojik değişikliklerin belirleştiğini bildirmişlerdir.<sup>19</sup> Işık mikroskopisinde, tip 2 pnömositlerde lamellar dejenerasyon, tip 1 pnömositlerde hasar, sitoplazmada vakuolleşme, kapiller endotelial kontraksiyon, endotelial vakuolleşme ve perikapiller ödem gibi bulgular ortaya çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda dejenerasyon gelişimi tüm OK sınırlarında hafif derecede ortaya çıkmıştır.

Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir.<sup>20</sup> Antioksidan enzim aktivitesi oksidatif stres gelişiminin indirekt bir göstergesidir. Antioksidan ak-

tivitinin akciğer koruma sırasında arttığı gösterilmiştir.<sup>21</sup> Çalışmamızda 24 saatlik koruma sonrasında GOPOKS grubunda SOD aktivitesinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu da GOPOKS'un bazı serbest oksijen radikallerine karşı diğer OK sınırlarına kıyasla daha iyi bir koruma sağladığını göstermektedir. Bu etkinin GOPOKS'un içeriğinde bulunan N-asetil sisteinin antioksidan etkinliğine bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz ilk sonuçlara göre, kliniğimizde hazırlanan GOPOKS oldukça ucuz olmakla birlikte, Perfadex ve UWS kadar etkin bir organ koruma sağlamaktadır. GOPOKS ayrıca oksidatif strese karşı diğer OK sınırlarından daha iyi bir koruma sağlamaktadır. Hazırlanmış olduğumuz solüsyon deneysel çalışmalarda rahatlıkla kullanılabilir, ancak klinik kullanımı için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Teşekkür

*Çalışmamızın istatistiksel değerlendirmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İlker Etikan'a teşekkür ederiz.*

### KAYNAKLAR

- Chen F, Nakamura T, Wada H. Development of new organ preservation solutions in Kyoto University. *Yonsei Med J* 2004;45(6):1107-14.
- Martin DR, Scott DF, Downes GL, Belzer FO. Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972;175(1):111-7.
- Yamazaki F, Yokomise H, Keshavjee SH, Miyoshi S, Cardoso PF, Slutsky AS, et al. The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. *Transplantation* 1990;49(4):690-4.
- Fischer S, Hopkinson D, Liu M, MacLean AA, Edwards V, Cutz E, et al. Raffinose improves 24-hour lung preservation in low potassium dextran glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis. *Ann Thorac Surg* 2001;71(4):1140-5.
- Fukuse T, Hirata T, Nakamura T, Ueda M, Kawashima M, Hitomi S, et al. Role of saccharides on lung preservation. *Transplantation* 1999;68(1):110-7.
- Brandes H, Albes JM, Haas B, Ziemer G. Influence of high molecular dextrans on lung function in an ex vivo porcine lung model. *J Surg Res* 2001;101(2):225-31.
- Laumonier T, Mohacs PJ, Matozan KM, Banz Y, Haeberli A, Korchagina EY, et al. Endothelial cell protection by dextran sulfate: a novel strategy to prevent acute vascular rejection in xenotransplantation. *Am J Transplant* 2004;4(2):181-7.
- Keshavjee SH, Yamazaki F, Yokomise H, Cardoso PF, Mullen JB, Slutsky AS, et al. The role of dextran 40 and potassium in extended hypothermic lung preservation for transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103(2):314-25.
- Bando T, Albes JM, Schöne J, Wada H, Hitomi S, Wahlers T, et al. Significance of cyclic adenosine monophosphate and nitroglycerin in ET-Kyoto solution for lung preservation. *Ann Thorac Surg* 2000;69(3):887-91.
- Şanlı A, Önen A, Ulugün İ, Açikel Ü. [Donor surgery for isolated single or double lung transplantation, the protection and the transport procedures of the tissue]. *Turkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2007;3(12):53-7.
- Institute of Laboratory Animal Research, Commission on Life Sciences, National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. 6th ed. Washington: DC: National Academy Press; 1996.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34(3):497-500.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-69.
- Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: Packer L, Glazer AN, eds. *Methods in Enzymology, V 186, Oxygen Radicals in Biological Systems, Part B, Oxygen Radicals and Antioxidants*. New York: Academic Press; 1990. p.407-21.
- Sasaki S, McCully JD, Alessandrini F, LoCicero J 3rd. Impact of initial flush potassium concentration on the adequacy of lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(6):1090-5.

16. Fischer S, Maclean AA, Liu M, Cardella JA, Slutsky AS, Suga M, et al. Dynamic changes in apoptotic and necrotic cell death correlate with severity of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(5):1932-9.
17. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH, et al. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(1):259-65.
18. Kaneda H, Waddell TK, de Perrot M, Bai XH, Gutierrez C, Arenovich T, et al. Pre-implantation multiple cytokine mRNA expression analysis of donor lung grafts predicts survival after lung transplantation in humans. *Am J Transplant* 2006;6(3):544-51.
19. Arbak S, Yalin A, Ercan F. Effects of preservation of rat lungs in a hypothermic medium on alveolar morphology. *Acta Histochem* 1999;101(3):341-9.
20. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(4):490-511.
21. Pincemail J, Kolh P, Detry O, Lambermont B, Meurisse M, Limet R, et al. Antioxidant status after cold ischemia of rabbit lung. *Transplant Proc* 2000;32(2):484-5.