

Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama

Geliş Tarihi : 14.10.2004
Düzeltilme Tarihi : 04.05.2005
Kabul Tarihi : 15.06.2005

Hilmi Burak Kandilci* / Bülent Gümüşel*

İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İskemi, organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğine bağlı olarak gelişen geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesine neden olmaktadır¹. İskemi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Bunlardan biri; iskeminin hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak hücre içi adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Bu durum hücre membranının ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum, sodyum ve su girmesi ile sonuçlanmaktadır. İskemi sırasında adenin nükleotidinin yıkımı da artmaktadır. Bu durum ise reaktif oksijen türevlerinin (ROS) prekürsörü hipoksantin'in hücre içi birikimini artırmaktadır. İskemi sonrasında o bölgedeki kan akımının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ve hücre içine moleküler oksijenin yeniden sunulması ile birlikte ROS türevleri hızla oluşmaktadır. İskemi aynı zamanda endotel hücrelerinde bazı proinflamatuvar gen ürünlerinin (lökosit adezyon molekülü, sitokinler vb) ve biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A₂ vb) sentezini artırırken, bazı koruyucu gen ürünlerinin ((yapısal nitrik oksit sentaz (eNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve bu enzimlerin ürünlerinin (nitrik oksit (NO), prostasiklin)) ekspresyon ve sentezini baskılamaktadır^{2,3}.

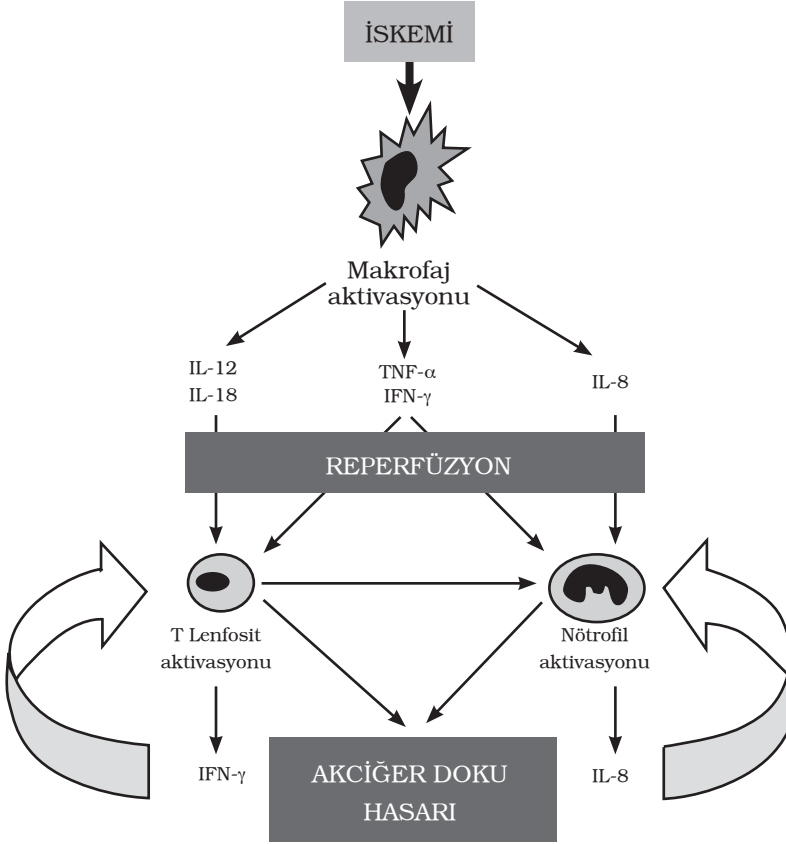
Geri dönüşsüz hücre hasarını önleyebilmek için organa/dokuya yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. Ancak reperfüzyo-

* Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

nun gerçekleştirilmesi, iskemik dokularda iskeminin dokuda/organda oluşturduğu hasardan daha fazla bir hasara yol açabilmektedir⁴.

Akciğerlerde ise iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı kardiyopulmoner "bypass", pulmoner tromboendarrektomi ve akciğer transplantasyonundan sonra sıklıkla oluşmaktadır⁵. Akciğerlerde oluşan bu hasara lenfositler, pulmoner arteriyel endotel hücreleri, alveolar makrofajlar, pulmoner alveolar Tip II hücreleri aracılık etmektedir⁶. Pulmoner arter tromboendarrektomisini takiben reperfüzyon sonrasında görülen pulmoner ödem, endotel hücrelerinin iskemi-reperfüzyona maruz kalması sonucu değişen vasküler denge, reperfüzyon sırasında azalan NO: siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerine bağlı olarak gelişen vasküler disfonksiyon sonucu bozulan koagülasyon, vasküler permeabilite, vazomotor tonus, lökositlerin adezyon ve agregasyon fonksiyonunda artış klinikte akciğerlerde iskemiye takiben reperfüzyon ile karşılaşılan en önemli sorunlar olarak değerlendirilmektedir^{7,8}.

Akciğerlerde iskemik doku hasarının patolojik tablosu inflamatuvar yanıt ile ortak özellikler göstermektedir. İskemiye bağlı olarak akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerin üretimi, artmakta, mononükleer ve polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ve dokuya invazyonu görülmektedir. Akciğer inflamasyon yanıtında interlökin (IL) -1 β ve IL-6 en çok üzerinde durulan sitokinlerdir. Transdermal growth faktör (TGF)- β 1'in İ/R ve akciğer transplantasyonundaki önemi, IL-10 ile birlikte akut akciğer reddi ve reperfüzyon hasarını azaltmasının gösterilmesi ile gündeme gelmiştir⁹. İ/R hasarı sırasında sitokin üretimi ile makrofaj, lenfosit ve nötrofil aktivasyonu paralel olarak gelişmektedir. İskemiye bağlı olarak gelişen akciğer doku hasarının olası mekanizması şekil 1'de gösterilmektedir. İskemi makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemekte ve erken reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır. IL-8, IL-12, IL-18, Tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α), interferon gama (IFN- γ) gibi sitokinler ise geç dönemde nötrofil ve T-lenfosit aktivasyonuna yol açmakta ve beraberinde geç dönem reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır. Adezyon moleküllerinin de iskemi sırasında pulmoner damar endotel hücrelerinde arttığı bilinmektedir. Bu moleküllerden P-selektin, intraselüler adezyon molekülü (ICAM-1), CD18 gibi moleküllerin deneysel olarak reperfüzyon sırasında bloke edilmelerinin de akciğer reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir¹.



Şekil 1:

Pulmoner vasküler yatakta iskemi-reperfüzyon sırasında lökosit aktivasyonu ve sitokin salınımı arasındaki etkileşimin olası mekanizması (de Perrot M. ve ark. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 490-511, 2003'den alınmıştır.)

İ/R hasarının hipotermik koşullarda (+4°C) normotermik koşullara göre daha az olduğu bilinmektedir¹⁰. Hipotermi, doku/organ metabolik hızını düşürmekte ve enerji ihtiyacını azaltmaktadır. Klinikte deneysel bulgular eşliğinde, transplantasyon için seçilen akciğerlerin alıcıya implante edilene kadar geçen süre içerisinde hipotermik bir solüsyon içerisinde bekletilmesi rutin olarak uygulanmaktadır. Hipotermi, transplantasyonda akciğer saklanması için gerekli olmakla birlikte reperfüzyon sırasında ortaya çıkan ve organ için zararlı olayların devam etmesini ise engelleyememektedir. Bu olaylar temel olarak oksidatif stres, sodyum pompası inaktivasyonu, hücre içi kalsiyum (Ca⁺²) birikmesi ve ortama demir iyonu salınmasıdır¹.

Oksidatif stres ROS oluşması ile karakterize bir durumdur. Bu türevler süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$)'dir¹¹. Bu türevler kararsız ürünler olup hücre permeabilitesinin artmasından hücre zarının erimesine kadar çeşitli derecelerde lipid peroksidasyonuna yol açmaktadırlar¹². Akciğerde birçok hücre tipi (endotel hücreleri, Tip II pnömositler, clara hücreleri) ROS oluşturabilmektedir¹³. Akciğerlerde iki ana mekanizma ROS oluşumuna katkı sağlamaktadır. Bu mekanizmalardan biri reperfüzyon ya da solunum sırasında ortama oksijenin yeniden sunulması ile O_2^- oluşumuna yol açan hipoksantin birikimidir. Anoksi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi ksantin oksidaz formuna dönüşmektedir. Enzimin oksidaz formu, ortamdaki oksijenin artışı ile hipoksantini O_2^- dönüştürmektedir. Diğer mekanizma ise iskemi ile aktive olan ve oksijenin O_2^- ve H_2O_2 dönüşümünü katalizleyen NADPH oksidaz sistemidir^{14,15}. Bu sistem yoğunlukla nötrofillerin, monosit ve makrofajların yüzey membranlarında bulunmaktadır.

Genelde organ transplantasyonunda İ/Reimerianoksi-reoksijenasyona karşılık gelmektedir. Ancak akciğer alveollerinde iskemi sırasında bulunan oksijen, iskemi sırasında belli bir süre hipoksiyi önlemekte ve aerobik metabolizmanın devamını sağlamaktadır¹⁶⁻¹⁸. Akciğerde iskeminin ve hipoksinin sonucu olarak oluşan oksidatif stresin birbirlerinden farklı olduğu düşünülmektedir. Hipokside hızlı bir ATP yıkımı olmakta, dolayısıyla yıkım ürünü olan hipoksantin birikimi artmaktadır. İskemi sonucu oluşan oksidatif stresinde ATP depolarının boşalmasından bağımsız bir oksidan hasar oluşturduğu öne sürülmektedir^{15,19,20}.

Hipotermi hücredeki sodyum pompasının da (Na^+/K^+ ATPaz) fonksiyonunu bozmaktadır²¹. Bunun sonucu olarak hücre içinde aşırı Na^+ birikmekte ve hücre şişmektedir. Klinikte hücre dışı bileşimindeki saklama çözeltileri ile (düşük K^+ , yüksek Na^+) reperfüzyon sırasında sodyum pompasının fonksiyonunun daha iyi korunduğu görülmüştür²².

Hücre içi Ca^{+2} yüklenmesi hipotermi sırasında karşılaşılan bir başka önemli sorundur. Artmış sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonu ksantin dehidrogenaz enziminin ksantin oksidaza dönüşümünü hızlandırmakta bu durum mitokondri üzerinde serbest radikallerin zararlı etkisini potansiyelize etmektedir¹².

Aynı şekilde esansiyel bir element olan demir de patolojik olaylarda veya stres durumlarında oksidan yapımına katılabilmektedir. Demir, serbest demir lipid hidroperoksidlerinin dekompozisyonlarına ve glutatyonun non-enzimatik oksidasyonuna da yol açabilmektedir²³⁻²⁵.

Hipotermik şartlarda tutulan akciğerlerin reperfüzyonundan sonra hücrelerde apoptosis görülmektedir. Yapılan çalışmalarda tam fonksiyona sahip ve iyi bir klinik seyir gösteren insan akciğer transplantasyonlarında

2 saatlik reperfüzyon içerisinde %30' a yakın apoptosis gözleendiği bildirilmiştir²⁶.

İskemik Önkoşullama

İskemik önkoşullama hücre veya dokuların iskemi ve reperfüzyona kısa süreli maruz kalması ve sonrasında daha uzun süreli iskemi ile oluşan doku hasarında belirgin olarak azalma oluşturan bir fenomendir²⁷. İskemik önkoşullama ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından köpek miyokardında gösterilmiştir²⁷. Miyokardiyal iskemik önkoşullamanın gösterilmesinden sonra yapılan çalışmalar bu fenomenin beyin, spinal kord, iskelet kası ve karaciğer gibi organlarda da oluşabileceğini bildirmektedir²⁸⁻³¹. İskemik önkoşullamanın akciğerde de koruyucu etki yapabileceğini gösteren çalışmalar vardır³²⁻³⁴.

İskemik önkoşullamayı indükleyebilmek için gereken iskemik tekrarlar türe ve organ sistemine özgüllük göstermektedir³⁵. Sıçan, tavşan, köpek ve insan kalbi için literatürde iskemik önkoşullama oluşturan farklı sayıda iskemik tekrar protokolleri bulunmaktadır^{27,36,37}. İskemik önkoşullamanın erken döneminde oluşan koruyucu etkinin süresi de türe özgü olarak değişiklik göstermektedir. Kalpteki bu koruyucu etki tavşanda 30 dakikalık reperfüzyondan sonra sonlanırken³⁸ bu sürenin sıçanda bir saat³⁹, köpekte ise iki saat olduğu bildirilmiştir⁴⁰. İskemik önkoşullamanın geç dönemdeki koruyucu etkisinin ortaya çıkması için gereken zamanın da türler arasında farklılık gösterdiği düşünülmektedir^{41,42}. Genel olarak erken dönemdeki koruma, önkoşullamanın indüklenmesinden itibaren 3 saatlik bir koruma dönemini takiben 12-24 saatlik korumasız bir dönem şeklinde tanımlanırken geç korumanın ise, önkoşullamanın indüklenmesinden 12-24 saat sonra başlayıp 72 saat sonra sona erdiği bildirilmektedir⁴³.

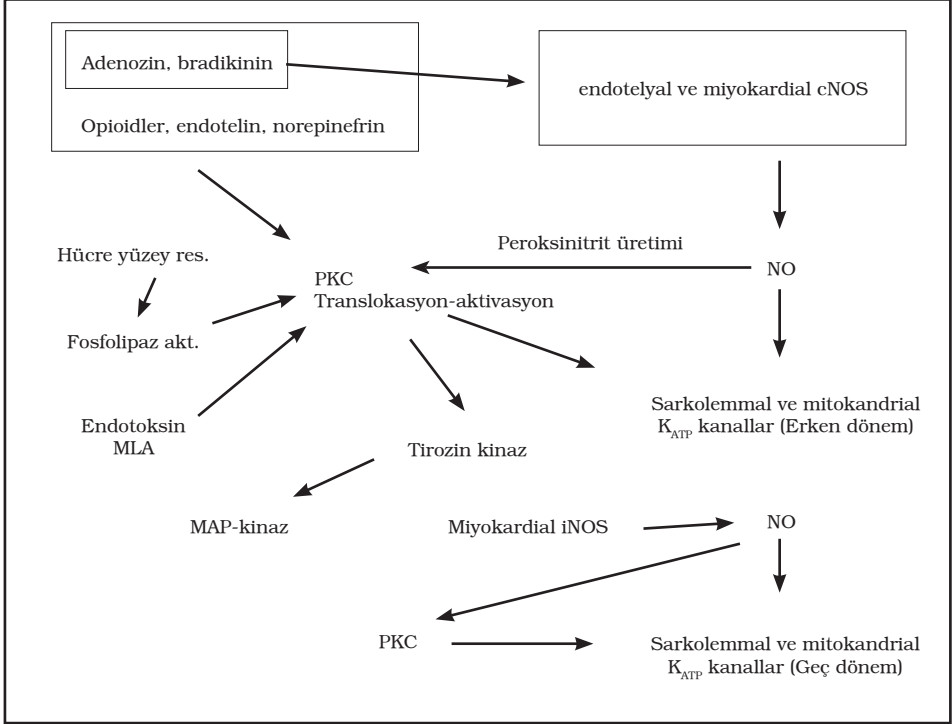
Önkoşullama Mekanizmaları

İskemik önkoşullamanın deneysel olarak gösterilmesini takiben mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. İskemik önkoşullamada temel miyokardial koruma yollarından birinin artmış adenosin üretimi ile beraber A₁ reseptörlerinin aktivasyonu olduğu gösterilmiştir⁴⁴⁻⁴⁶. Tavşan kalbinde tekrarlanan dozlarda (100 µg. kg⁻¹) spesifik A₁ agonisti 2-kloro-N(6)-siklopentil-adenozin (CCPA) ile önkoşullama oluşturulan bir çalışmada iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan infark alanında %42' lik bir azalma olduğu bildirilmiştir⁴⁷. Kalpte önkoşullama fenomeninin oluşumu sırasında rol aldığı düşünülen medi-

yatörler Tablo 1' de gösterilmiştir (Tablo I). Kalpte, iskemi sırasında endojen NO üretiminin arttığı bilinmektedir⁴⁸. •NO'nun kalbi reperfüzyon hasarından koruduğu⁴⁹⁻⁵¹ ya da iskemik önkoşullamanın geç fazında infarktüs veya sersemleme'ye (stunning) karşı korumada önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır⁵²⁻⁵⁴. •NO'nun iskemik önkoşullamada miyokardın korunmasında önemli bir rol oynayabileceği deneysel olarak sentezinin engellenmesi yoluyla da araştırılmıştır. İskemik önkoşullamanın köpek kalbinde oluşturduğu antiaritmik etkisinin •NO sentaz (NOS) enzim inhibitörü N^G-nitro-L-arjinin-metil esteri (L-NAME) uygulaması ile azaldığı gösterilmiştir⁵⁵. Artmış adenosin ve •NO üretimi, miyokardial korumada önemli role sahip protein kinaz C (PKC) translokasyon ve aktivasyonuna da neden olmaktadır^{45,56-58}. PKC ve •NO'nun ATP'ye bağımlı K⁺ kanallarını (K_{ATP}) aktive ettiği gösterilmiştir⁵⁹⁻⁶¹. Bu kanallar sarkolemmal ve mitokondrial olmak üzere iki tiptir⁶². İskemi veya sonrasında sarkolemmal K_{ATP}'lerin aktivasyonunun kalp kasında aksiyon potansiyeli süresinde kısalma ile birlikte hücre içine Ca⁺² girişinde ve intraselüler Ca⁺² aşırı yüklenmesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir⁶³. Ancak kalpteki koruyucu fonksiyonun genel olarak mitokondrideki Ca⁺² aşırı yüklenmesini önleyen mitokondriyal K_{ATP} kanalları üzerinden olduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır^{61,64-66}. Bu kanalların aktivasyonu ile gelişen koruyucu mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır^{67,68}. PKC'nin aynı zamanda tirozin kinaz, mitojenle aktive olan kinazlar (MAP-kinazlar) ve indüklenebilen NO sentaz (iNOS) yolları üzerinden de sarkolemmal ve mitokondriyal K_{ATP} kanallarının geç dönemde açılmasına neden olduğu da öne sürülmüştür⁶⁹. Kalpte serbest oksijen radikallerinin erken ve geç dönem önkoşullamadaki koruyucu rolleri de araştırılmıştır. İzole sıçan miyositlerinde 2 kez 5' er dakikalık anoksi ve reperfüzyon ile oluşturulan önkoşullamanın O₂⁻ üretiminde ani bir artışa yol açtığı daha sonrada erken ve geç dönem korumanın olduğu gösterilmiştir⁷⁰. Kısa süreli miyokardial iskemiye yanıt olarak bradikininin saliverilmesinde artış olduğu bildirilmiştir⁷¹⁻⁷³. Bradikinin'in endotel hücreleri üzerindeki B₂ reseptörler aracılığı ile İ/R ile oluşan aritmilere karşı koruyucu etki oluşturduğu düşünülmektedir. Ancak bu korumanın B₁ reseptörü aracılığıyla olduğunu gösteren çalışmalar da vardır⁷⁵. İzole sıçan kalbinde endotelin-1'in PKC ve K_{ATP} kanal aktivasyonu ile infarkt alanında azalma oluşturduğu bildirilmiştir⁷⁶. Sıçan ve tavşan kalbinde ufak dozda lipopolisakkarit, endotoksin, monofosforil lipid A (MLA) ön-muamelesi ile erken ve geç dönem koruma sağlandığı bildirilmiştir⁷⁷⁻⁸⁰. Tavşan ve sıçan iskemi modellerinde ise hiperterminin İ/R hasarına karşı 24 saat sonra geç dönem miyokardial koruma sağladığı gösterilmiştir^{81,82}.

TABLO I:

Kalpde, PKC aktivasyonu ve erken dönem koruma oluşturan ana yollar (Kesintisiz çizgi). Geç dönem koruma oluşturan ana yollar (Kesintili çizgi). Çizgilerin başlangıç noktası membrandaki reseptör aktivasyonu sonucu oluşmaktadır. Erken ve geç dönemde oluşan koruma PKC'nin endotoksinle veya MLA ile doğrudan aktivasyonu ile oluşmaktadır. (Pagliaro, P. ve ark. *Life Sciences.*, 69, 1-15, 2001'den alınmıştır)



Akciğerlerde ilk iskemik önkoşullama deneyleri 1995 yılında Neely ve arkadaşları³² tarafından kedide yapılmış, iskemik önkoşullamanın İ/R sonrasında oluşan hasarı azaltabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada adenozin 1 (A_1) reseptör antagonistlerinin veya iskemik önkoşullamanın (10 dakika iskemi + 10 dakika reperfüzyon) alveol hasarını %60'dan sırasıyla %7 ve %23'e azalttığı gösterilmiştir.

Sıçan akciğerlerinde 6 saat boyunca $+4^{\circ}\text{C}$ 'de fizyolojik solüsyon içinde bekletilerek yapılan iskemik hasar ile oluşan pulmoner kompliyansdaki azalmanın 2 kez 5'er dakika uygulanan iskemik önkoşullama ile korunabildiği fakat bu protokolün vasküler rezistans ve gaz değişim parametrelerinde gelişen bozulmaları önleyemediği bildirilmiştir³⁴.

İn vivo bir çalışmada ise bir kez 5 dakikalık uygulanan iskemik

önkoşullamanın 3 saatlik normotermik iskemiden sonra gelişen akciğer fonksiyon bozukluğunu düzeltebildiği gösterilmiştir⁸³. Ayrıca lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) ve doku antioksidanı olan glutatyon (GSH) düzeylerinin ölçülmesi ile histolojik incelemeye paralel olarak, iskemik önkoşullamanın kobay akciğerlerinde İ/R sonrası oluşan hasarda koruyucu etkiler oluşturabileceği belirtilmiştir⁸⁴.

İskemik önkoşullamanın, köpek akciğer transplantasyonunda akciğer gaz değiş-tokuşunu düzeltebileceği, iskemi sonrası görülen pulmoner arter basıncındaki artışı azaltabileceği ve daha az akciğer doku zedelenmesine yol açabileceği bildirilmiştir⁸⁵.

McCormick ve arkadaşları⁸⁶ sıçan akciğerlerinde yaptıkları çalışmada ısı-şoku proteinlerinin (HSP72) indüklenmesinin İ/R hasarını azalttığını göstermişlerdir. Akciğerde stresle indüklenen ısı-şoku proteinlerinin hücre koruyucu ve antiinflamatuvar etkilerinin yanısıra vektörel iyon transportu ve alveolar sıvının temizlenmesinin korunmasına yardımcı oldukları gösterilmiştir⁸⁷.

Waldow ve arkadaşları İ/R'den önce NO inhalasyonunun (NO önkoşullaması) pulmoner hipertansiyon ve azalmış oksijenasyon gibi İ/R hasarlarını azaltabildiğini bildirmişlerdir^{88,89}. Son yapılan çalışmalarda ise kalpte antiaritmik etkisi olduğu bilinen lidokainin post-iskemik sıçan akciğerlerinde yaş/kuru akciğer oranını, pulmoner arter basıncını ve tepe havayolu basıncını azalttığı bildirilmiştir⁹⁰.

Önkoşullamada son efektör oldukları düşünülen K_{ATP} kanallarının kalpte iskemik hasarı önlemede etkili olduğu daha önceden bildirilmiştir^{91,92}. Akciğerlerde ise bu tip çalışmalar bugüne kadar kısıtlı sayıdadır^{93,94}. Fukuse ve arkadaşları⁹⁵ K_{ATP} açıcısı pinasidilin akciğerin saklama solüsyonuna eklenmesinin İ/R hasarını azaldığını ve lipid peroksidasyonun reperfüzyon sonrası önlendiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada aynı zamanda pinasidil ile saklama sırasında mitokondriyal solunum fonksiyonunun da devam ettiğini göstermişlerdir. K^+ kanal açıcısı pinasidilin İ/R hasarına karşı pulmoner greft koruması oluşturduğu tavşan akciğerinde sıcak iskemi modelinde çalışılmıştır. Bu çalışmada gaz alış-verişi ile değerlendirilen akciğer fonksiyonunun normal, aynı zamanda akciğer hücre morfolojisinde bu şartlar altında korunduğu histolojik olarak bildirilmiştir⁹⁶.

Kalbin iskemik toleransının doğal ya da simulasyon yoluyla

oluşturulan kronik hipoksiye bağlı olarak arttığı bilinmektedir⁹⁷. Bu sonuçlar kronik hipoksi ile oluşan adaptasyon mekanizmaları ve iskemik önkoşullama arasında bir benzerlik olabileceği sorununu akla getirmektedir. Yapılan çalışmalarda miyokarda ve izole kardiyomiyositlerde önkoşullamanın hipoksi ile de oluşturulabileceği gösterilmiştir⁹⁸. Ancak şu ana kadar akciğer önkoşullamasında hipoksinin etkilerini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Sonuç

Akciğerde reperfüzyon hasarını önlemek amacıyla farklı klinik stratejiler uygulanmaktadır. Bunlara örnek olarak iskemiden önce •NO inhalasyonu, prostaglandinlerin saklama solüsyonlarına eklenmesi, reperfüzyon sırasında kandaki kompleman faktörlerinin inhibisyonu, trombosit aktive edici faktör (PAF) antagonistleri kullanılması ve sürfaktan tedavisi verilebilir⁹⁹. Günümüzde önkoşullamanın, karaciğer reddinde¹⁰⁰, koroner arter "bypass" greft cerrahisinde¹⁰¹ iskemik hasara karşı koruyucu etki oluşturduğu gösterilmekle birlikte akciğer transplantasyonundaki rolü henüz kanıtlanmamıştır.

Özet

İskemi-reperfüzyon (İ/R), doku veya organa giden kan akımında bir süre azalma ve sonrasında yeniden kanlanma olarak tanımlanmaktadır. İ/R ile indüklenen akciğer hasarı akciğer tranplantasyonunda sık karşılaşılan bir durumdur. Son yıllarda klinikte akciğer İ/R hasarını engellemeye yönelik kompleman inhibisyonu, sürfaktan tedavisi, nitrik oksit inhalasyonu gibi farklı yaklaşımlar kullanılmaktadır. 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından miyokarda İ/R hasarına karşı güçlü endojen koruma oluşturan bir mekanizma (iskemik önkoşullama) gösterilmiştir. İskemik önkoşullama, doku veya hücrelerin iskemi ve reperfüzyona kısa süreli maruz kalmasını takiben daha uzun süreli iskemi ile oluşan doku hasarında belirgin bir azalmadır. Kalpte gösterilmesinden sonra beyin, omurilik, iskelet kası, karaciğer, böbrek, akciğer, gibi pek çok farklı dokuda önkoşullama oluşturulabileceği gösterilmiştir. Bu derlemede akciğerlerde İ/R hasarı, iskemik önkoşullama ve olası etki mekanizmaları değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer, iskemi-reperfüzyon, iskemik önkoşullama

Summary

Ischemia-Reperfusion Injury and Ischemic Preconditioning in the Lungs

Ischemia-reperfusion (I/R) is defined as the condition of inadequate blood supply to a tissue or organ for a limited time which is followed by the restoration of blood flow. I/R- induced lung injury is a common situation occurring in lung transplantation. In recent years, multiple clinical strategies are suggested to prevent I/R injury such as complement inhibition, surfactant therapy, nitric oxide inhalation. In 1986, Murry and co-workers was the first to demonstrate that ischemic preconditioning was a protective mechanism against I/R injury in the hearth. A short period of ischemia-reperfusion protects against detrimental effects of subsequent prolonged ischemia; this endogenous mechanism of protection has been termed as ischemic preconditioning (IP). After its demonstration in myocardium, several studies have addressed that IP may also occur in brain, skeletal muscle, liver, kidney and the lung. In this review, I/R injury, IP and its possible mechanisms in the lung were evaluated.

Key Words: Lung, Ischemia-reperfusion, Ischemic preconditioning

KAYNAKLAR

1. Siemionow M, Arslan E.: Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24, 468-475 (2004).
2. Maxwell, S.R.J., Lip, G.Y.H.: Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int. J. Cardiol.*, 58, 95-117 (1997)
3. Carden, D.L., Granger, D.N.: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J. Pathol.*, 190, 255-66 (2000).
4. Collard, C.D., Gelman, S.: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology*, 94, 1133-1138 (2001).
5. Nakamura, T., Vollmar, B., Winning, J., Ueda M., Menger, M.D., Schäfers, H.-J.: Heparin and the nonanticoagulant N-acetyl heparin attenuate capillary no-reflow after normothermic ischemia of the lung. *Ann. Thorac. Surg.*, 72, 1183-1189 (2001).
6. Crestani, B., Cornillet, P., Dehoux, M., Rolland, C., Guenounou, M., Aubier, M.: Alveolar type II epithelial cells produce interleukin-6 in vitro and in vivo: regulation by alveolar macrophage secretory products. *J. Clin. Invest.*, 94, 731-740 (1994).
7. Levinson, R.M., Shure, D., Moser, K.M.: Reperfusion pulmonary edema after pulmonary artery thromboendarterectomy. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134, 1241-1245 (1986).
8. Vural, K.M., Öz, M.C.: Endothelial adhesivity , pulmonary hemodynamics and nitric oxide synthesis in ischemia-reperfusion. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 18, 348-352 (2000).
9. Krishnadasan B, Naidu BV, Byrne K, et al.: The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury. *J. Thorac. Cardiovasc Surg.*, 125, 261-272 (2003).
10. Connaughton, P.J., Bahuth, J.J., Lewis, F.J.: Lung ischemia up to six hours; influence of topical cooling in situ on subsequent pulmonary function. *Dis. Chest.*, 41, 404-408 (1962).

11. McCord JM.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.*, 312, 159-163 (1985).
12. McCord JM.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.*, 312, 159-163 (1985).
13. Al-Mehdi AB, Shuman H, and Fisher AB.: Intracellular generation of reactive oxygen species during nonhypoxic lung ischemia. *Am J Physiol* 272, L294-300 (1997).
14. Kelly RF.: Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med.*, 136, 427-440 (2000).
15. Zhao, G., Al-Mehdi, A.B., Fisher, A.B.: Anoxia-reoxygenation versus ischemia in isolated rat lungs. *Am. J. Physiol.*, 273, L1112-1117 (1997).
16. Date H, Matsumura A, Manchester JK, Obo H, Lima O, Cooper JM, Sundaresan S, Lowry OH, and Cooper JD.: Evaluation of lung metabolism during successful twenty-four-hour canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 105, 480-491 (1993).
17. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, Ayene I, and Eckenhoff RG.: Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest.*, 88, 674-679 (1991).
18. Eckenhoff RG, Dodia C, Tan Z, and Fisher AB.: Oxygen-dependent reperfusion injury in the isolated rat lung. *J Appl Physiol.*, 72, 1454-1460 (1992).
19. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, Ayene I, and Eckenhoff RG.: Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest.*, 88: 674-679 (1991).
20. Eckenhoff RG, Dodia C, Tan Z, and Fisher AB.: Oxygen-dependent reperfusion injury in the isolated rat lung. *J Appl Physiol.*, 72, 1454-1460 (1992).
21. Ware LB, Golden JA, Finkbeiner WE, and Matthay MA.: Alveolar epithelial fluid transport capacity in reperfusion lung injury after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.*, 159, 980-988 (1999).
22. Sugita M, Suzuki S, Kondo T, Noda M, and Fujimura S.: Transalveolar fluid absorption ability in rat lungs preserved with Euro-Collins solution and EP4 solution. *Transplantation*, 67, 349-354 (1999).
23. Zhao G, Ayene IS, Fisher AB.: Role of iron in ischemia-reperfusion oxidative injury of rat lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, 16, 293-299 (1997).
24. Huang YT, Ghio AJ, Nozik-Grayck E, Piantadosi CA.: Vascular release of nonheme iron in perfused rabbit lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 280, L474-L481 (2001).
25. Bysani GK, Kennedy TP, Ky N, Rao NV, Blaze CA, Hoidal JR.: Role of cytochrome P-450 in reperfusion injury of the rabbit lung. *J Clin Invest.*, 86, 1434-1441 (1990).
26. Fischer S, Cassivi SD, Xavier AM, Cardella JA, Cutz E, Edwards V, Liu M, Keshavjee S.: Cell death in human lung transplantation: apoptosis induction in human lungs during ischemia and after transplantation. *Ann Surg.*, 231, 424-431 (2000).
27. Murry, C.E., Jennings, R.B., Reimer, K.A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.*, 74, 1124-1136 (1986).
28. Chen, J., Graham, S.H., Zhu, R.L., Simon, R.P.: Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.*, 16, 566-577 (1996).
29. Gürke, L., Marx, A., Sutter, P.-M., Frenzel, A., Salm, T., Harder, F., Seeling, J., Heberer, M.: Ischemic preconditioning improves post-ischemic skeletal muscle function. *Am. Surg.*, 62, 391-394 (1996).
30. Hardy, K.J., McClure, D.N., Subwongcharoen, S.: Ischemic preconditioning of the liver: a preliminary study. *Aust. N. Z. J. Surg.*, 66, 707-710 (1996).
31. Matsuyama, K., Chiba, Y., Ihaya, A., Kimura, T., Tanigawa, N., Muraoka, R.: Effect of spinal cord preconditioning on paraplegia during cross-clamping of the thoracic aorta. *Ann. Thorac. Surg.*, 63, 1315-1320 (1997).

32. Neely, C.F., Keith, I.M.: A₁ adenosine receptor antagonists block ischemia-reperfusion injury of the lung. *Am. J. Physiol.*, 268, L1036-46 (1995).
33. Du, Z.Y., Hicks, M., Winlaw, D., Spratt, P., MacDonald, P.: Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *J. Heart Lung Transplant.*, 15, 1258-67 (1996).
34. Featherstone, R.L., Chambers, D.J., Kelly, F.J.: Ischemic Preconditioning Enhances Recovery of Isolated Rat Lugs After Hypothermic Preservation. *Ann. Thorac. Surg.*, 69, 237-242 (2000).
35. Hawaleshka, A., Jacobsohn, E.: Ischemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Can. J. Anaesth.*, 45, 670-682 (1998).
36. Cohen, M.V., Liu, G.S., Downey, J.M.: Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation.*, 84, 341-349, (1991).
37. Liu, Y., Downey, J.M.: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am. J. Physiol.*, 263, H1107-1112 (1992).
38. Van Winkle, D.R., Thornton, J.D., Downey, D.M., Downey J.M.: The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coron. Artery Dis.*, 2, 613-619 (1991).
39. Li, Y., Whittaker, P., Kloner, R.A.: The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. *Am. Heart. J.*, 123, 346-353 (1992).
40. Murry, C.E., Richard, V.J., Jennings, R.B., Reimer, K.A.: Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol.*, 260, H796-H804 (1991).
41. Marber, M.S., Latchman, D.S., Walker, J.M., Yellon, D.M.: Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation.*, 88, 1264-1272 (1993).
42. Chen, J., Graham, S.H., Zhu, R.L., Simon, R.P.: Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.*, 16, 566-577 (1996)
43. Pagliaro, P., Gattullo, D., Rastaldo, R., Losano, G.: Ischemic preconditioning from the first to the second window of protection. *Life Sciences.*, 69, 1-15 (2001)
44. Lawson CS and Downey JM.: Preconditioning: state of the art myocardial protection. *Cardiovasc Res.*, 27, 542-550 (1993)
45. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, and Downey JM.: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A₁ adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation*, 84, 350-356 (1991).
46. Auchampach JA and Gross GJ.: Adenosine A₁ receptors, K_{ATP} channels, and ischemic preconditioning in dogs. *Am J Physiol.*, 264: H1327-1336 (1993).
47. Dana A, Baxter GF, Walker JM, and Yellon DM.: Prolonging the delayed phase of myocardial protection: repetitive adenosine A₁ receptor activation maintains rabbit myocardium in a preconditioned state. *J Am Coll Cardiol.*, 31: 1142-1149 (1998).
48. Zweier, J.L., Wang, P., Kuppusamy, P.: Direct measurement of nitric oxide generation in the ischemic heart using electron paramagnetic resonance spectroscopy. *J. Biol. Chem.*, 270, 304-307 (1995).
49. Nakanishi, K., Vinten-Johansen, J., Lefer, D.J., Zhao, Z., Fowler III, W.C., McGee, D.S., Johnston, W.E.: Intracoronary L-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size. *Am. J. Physiology.*, 263, H1650-1658 (1992).
50. Hartman, J.C., Kurc, G.M., Hullinger, T.G., Wall, T.M., Sheehy, R.M., Shebuski, R.J.: Inhibition of nitric oxide synthase prevents myocardial protection by ramiprilat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 1071-1076 (1994).

51. Williams, M.W., Taft, C.S., Ramnauth, S., Zhao, Z.Q., Vinten-Johansen, J.: Endogenous nitric oxide protects against ischemia-reperfusion injury in the rabbit. *Cardiovasc. Res.*, 30, 79-86 (1995).
52. Bolli, R., Manchikalapudi, S., Tang, X.L., Takano, H., Qiu, Y., Guo, Y., Zhang, Q., Jadoon, A.K.: The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is mediated by nitric oxide synthase: evidence that nitric oxide acts both as a trigger and as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circ. Res.*, 81, 1094-1107 (1997).
53. Takano, H., Tang, X.L., Qiu, Y., Guo, Y., French, B.A., Bolli, R.: Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbits via an antioxidant-sensitive mechanism. *Circ. Res.*, 83, 73-84 (1998).
54. Bolli, R., Dawn, B., Tang, X.L., Qiu, Y., Ping, P., Xuan, X.T., Jones, W.K., Takano, H., Guo, Y., Zhang, J.: The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic. Res. Cardiol.*, 93, 325-338 (1998).
55. Vegh, A., Szekeres, L., Parrat, J.R.: Preconditioning of the ischemic myocardium; involvement of the L-arginine nitric oxide pathway. *Br. J. Pharmacol.*, 107, 648-652 (1992).
56. Williams MW, Taft CS, Ramnauth S, Zhao ZQ, and Vinten-Johansen J.: Endogenous nitric oxide (NO) protects against ischaemia-reperfusion injury in the rabbit. *Cardiovasc Res.*, 30, 79-86 (1995).
57. Banerjee S, Tang XL, Qiu Y, Takano H, Manchikalapudi S, Dawn B, Shirk G, and Bolli R.: Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial stunning via a PKC-dependent pathway. *Am J Physiol.*, 277, H2488-2494 (1999).
58. Ping P, Takano H, Zhang J, Tang XL, Qiu Y, Li RC, Banerjee S, Dawn B, Balafonova Z, and Bolli R.: Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits: a signaling mechanism for both nitric oxide-induced and ischemia-induced preconditioning. *Circ Res.*, 84, 587-604 (1999).
59. Miyoshi H, Nakaya Y, and Moritoki H.: Nonendothelial-derived nitric oxide activates the ATP-sensitive K⁺ channel of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.*, 345, 47-49 (1994).
60. Downey JM and Cohen MV.: Signal transduction in ischemic preconditioning. *Adv Exp Med Biol.*, 430, 39-55 (1997).
61. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, and Marban E.: Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation*, 101, 439-445 (2000)
62. Gross GJ and Fryer RM.: Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res.*, 84, 973-979 (1999).
63. Gross, G.J., Fryer, R.M.: Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ. Res.*, 84, 973-979 (1999).
64. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, Lodge NJ, Smith MA, and Grover GJ.: Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res.*, 81: 1072-1082 (1997).
65. Baines CP, Liu GS, Birincioğlu M, Critz SD, Cohen MV, and Downey JM.: Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K⁺_{ATP} channels and actin cytoskeleton. *Am J Physiol.*, 276, H1361-1368 (1999).
66. Takashi E, Wang Y, and Ashraf M.: Activation of mitochondrial K⁺_{ATP} channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway. *Circ Res.*, 85, 1146-1153 (1999).
67. Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H, and Gross GJ.: Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial K⁺_{ATP} channels. *Circ Res.*, 84, 846-851 (1999).

68. Duncker DJ and Verdouw PD.: Role of K^+_{ATP} channels in ischemic preconditioning and cardioprotection. *Cardiovasc Drugs Ther.*, 14, 7-16 (2000).
69. Qiu Y, Rizvi A, Tang XL, Manchikalapudi S, Takano H, Jadoon AK, Wu WJ, and Bolli R.: Nitric oxide triggers late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. *Am J Physiol.*, 273, H2931-2936 (1997).
70. Potoka DA, Nadler EP, Zhou X, Zhang XR, Upperman JS, and Ford HR.: Inhibition of NF-kappaB by IkappaB prevents cytokine-induced NO production and promotes endothelial cell apoptosis in vitro. *Shock*, 14, 366-373 (2000).
71. Parratt J and Vegh A.: Pronounced antiarrhythmic effects of ischemic preconditioning. *Cardioscience*, 5, 9-18 (1994).
72. Vegh A, Papp JG, and Parratt JR.: Prevention by dexamethasone of the marked antiarrhythmic effects of preconditioning induced 20 h after rapid cardiac pacing. *Br J Pharmacol.*, 113, 1081-1082 (1994).
73. Vegh A, Gyorgy K, Rastegar MA, Papp JG, and Parratt JR. Delayed protection against ventricular arrhythmias by monophosphoryl lipid-A in a canine model of ischaemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol.*, 382: 81-90 (1999).
74. Kaszala K, Vegh A, Papp JG, Parratt JR. Modification by bradykinin B2 receptor blockade of protection by pacing against ischemia-induced arrhythmias. *Eur J Pharmacol.*, 328:51-60, (1997).
75. Bouchard JF, Chouinard J, and Lamontagne D.: Role of kinins in the endothelial protective effect of ischaemic preconditioning. *Br J Pharmacol.*, 123, 413-420 (1998).
76. Bugge E and Ytrehus K.: Endothelin-1 can reduce infarct size through protein kinase C and K^+_{ATP} channels in the isolated rat heart. *Cardiovasc Res.*, 32, 920-929 (1996).
77. Brown JM, Grosso MA, Terada LS, Whitman GJ, Banerjee A, White CW, Harken AH, and Repine JE.: Endotoxin pretreatment increases endogenous myocardial catalase activity and decreases ischemia-reperfusion injury of isolated rat hearts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86, 2516-2520 (1989).
78. Brown JM, White CW, Terada LS, Grosso MA, Shanley PF, Mulvin DW, Banerjee A, Whitman GJ, Harken AH, and Repine JE.: Interleukin-1 pretreatment decreases ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 87, 5026-5030 (1990).
79. Rowland RT, Cleveland JC, Meng X, Ao L, Harken AH, and Brown JM.: A single endotoxin challenge induces delayed myocardial protection against infarction. *J Surg Res.*, 63, 193-198 (1996).
80. Zacharowski K, Otto M, Hafner G, Chatterjee PK, and Thiemermann C.: Endotoxin induces a second window of protection in the rat heart as determined by using p-nitro-blue tetrazolium staining, cardiac troponin T release, and histology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 19, 2276-2280 (1999).
81. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, and Yellon DM.: Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation*, 88, 1264-1272 (1993).
82. Hutter MM, Sievers RE, Barbosa V, and Wolfe CL.: Heat-shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection. *Circulation*, 89, 355-360 (1994).
83. Friedrich, I., Spiller, J., Lu, E., Bartling, B., Barnscheid, M., Sablotzki, A., Schade, U., Reidemeister, J.C., Silber, R.E., Gunther, A., Borgermann, J.: Ischemic pre-conditioning of 5 minutes but not of 10 minutes improves lung function after warm ischemia in a canine model. *J. Heart. Lung. Transplant*, 20, 985-995 (2001).
84. Soncul, H., Öz, E., Kalaycıoğlu, S.: Role of ischemic preconditioning on ischemia-reperfusion injury of the lung. *Chest*, 115, 1672-1677 (1999).

85. Li, G., Chen, S., Lou, W., Lu, E.: Protective effects of ischemic preconditioning on donor lung in canine lung transplantation. *Chest*, 113, 1356-1359 (1998).
86. McCormick PH, Chen G, Tlerney S, Kelly CJ, and Bouchier-Hayes DJ.: Clinically relevant thermal preconditioning attenuates ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.*, 109, 24-30 (2003).
87. Sartori C and Scherrer U.: Turning up the heat in the lungs. A key mechanism to preserve their function. *Adv Exp Med Biol.*, 543, 263-275 (2003).
88. Waldow T, Alexiou K, Witt W, Wagner FM, Gulielmos V, Matschke K, and Knaut M.: Attenuation of reperfusion-induced systemic inflammation by preconditioning with nitric oxide in an in situ porcine model of normothermic lung ischemia. *Chest*, 125, 2253-2259, (2004).
89. Waldow T, Alexiou K, Witt W, Wagner FM, Kappert U, Knaut M, and Matschke K.: Protection of lung tissue against ischemia/reperfusion injury by preconditioning with inhaled nitric oxide in an in situ pig model of normothermic pulmonary ischemia. *Nitric Oxide*, 10, 195-201 (2004).
90. Das KC and Misra HP.: Prevention of reperfusion lung injury by lidocaine in isolated rat lung ventilated with higher oxygen levels. *J Postgrad Med.*, 49, 17-20 (2003).
91. Bernardo, N.L., D'Angelo, M., Okubo, S., Joy, A., Kukreja, R.C.: Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *Am. J. Physiol.*, 276, H1323-H1330 (1999).
92. Schulz, R., Rose, J., Heusch, G.: Involvement of activation of ATP-dependent potassium channels in ischemic preconditioning in swine. *Am. J. Physiol.*, 267, H1341-H1352 (1994).
93. Khimenko PL, Moore TM, and Taylor AE. ATP-sensitive K⁺ channels are not involved in ischemia-reperfusion lung endothelial injury. *J Appl Physiol.*, 79, 554-559, (1995).
94. Yamashita M, Schmid RA, Fujino S, Cooper JD, and Patterson GA. Nicorandil, a potent adenosine triphosphate-sensitive potassium-channel opener, ameliorates lung allograft reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 112, 1307-1314 (1996).
95. Fukuse T, Hirata T, Omasa M, and Wada H.: Effect of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel openers on lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med.*, 165, 1511-1515 (2002).
96. Tang DG, Pavot DR, Mouria MM, Holwitt DM, and Cohen NM.: Warm ischemia lung protection with pinacidil: an ATP regulated potassium channel opener. *Ann Thorac Surg.*, 76, 385-389; discussion, 389-390 (2003).
97. Asemu G., Papoušek, F., Ošťádal, B., Kolár, F.: Adaptation to altitude hypoxia protects the rat heart against ischemia-induced arrhythmias. Involment of mitochondrial K_{ATP} channel. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 31, 1821-1831 (1999).
98. Armstrong, S., Downey, J.M., Ganote, C.E.: Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: induction by metabolic stress and blockade by the adenosine antagonist SPT and calphostin C, a protein kinase C inhibitor. *Cardiovasc. Res.*, 28, 72-77 (1994).
99. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, and Keshavjee S.: Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.*, 167, 490-511 (2003).
100. Clavien PA, YS, Sindram D, Bentley RC.: Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg.*, 232, 155-162, (2000).
101. Wu ZK, Tarkka MR, Eloranta J, Pehkonen E, Kaukinen L, Ehonkonen EL, Kaukinen S.: Effect of ischemic preconditioning on myocardial protection in coronary artery bypass graft patients: can the free radicals act as a trigger for ischemic preconditioning? *Chest*, 119, 1061-1068 (2001).