

L-Selektin Blokajının İntestinal İskemi-Reperfüzyon Sonrası Akciğer ve Barsak Hasarına Etkisi

THE EFFECT OF L-SELECTIN BLOCKAGE ON LUNG AND BOWEL INJURY FOLLOWING INTESTINAL ISCHEMIA-REPERFUSION

Dr.Cüneyt KÖKSOY*, Dr.M.Ayhan KUZU*, Dr.İşinsu KUZU**, Dr.İsmet GÜRHAN***,
Dr.Hakan ERGÜN****, Dr.Ediz DEMİRPENÇE*****

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, (*) Genel Cerrahi ABD, (**) Patoloji ABD,
(***) Tarım Bakanlığı Şap Enstitüsü, (****) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ABD,
(*****) Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya ABD, ANKARA

ÖZET

Amaç: Barsak iskemisi reperfüzyonu (İR) sonrası barsak ve akciğer hasarı gelişiminde L-selektinin rolü araştırılmasıdır.

Durum değerlendirilmesi: Barsak iskemisi reperfüzyonuna bağlı lokal ve uzak organ hasarı gelişiminde adezyon moleküllerinin aracılığı ile gerçekleşen nötrofillerle endotel arasındaki ilişkinin çok önemli bir rolü olduğu bilinmektedir.

Yöntem: Erkek Wistar tipi sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışma üç gruptan oluşuyordu: Kontrol grubu (n: 10), bir saat barsak iskemisi ve iki saat reperfüzyon yapılan İR grubu (n: 10), ve barsak İR sine ek olarak monoklonal antikolarla L-selektin blokajı yapılan tedavi grubu (n: 10). Evans mavisi ölçümü ile akciğer mikrovasküler permeabilitesi, morfometrik inceleme ile nötrofil sekestrasyonu ve immunhistokimyasal olarak akciğerlerde nötrofil CD11b ve CD18 ve endotel ICAM-1 varlığı değerlendirildi. Barsaklarda mikrovasküler permeabilite ve mukozal hasar incelendi.

Çıkarımlar: İskemik barsağın reperfüzyonu barsaklarda mukozal hasar, permeabilite artışı ile akciğerlerde nötrofil birikimi, mikrovasküler permeabilite artışı, ve adezyon molekülleri olan CD11b/CD18 ve ICAM-1 de artışa neden oldu. Ayrıca L-selektin blokajı akciğerlerdeki artmış mikrovasküler permeabilite nötrofil birikimi ve ICAM-1 de düzelmeye sağladı. L-selektin blokajı artmış barsak mikrovasküler permeabilitesini düşürürken, mukozal hasara belirgin bir etki yapmadı.

Sonuç: Bu bulgular barsak iskemisi reperfüzyonu sonrası akciğer hasarı gelişiminde L-selektinin önemli rol oynadığına işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: İskemi/reperfüzyon, barsak, akciğerler, adezyon molekülleri, L-selektin

SUMMARY

Intestinal ischemia reperfusion (IR) results in both local injury to the bowel as well as injury to lungs, as measured increased vascular permeability and leukosequestration. The purpose of this experiment was to determine the effect of treatment with L-selectin on intestinal and lung injury following intestinal IR. Male Wistar rats randomized to sham operation (n: 11), 1 hour of SMA occlusion and two hours of reperfusion (İR, n: 10), and intestinal IR plus treatment with antibody directed against rat L-Selectin (HRL-3, 1mg/kg, n: 10). Pulmonary microvascular permeability, neutrophil accumulation and expression of adhesion molecules were evaluated. Intestinal injury was assessed by Evans blue dye concentration and histological examination. Intestinal IR resulted in a marked increase in microvascular permeability, and neutrophil accumulation. The increase in pulmonary microvascular permeability and

leukosequestration elicited by intestinal IR was effectively prevented by administration of blocking antibody against L-Selectin. These results indicate that L-selectin plays a significant role in both intestinal and lung injury observed after intestinal IR. Immunoneutralization of certain of L-selectin may prevent intestinal IR injury.

Keywords: Ischemia/reperfusion, lung, intestines, adhesion molecules, L-selectin

İntestinal iskemi reperfüzyon (İR) başta mezenterik vasküler hastalıklar, aorta cerrahisi ve şok gibi durumlarda görülebilmekte ve barsaklar kadar uzak organları da olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Klinik ve deneysel çalışmalar reperfüzyon hasarının gelişiminde nötrofillerin çok önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir (1,2). Nötrofiller aktive olduklarında kapiller duvarına yapışıp, dokuya geçmekte ve bu arada saldıkları bir çok mediatör ile hasarın gelişimine katkıda bulunmaktadır (3). Nötrofillerin kapiller endotele tutunmalarının adezyon molekülleri aracılığı ile gerçekleştiği bilinmektedir. Aktive olan nötrofiller kendi yüzeylerinde bulunan L-selektin aracılığı ile endoteldeki E-selektine tutunmakta ve bu şekilde endotel üzerinde yuvarlanmaya başlayan nötrofiller, yine üzerlerindeki glikoprotein yapısında olan bir başka grup adezyon molekülünün yani β integrinlerin (CD11b/CD18, CD11a/CD18) ve bunların endoteldeki karşılığı olan hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) nün etkileşimi sonucunda sıkıca endotele yapışmaktadır (4,5,6) Çok çeşitli organlarda İR yi takiben yukarıda sözü edilen adezyon moleküllerinin miktarının arttığı ve etkinlikleri bloke edildiğinde reperfüzyon hasarının engellenebildiği gösterilmiştir (7,8,9). Nötrofillerin endotel üzerinde yuvarlanmaları yada zayıf bağlanmaları nötrofillerin aracılık ettiği çok çeşitli inflamatuvar olayın ilk basamağı olarak görünmektedir. Bu nedenle artan nötrofil L-selektini barsak iskemi reperfüzyonu sonrası görülen barsak ve akciğer hasarına katkıda bulunması mümkündür. Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan barsak iskemi reperfüzyon hasarı gelişiminde L-selektinin rolü araştırılmıştır.

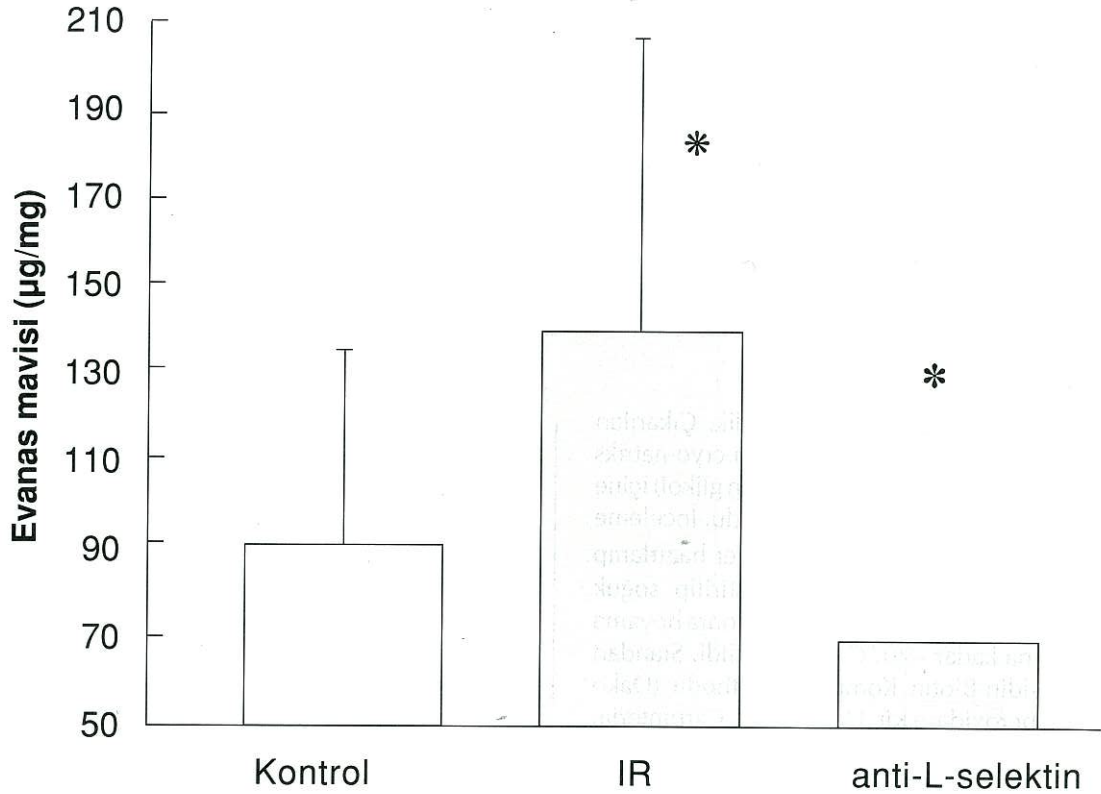
GEREÇ VE YÖNTEM

Etik komite tarafından onaylanan bu çalışma ortalama ağırlıkları 220 ile 320 gr arasında değişen olan 31 adet Wistar tipi erkek sıçan üzerinde yapılmıştır. Gece boyu aç bırakılan hayvanlara i.p. 30 mg/kg pentobarbital verilerek anestezi sağlandı. Karın orta hattan açılarak a. mesenterica

superior bulundu ve atravmatik mikrovasküler klempe ile oklüde edildi. Ayrıca daha belirgin iskemi sağlamak amacı ile a. mesenterica inferior ve trunkus celiacus'tan gelen dallarda klempe edildi. Bir saatlik mesenterik iskemi sonunda bütün klempler çıkarılarak 2 saat süre ile reperfüzyon sağlandı. Bu iskemi reperfüzyon modelinin etkinliği klempler kaldırıldığında barsak arterlerinde nabzın gözlenmesi ve daha önce yapılan ön deneylerde fluorescein floresansı ile teyid edildi. Deney süresince hayvanların vücut ısıları ısıtıcı lamba ve ile normal sınırlarda tutuldu. Hidrasyon reperfüzyon öncesi verilen 10 ml/kg Ringer laktat ile sağlandı.

Çalışma mezenterik arterlerin diseke edildiği ancak klempe edilmediği kontrol grubu (n:11), bir saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon yapılan İR grubu (n:10), yine bir saat iskemi ve 2 saat reperfüzyon yapılan ancak reperfüzyondan hemen önce sıçan L-selektinine karşı hazırlanmış olan monoklonal antikorların (HRL-3, 1mg/kg) verildiği anti-L-selektin grubu (n:10) şeklinde 3 gruptan oluşuyordu.

Mikrovasküler permeabilitesinin değerlendirilmesi: Barsak iskemi reperfüzyonuna bağlı olarak akciğer ve barsak mikrovasküler permeabilitesindeki değişiklikler dokuda Evans mavisini konsantrasyonu ölçülerek değerlendirildi. Evans mavisini albumine bağlanıp, permeabilite arttığı durumlarda dolaşımdan intersitisyuma geçmekte ve bu şekilde mikrovasküler permeabiliteyi değerlendirmek için kullanılan güvenilir bir metoddur (10). Bu inceleme için bütün deneklere başlangıçtaki laparotomi sırasında mezenterik arterlere henüz klempe konmadan penil venden 30 mg/kg Evans mavisini verildi. Reperfüzyon süresinin sonunda intravenöz heparin (500 Ü) verilip, medyan sternotomi yapıldıktan sonra asendan aorta kesilip hayvanlar öldürüldü. Sol akciğerin hilusu klempe edilip sol akciğer immunhistokimya ve histopatolojik inceleme için çıkarıldı. Evans mavisini konsantrasyonunun ölçümünde kullanılacak olan sağ akciğer dolaşımındaki kan elemanları ve Evans mavisini uzaklaştırmak için sağ akciğer



Şekil 1: Evans mavisinin dokudaki konsantrasyonunu ölçerek değerlendirilmiş olan akciğer mikrovasküler permeabilitesi. * $p < 0.001$ kontrol grubunun intestinal iskemi reperfüzyon (IR) ile karşılaştırılması ve † $p < 0.05$ L-selektine karşı monoklonal antikolarla yapılan tedavinin (anti-L-selektin) IR grubu ile karşılaştırılması.

pulmoner arter yolu ile bir infüzyon pompası (Becton Dickinson, Brezins, Fransa) kullanılarak 0.04 ml/gr hayvan ağırlığı/dk hızında 37°C deki serum fizyolojik ile perfüze edildi. Daha sonra sağ akciğer rezeke edilip serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kurulanıp tartıldı ve etüve konulup 90°C de 16 saat süre ile kurutuldu. Daha sonra kurumuş doku örnekleri 2ml formamid içinde 37°C de 24 saat bekletildi. Elde edilen çözeltideki boya konsantrasyonu spektrofotometri ile 620 nm dalga boyunda okundu ve değerler mikrogram/mg yaş doku şeklinde ifade edildi.

Deney süresi sonunda çıkarılan ince barsak örnekleri ikiye ayrılıp bir mikrovasküler permeabilite diğeri histopatolojik inceleme için kullanıldı. Barsak mikrovasküler permeabilitesinin değerlendirilmesi yukarıda akciğer için tarif edilen Evans mavisinin doku konsantrasyonunun ölçümü ile gerçekleştirildi ve sonuçlar mikrogram/mg yaş doku şeklinde ifade edildi.

Histopatolojik değerlendirme: Akciğer dokusundaki nötrofil sekestrasyonu histopatolojik inceleme ile değerlendirildi. Sol akciğerin üst yarısı %10 luk formalin solusyonunda 24 saat fikse edildikten sonra elde edilen parafin kesitler hematoksilin-eozin ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi. Akciğer periferik parankim örneklerinde 10 farklı yüksek büyütme alanındaki (YBA) polimorf nötrofillerini (PMN) sayılıp ortalaması alındı. Bulgular PMN/YBA şeklinde ifade edildi.

Çıkarılan barsak örnekleri %10 luk formalin içinde fikse edildikten sonra elde edilen parafin kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Mukozal hasar Chiu tarafından tanımlanmış olan kriterlere göre değerlendirildi (11).

İmmunhistokimyasal inceleme:

ICAM-1, CD11 ve CD18 akciğerlere nötrofil sekestrasyonunda önemli adezyon molekülleri oldukları için endotel-nötrofil ilişkisini immün-

TABLO 1: AKCİĞER NÖTROFİLLERİNDE CD11b VE CD18 İLE ENDOTEL ICAM-1 OLUŞUMU

Gruplar	CD11b	CD18	ICAM-1
Kontrol	23.57 ± 9.50	20.57 ± 5.70	2.42 ± 0.97
Intestinal İR	46.16 ± 13.04 *	56.30 ± 9.20*	3.42 ± 0.53†
Intestinal İR ve anti-L-selektin	53.00 (35.00) †	56.50 (70.00) †	2.00 ± 0.00 ‡

* p < 0.001 kontrolle karşılaştırıldığında, † p < 0.05 kontrolle karşılaştırıldığında,
‡ p < 0.001 intestinal İR ile karşılaştırıldığında

histokimyasal olarak değerlendirdik. Çıkarılan sağ akciğer dokusunun diğer yarısı cryomatriks (%10 polivivil alkol ve %4 polietilen glikol) içine konulup sıvı azot içinde donduruldu. İnceleme aşamasında 5 mm lik frozen kesitler hazırlanıp poli-L-lizin kaplı slaytlara yerleştirilip soğuk asetona 10 dk maruz bırakıldıktan sonra boyama aşamasına kadar -20 °C de bekletildi. Standart Streptavidin-Biotin Kompleks methodu (Dako LSAB 2 peroxidase Kit, Dako Corp., Carpinteria, CA) immunhistokimyasal boyama için kullanıldı. Akciğerde 40 büyütme alanındaki anti-CD11b ve anti-CD18 ile boyanan nötrofiller sayıldı ve beş ayrı alanın ortalaması alındı. Akciğer endotelinde anti-ICAM-1 ile boyama 0 dan 4 e kadar değişen ölçüde skorlanarak değerlendirildi.

İstatistiksel analiz: Gruplar arası farklılık Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark belirlendiğinde, grupları birbirinden ayırmada çoklu karşılaştırmalar yapıldı. Elde edilen p degeri < 0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu kabul edildi. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak sunuldu.

SONUÇLAR

Bütün gruplardaki hayvanlar deney süresince yaşadılar. Kapiller permeabilitedeki artış Evans mavisinin doku konsantrasyonu ölçümü ile değerlendirildiğinde, barsak iskemi reperfüzyonunun barsakta kontrol grubuna oranla belirgin permeabilite artışına neden olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Reperfüzyon hasarının oluşturduğu bu permeabilite artışı L-selektinine karşı geliştirilmiş olan monoklonal antikorlarla önemli oranda geriledi. Akciğerdekine benzer şekilde, barsak iskemi reperfüzyonu barsaklarda önemli ölçüde barsak permeabilite artışına ve mukozal hasara neden

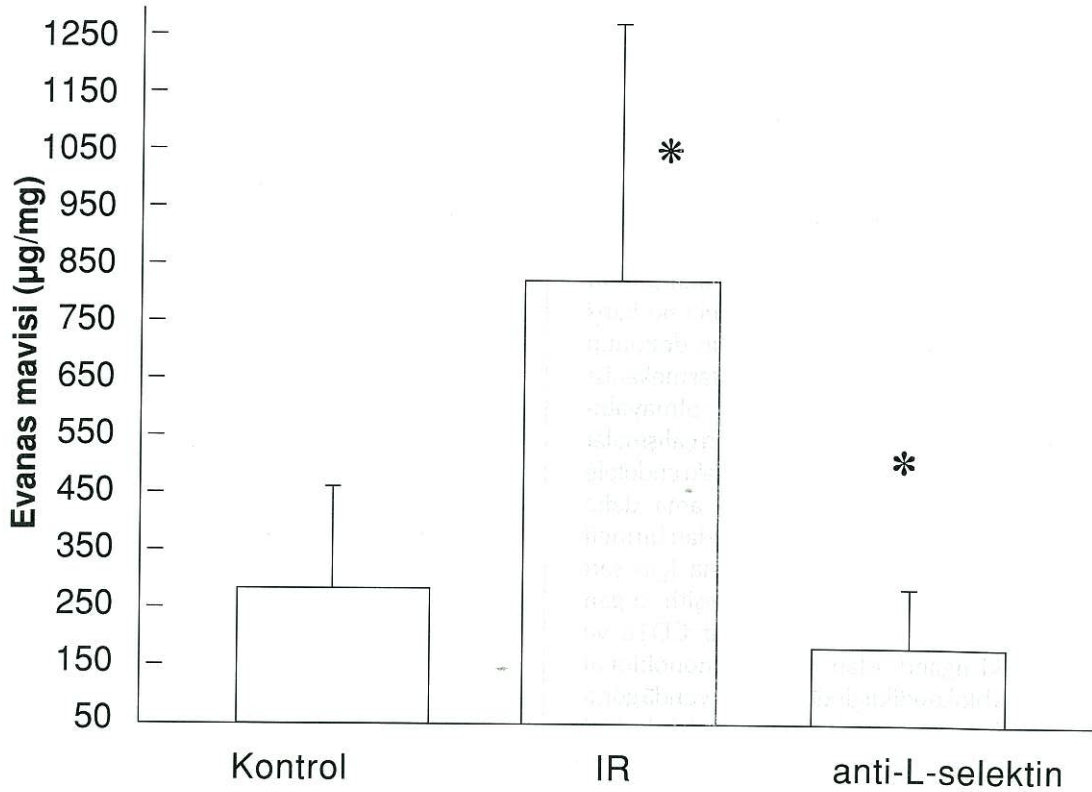
oldu. Barsaklarda iskemi reperfüzyonla gelişmiş olan permeabilite artışı L-selektinin blokajı ile tamama yakın oranda önlemlendi.

Akciğer kapillerlerindeki nötrofillerin CD11b/CD18 ve bunların endoteldeki karşılığı olan ICAM-1 oluşturmaları immunhistokimya yöntemleri ile izlendi. İntestinal İR hem nötrofillerde CD11b ve CD18 hemde endotelde ICAM-1 de artışa neden oldu (Tablo 1). L-selektinin monoklonal antikorlarla tedavisi intestinal İR ile nötrofillerdeki CD11b/CD18 artışını etkilemezken, endotel ICAM-1 oluşumunda belirgin bir düşüş sağladı (p < 0.001).

Akciğerler histopatolojik olarak değerlendirildiğinde barsak iskemi reperfüzyon hasarının önemli oranda akciğer nötrofil sekestrasyonuna neden olduğu belirlendi. Kontrol grubunda akciğer nötrofil sekestrasyonu 0 ± 0 PMN/YBA iken bu değer iskemi reperfüzyon grubunda 3.0 ± 0.53 PMN/YBA dı (p < 0.001). L-selektin blokajı iskemi reperfüzyonuna bağlı akciğer nötrofil sekestrasyonunda (2.17 ± 0.31 PMN/YBA) istatistiksel açıdan önemli oranda düşüğe neden oldu (p < 0.05). Bununla beraber bu değer kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksekti (p < 0.001). İntestinal İR barsaklarda Chiu skoru ile değerlendirilen mukozal hasarda belirgin artışa neden oldu. Kontrol grubunda bu değer 0 ± 0 iken İR ye maruz kalmış olan barsaklarda 3.86 ± 0.4 idi (p < 0.001). Anti-L-selektin tedavisi iskemi reperfüzyona bağlı mukozal hasarda düzelmeye sağlamadı (4.67 ± 0.21) (p > 0.05).

TARTIŞMA

Bu çalışma barsak reperfüzyonunun barsaklarda oluşan mukozal hasar ve permeabilite artışına ek olarak akciğerlerde artmış mikrovasküler permeabilitede, lökosit göçü ve nötrofil adezyon molekülleri CD11b/CD18 ile endotel adezyon molekülü ICAM-1 de artışla karakterize



Şekil 2. Evans mavisinin dokudaki konsantrasyonunu ölçerek değerlendirilmiş olan barsak mikrovasküler permeabilitesi. * $p < 0.001$ kontrol grubunun iskemik reperfüzyon (IR) ile karşılaştırılması ve † $p < 0.001$ L-selektine karşı monoklonal antikörlerle yapılan tedavinin (anti-L-selektin) IR grubu ile karşılaştırılması.

olan akciğer hasarına neden olduğunu göstermiştir. Dahası oluşan bu barsak ve akciğer hasarı L-selektin blokajı ile önemli oranda engellenebilmiştir. Bu bulgular iskemik barsağın reperfüzyonunu takiben gözlenen doku hasarının gelişiminde lökosit adezyon moleküllerinden L-selektinin çok önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir.

Reperfüzyon hasarının gelişiminde nötrofillerin kritik rol oynadıkları bilindiği için biz bu çalışmada nötrofillerin aktive olduklarında endotel tutunmalarına aracılık eden L-selektine karşı geliştirilmiş olan monoklonal antikörleri kullandık. Temel olarak nötrofiller iki tip glikoprotein yapısında adezyon molekülü yani β_2 integrinler ve L-selektin bulundurlar. Aktive olan nötrofiller yüzeylerindeki L-selektin aracılığı ile endoteldeki E-selektine tutunmakta ve bu aşama geçici yada gevşek adezyon olarak tanımlanmaktadır (4). Bu

aşamadan sonra daha kalıcı ve kuvvetli olan yapışma nötrofillerin üzerlerindeki glikoprotein yapısında bir başka grup adezyon molekülünün yani β integrinlerin (CD11b/CD18, CD11a/CD18) ve bunların endoteldeki karşılığı ICAM-1 arasında gerçekleşmektedir.^{3,9} Bu sıkı yapışmayı takiben yine çeşitli mediatörlerin etkisi ile nötrofiller endotel hasarına ve endotel arasından dokuya geçip inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle ilk aşama olan L-selektini bloke ettiğimizde hem barsaklardaki hemde akciğerdeki reperfüzyona bağlı olarak artmış olan mikrovasküler permeabilite ve akciğerlerdeki nötrofil birikimi düzeldi. Dahası L-selektin blokajı ile akciğer endotel yüzeyinde reperfüzyonla miktarı artmış olan ICAM-1 de belirgin bir düşüş sağlandı. Başka çalışmalarda da L-selektin blokajının alt ekstremitelerde İR sonrası kas ve akciğer hasarını engellediği gösterilmiştir (9,10,11,12). Benzer

şekilde L-selektin blokajının farelerde böbrek İR hasarını engellediği bildirilmiştir (13). Ayrıca L-selektinin nötrofil adezyonunun ilk aşamasında rol aldığı kadar, β_2 integrin-bağımlı adezyonda bir sinyal iletkeni olarak görev aldığıda gösterilmiştir (14). Bu bulgular reperfüzyona bağlı doku hasarı gelişiminde L-selektinin önemli rolü olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada L-selektin blokajının olumlu etkilerine rağmen baraklardaki mukozal hasarda ve akciğer CD11b/CD18 oluşumunda belirgin bir değişiklik sağlamadı. Bu olay L-selektine karşı kullandığımız monoklonal antikorun dozunun yetersizliği ile ilgili olabileceği gibi hasar mekanizmasının sadece L-selektine bağlı olmayabileceğinden de düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar β_2 integrinlerin nötrofillerin başlangıçtaki endotele tutunması için gerekli olmadığını ama daha sonraki aşamalarda görülen ve hasardan birincil derecede sorumlu olan sıkı yapışma için şart olduğunu göstermektedir (15). Çeşitli organ modellerindeki deneysel çalışmalar CD18 ve endoteldeki ligandı olan ICAM-1 monoklonal antikorlarla bloke edildiğinde reperfüzyonda görülen doku hasarının önemli oranda azaltılabildiğini göstermiştir (8,16).

Özetle, bu çalışmada barsak İR sinin barsaklarda oluşturmuş olduğu hasara ek olarak akciğerlerde mikrovasküler permeabilite artışı, lökosit göçü ve nötrofil adezyon molekülleri CD11b/CD18 ile endotel adezyon molekülü ICAM-1 de artışla neden olduğunu göstermiştir. Oluşan barsak ve akciğer hasarı L-selektin blokajı ile belirli bir oranda engellenebilmiştir. Bu bulgular iskemik barsağın reperfüzyonunu takiben gözlenen akciğer hasarının ve barsak mikrovasküler permeabilite artışının L-selektinin aracılık ettiği bir mekanizmayla geliştiğini ve bu hasarın L-selektinin bloke edilmesi ile hafifletilebileceğini işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Schmeling DJ, Caty MC, Oldham KT, Guice KS, Hinshaw DB. Evidence for neutrophil-related acute lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Surgery* 1989;106:193-202.
2. Foulds S, Mireskandari M, Kalu P, Jackson W, Cheshire NJ, Mansfield AO, Schachter M. Visceral ischemia and neutrophil activation in sepsis and organ dysfunction. *J Surg Res* 1998;75:170-176.
3. Kurose I, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Paulson JC, Todd RF, Rusche JR, Granger DN. Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage. *Circ Res* 1994;74:336-43.
4. Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* 1994;8:504-512
5. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA. Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9238-9242.
6. Smith CW, Marlin SD, Rothlein R, Toman C, Anderson DC. Cooperative interactions of LFA-1 and Mac-1 with intracellular adhesion molecule-1 in facilitating adherence and transendothelial migration of human neutrophils in vitro. *J Clin Invest* 1989;83:2008-2017.
7. Seekamp A, Mulligan MS, Till GO, Smith CW, Miyasaka M, Tamatani T, Todd RF, Ward PA. Role of β_2 integrins and ICAM-1 in lung injury following ischemia-reperfusion of rat hind limbs. *Am J Pathol* 1993;143:464-72.
8. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan JM. A monoclonal antibody to the adherence promoting leukocyte glycoprotein, CD18, reduces organ injury and improves survival from hemorrhagic shock and resuscitation in rabbits. *J Clin Invest*. 1988; 81: 939-44
9. Seekamp A, Till GO, Mulligan MS, Paulson JC, Anderson DC, Miyasaka M, Ward PA. Role of selectins in local and remote tissue injury following ischemia and reperfusion. *Am J Pathol* 1994;144:592-98.
10. Turnage RH, Kadesky KM, Bartula L, Myers SI. Intestinal reperfusion up-regulates inducible nitric oxide synthase activity within the lung. *Surgery* 1995;118:288-293
11. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al: Intestinal mucosal lesion in low flow states. *Arch Surg* 1970;101:478-483.
12. Lozano DD, Kahl EA, Wong HP, Stephenson LL, Zamboni WA. L-selectin and leukocyte function in skeletal muscle reperfusion injury. *Arch Surg* 1999;134:1079-81.
13. Raab H, Ramirez C, Saba SR, Reynolds D, Xu J, Flavell R, Antonia S. Renal ischemic-reperfusion injury in L-selectin-deficient mice. *Am J Physiol* 1996;271:F408-F413
14. Simon SI, Burns AR, Taylor AD, et al. L-selectin (CD62L) cross lining signals neutrophil adhesive functions via the Mac-1 (CD11b/CD18) β_2 -integrin. *J Immunol*. 1995;155:1502-14.
15. Hughes BJ, Hollers JC, Crockett-Torabi E, Smith CW. Recruitment of CD11b/CD18 to the neutrophil surface and adherence dependent cell

- locomotion. J Clin Invest 1992;90:1687-1696.*
16. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987;253:H699-H703.

YAZIŞMA ADRESİ:
Dr.Cüneyt KÖKSOY
İvedik Cad. 81/32
Demetevler, ANKARA