

Klinik Araştırma

Rosuvastatinin Ratlarda Bacak İskemi Reperfüzyonu Sonrası Eritrosit Membran Bütünlüğü Üzerine Etkisi

Yrd.Doç.Dr. Mehmet Kerem KARACA*, Yrd.Doç.Dr. Özden VEZİR*, Arş.Gör. Lokman AYAZ**
 Prof.Dr. Murat ÖZEREN*, Prof.Dr. Barlas Naim AYTAÇOĞLU*, Arş.Gör. Mehmet Ali SUNGUR***
 Prof.Dr. Nehir SUCU*

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, bacak iskemisi reperfüzyonu sonrası eritrosit membran bütünlüğü üzerine statin (rosuvastatin) ile ön tedavinin koruyucu etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Yirmi erişkin erkek Wistar rat iki gruba ayrıldı. İskemi reperfüzyon ve statin ile ön tedavi yapılan grup I (n:10) olarak ve tedavi edilmeyen grup II (n:10) olarak kabul edildi. Grup I'de rosuvastatin, günde tek doz 20mg/kg/gün dozunda 21 gün orogastrik sonda yoluyla verildi. Grup II'de 5cc/gün salin solüsyonu orogastrik sonda ile verildi. 22. gün her iki gruba da 4 saat iskemisi, 4 saat reperfüzyon gerçekleştirildi. Ratlar reperfüzyon periyodunun sonunda sakrifiye edilerek asendan aortadan biyokimyasal ölçümler için 5cc kan alındı. Eritrosit membran hasarını göstermek için Na⁺-K⁺ ATPase aktivitesi ve serum malondialdehid (MDA) düzeyi, hemolizi göstermek için serum LDH ve AST düzeyleri, ek olarak lipid metabolizmasını değerlendirmek için serum triasilgliserol (TAG), total kolesterol (TC), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-C), düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-C) düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Gruplar karşılaştırıldığında, serum MDA, LDL-C, TC ve serum LDH ve AST düzeylerinin Grup I'de anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü. Membran Na⁺-K⁺ ATPase aktivitesi ve serum HDL-C düzeyleri, Grup I'de daha yüksek bulundu. Grup I'de MDA ve Na⁺-K⁺ ATPase aktivitesi arasında negatif korelasyon bulundu. Ek olarak, serum MDA düzeylerindeki azalma, LDL-C düzeylerindeki azalma ile birliktelik gösteriyordu.

Sonuç: Rosuvastatin ile ön tedavi, bacak iskemisi reperfüzyon sonrası eritrosit membran bütünlüğü üzerine ve dolayısı ile hemolize karşı koruyucu etki göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Rosuvastatin kalsiyum, Hidroksimetil glutaril-CoA redüktaz inhibitörleri, Kan hücreleri, İskemi-reperfüzyon hasarı

Effects of Rosuvastatin on Erythrocyte Membrane Integrity after Hindlimb Ischemia Reperfusion in Rats

Abstract

Objective: Aim of this study is to research the protective effect of pretreatment with statin (rosuvastatin) on erythrocyte membrane integrity after hindlimb ischemia reperfusion.

Material and Method: Twenty adult male Wistar rats were divided into two groups. Ischemia reperfusion and statin pretreatment group as group I (n:10) and without treatment group II (n: 10). In Group I, rosuvastatin administered via oral gavage daily dose of 20mg/kg/day for 21 days. 5 cc saline solution was given to group II. After, 4 hours ischemia 4 hours reperfusion were performed on both groups on 22nd day. Rats were sacrificed at the end of reperfusion period and a 5 ml blood was withdrawn from ascending aorta for biochemical assays. Na⁺-K⁺ ATPase activity and the levels of serum malondialdehyde (MDA) for demonstrating erythrocyte membrane injury, serum LDH and AST levels for detecting hemolysis and additionally serum triacylglycerol (TAG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels were measured for lipid metabolism.

Results: Comparison between the groups were showed that serum MDA, LDL-C, TC and serum LDH and AST levels were found significantly low in group I. Membrane Na⁺-K⁺ ATPase activity and serum HDL-C levels were found high in group I. Negative correlation was found between MDA levels and Na⁺-K⁺ ATPase activity in group I. Additionally, diminishing levels of serum MDA was showing togetherness with the diminishing levels of LDL-C.

Conclusions: Pretreatment with the rosuvastatin shows protective effect on erythrocyte membrane integrity and therefore hemolysis after hindlimb ischemia reperfusion.

Keywords: Rosuvastatin calcium, Hydroxymethylglutaryl-Coa reductase inhibitors, Blood cells, Ischemia-reperfusion injury

* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, ** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, ***Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı, Mersin

Yazışma Adresi: Mehmet Kerem Karaca, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Mersin
 e-posta: karacamk@yahoo.com Geliş Tarihi: 17.03.2014 Kabul Tarihi: 19.02.2015

Giriş

İskemi reperfüzyon özellikle kardiyovasküler cerrahide sıkça karşılaşılan klinik problemdir. Reperfüzyon hasarı akut arteryel oklüzyonun sebep olduğu iskeminin geri döndürülmesinde cerrahi girişimlerin kaçınılmaz sonucudur. Hasar sadece organlarla sınırlı değildir distal organ hasarı da oluşur.¹

Reperfüzyon hasarının ilk hedefi mikrosirkülasyondur. Lökosit endotel etkileşimi, reaktif oksijen molekülleri (ROS) ve elastaz salınımını tetikleyerek transendotelial migrasyon ve doku hasarına neden olur.² Eritrositler gibi birçok doku ve hücre bu eksojenöz ROS nedeniyle zarar görebilir.³

Eritrosit deformabilitesi normal mikrovasküler dolaşım için çok önemli bir düzenleyici faktördür. Membranın viskoelastik özelliği eritrosit deformabilitesi için majör sorumlu bir faktördür ve bu özellik eritrosit sodyum doygunluğu ile ilişkilendirilmiştir.^{4,5}

Birçok çalışma serum lipidlerine etkisinden bağımsız olarak statinlerin antioksidan etkilerini kanıtlamıştır. Statinler endotelial NOS sentezini artırarak NADPH'ın oksidaz aktivitesini düşürür ve endotelial disfonksiyonu düzeltir.^{6,7}

Daha önce yapılan çalışmalar rosuvastatinin spinal kordda, intestinumda, renal, testiküler, beyin ve spinal dokularda iskemi-reperfüzyon hasarının indüklediği lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir fakat rosuvastatinin alt ekstremite iskemi reperfüzyon hasarında eritrosit membran bütünlüğü üzerine koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.^{8,12}

Hipotezimiz, rosuvastatin sadece dolaşımdaki kolesterol seviyesini düşürmekle kalmayıp ayrıca iskemi reperfüzyon sonrası eritrosit membran bütünlüğünü korumaktadır. Alt ekstremite iskemi reperfüzyon modelinde rosuvastatin ön tedavisinin eritrosit membran bütünlüğü üzerine etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

DeneySEL protokol

20 erişkin erkek ratlardan 250-300 gr olanları çalışma için seçildi ve rastgele 2 eşit gruba ayrıldı. Tüm hayvan prosedürleri ulusal sağlık kılavuzuna uygun ve titizlikle gerçekleştirildi ve çalışmaya başlamadan önce etik kurul onayı alındı.

Test ilacı: Rosuvastatin 20mg tb, Salutis statin grubu-

nun bir üyesidir ve HMG coa redüktazın yarışmalı inhibitörüdür.¹³

Ratlar grup I (n=10); 21 gün boyunca 20 mg/kg/gün orogastrik sonda ile statin verilen ve grup II; orogastrik sonda ile sadece 5cc izotonik solüsyon verilen grup olarak, 2 ayrı gruba ayrıldı.¹⁴

Her iki grupta da çalışma süresi boyunca yan etki gözlenmedi. 22. günde 24°C oda sıcaklığında tüm ratlara intramüsküler 100 mg/kg ketamin ile anestezi uygulandıktan sonra, Sucu N ve ark.'nın daha önce tarif ettikleri şekilde ratların her iki alt ekstremitelerine, trokanter majör proksimalinden turnike uygulandı. 4 saatlik iskemi sonrası turnikeler açıldı ve 4 saatlik reperfüzyon sağlandı.²⁷ Reperfüzyon periyodunun sonunda ketamin anestezisi altında midsternotomi ile asendan aortaya ulaşılarak buradan biyokimyasal ölçümler için 5ml kan alındı.

Biyokimyasal ölçümler

Eritrosit membranının hazırlanması: Eritrosit membran ATP az aktivitesinin ölçümü için Beutler ve ark.'nın prosedürüyle hazırlandı.¹⁵

Na⁺-K⁺ ATP az aktivite ölçümü: Na⁺-K⁺ ATP az membran enzimidir ve iyonik ve ozmotik denge ve aktif transport gibi önemli hücre fonksiyonlarında görev alır.¹⁶ ATP az aktivitesi ölçümü, inkübasyon ortamına eklenen 3mm/L disodyum adenozin 5'trifosfat (ATP) varlığında, her 1 miligram protein için 1 saatte salınan inorganik fosfat temeline dayanılarak yapılmıştır. İnkübasyon ortamına ATP'den inorganik fosfat salınmış ve ölçümler Reading ve Isbir tarafından önerilen metoda uygun olarak yapılmıştır.¹⁷ ATP az aktivite hesaplanması için protein içerikli örnekler Lowry ve ark.'nın geliştirdiği metodu uyum içinde yapılmıştır ve standart olarak serum albümini kullanılmıştır.¹⁸ Na⁺-K⁺ ATP az enzim aktivitesinin sonuçları nmol Pi mg-1 protein saat-1 olarak ifade edilmiştir.

Malonildialdehit serum ölçümü: Hücre membranında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun yan ürünüdür ve membran hasarının güvenilir belirteci olarak kullanılmaktadır.¹⁹ Serum MDA düzeyleri Yagi metoduna uygun olarak tiyobarbitürik asit (TBA) reaksiyonuyla tespit edilmiştir.²⁰ Metodun prensibi MDA ile barbitürik asitin etkileşimi sonucu oluşan pembe rengin yoğunluğunun kolorimetrik olarak ölçümlerine dayanmaktadır. Renk reaksiyonunda primer standart olarak 1,1,3,3 tetraetoksipropan kullanılmıştır.

Lipid parametrelerinin ölçümü: Serum triaçilgliserol (TAG), total kolesterol (TC) ve yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-C) değerleri gliserofosfat oksidaz, peroksidaz/4-aminofenazon (GPO/PAP), kolesterol oksidaz, peroksidaz/4-aminofenazon (CHOD/PAP) ve direkt CHOD/PAP enzimatik kolorimetrik metodlarla ayrı ayrı analiz edilmiştir. Düşük dansite lipoprotein-kolesterol (LDL-C) Friedewald ve ark.'nın tanımladıkları denklem ile hesaplandı.²¹ Tüm bu parametreler Cobas 501 biyokimyasal oto analiz cihazı (Roche diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) ile tespit edildi.

AST ve LDH ölçümleri: Serum LDH ve AST düzeyleri Cobas 501 biyokimyasal oto analiz cihazı (Roche diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) ile analiz edildi.

İstatistiksel Analiz

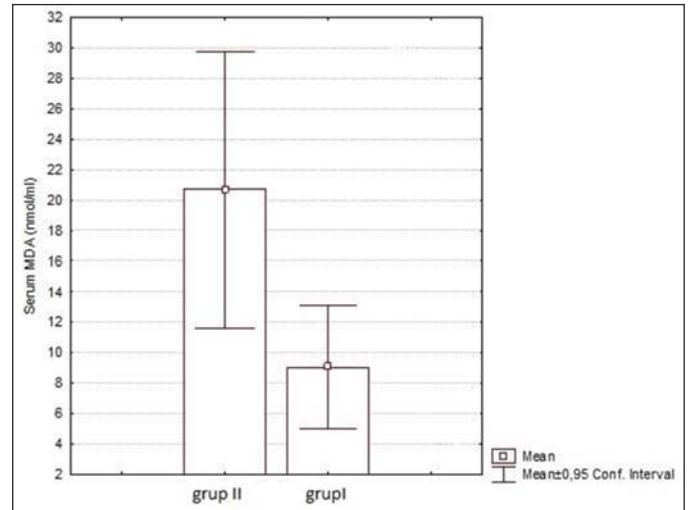
İstatistiksel analizlerde Windows için SPSS yazılım paketi (sürüm 11.5) kullanıldı (SPSS Inc., Chicago, 111., USA). Biyokimyasal parametreler normal dağılım için Shapiro-Wilks test kullanılarak kontrol edildi ve test sonuçları normal dağılım gösterdi. Tüm biyokimyasal veriler için bağımsız örnek T testi kullanılarak istatistiksel analiz yapıldı. Her grup için Pearson testi ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyona bakıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma (SD) şeklinde belirtildi. P değerleri 0,05'in altında anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Serum MDA, AST, LDH, LDL-C, HDL-C, TAG ve TC seviyeleri ve eritrosit membran Na⁺-K⁺ ATP az aktivitesi tablo 1'de gösterilmiştir. Grup I MDA düzeyleri yönünden grup II ile karşılaştırıldığında anlamlı düşüşler göstermiştir (p=0,016, Şekil 1). Grup I'de eritrosit mem-

bran Na⁺-K⁺ ATP az aktivitesi grup II ile karşılaştırıldığında artmış olarak bulundu ve bu gruplar arasındaki farklar anlamlıydı (p=0,001, Şekil 2). TC (p=0,012) ve LDL-C (p=0,017) seviyeleri grup I'de grup II'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu (Şekil 3). Fakat TAG seviyelerinde gruplar arasında anlamlı olarak fark bulunmadı. Grup I'de AST (p=0,001) ve LDH (p=0,001) seviyeleri grup II ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Grup I için korelasyon analizlerinde AST seviyeleri serum LDL, MDA ve eritrosit membran ATP az aktivitesi ile ilişkilendirildi (sırasıyla r=0,722, p=0,018; r=-0,703 p=0,023; r=-0,744 p=0,014). Serum LDL seviyelerinin, Na⁺-K⁺ ATP az enzim aktivitesi ile ilişkili olduğunu bulduk (r=-0,720 p=0,019). Serum MDA seviyeleri Na⁺-K⁺ ATP az enzim aktivitesi ile ilişkilendirildi (r=-0,799 p=0,006). Serum MDA seviyeleri LDL-C ile ilişkilendirildi (r=0,749 p=0,013).

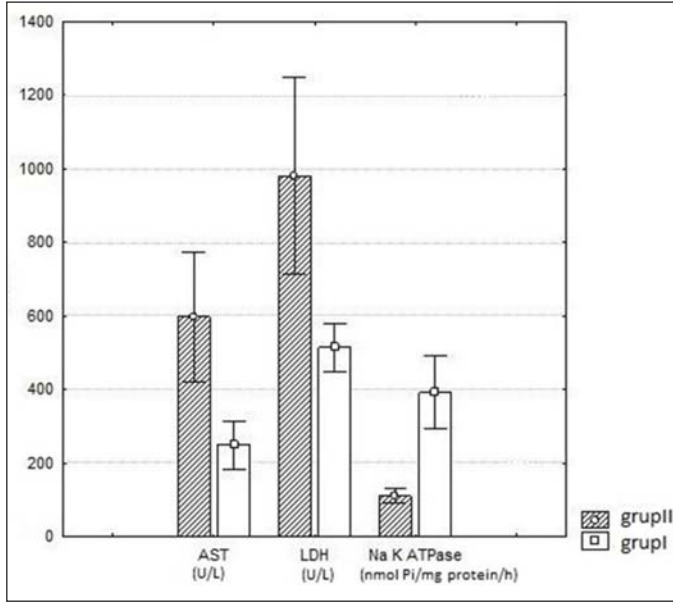


Şekil 1: Rosuvastatinin gruplardaki MDA düzeylerine etkisi

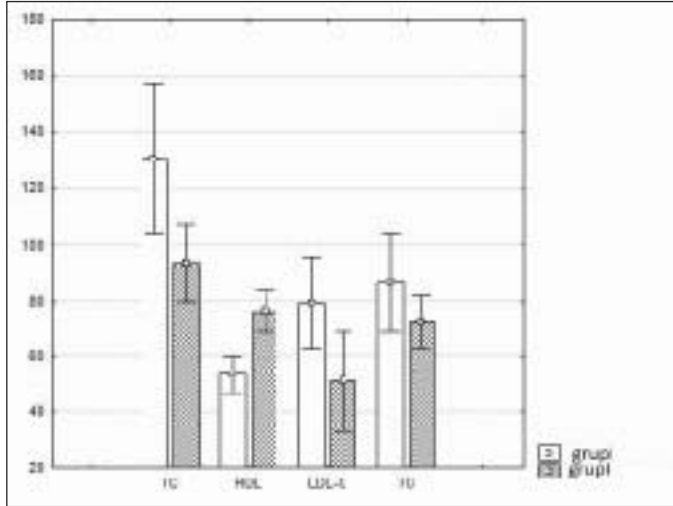
Tablo 1: Serum MDA, AST, LDH, lipid düzeyleri ve eritrosit membran Na⁺-K⁺ATPase aktivite düzeyleri

Parametreler	Gruplar		P değeri
	Grup I (n=10)	Grup II (n=10)	
Serum MDA (nmol/mL)	9,048±5,67	20,68±12,68	0,016
ATPase (nmol Pi /mg protein/ h)	392,11±137,71	110,14±26,71	0,001
AST (U/L)	249,210±92,26	597,19±247,83	0,001
LDH (U/L)	514,70±92,2	981,30±374,05	0,001
TG (mg/dL)	72,52±13,51	86,48±24,44	0,131
LDL-C (mg/dL)	50,83±25,16	79,25±23,18	0,017
HDL-C (mg/dL)	76,36±10,61	52,96±9,41	0,001
TC (mg/dL)	93,42±18,82	130,57±37,54	0,012

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. n: örnek sayısı, p: gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılığını ifade etmektedir.



Şekil 2: Rosuvastatinin AST, LDH ve Na-K-ATPase düzeylerine etkisi



Şekil 3: Rosuvastatinin I/R hasarında lipid profili üzerine etkisi (I/R: İskemi/Reperfüzyon)

Grup II için korelasyon analizlerinde AST seviyeleri LDL ($r=0,745$ $p=0,014$), MDA ($r=0,698$, $p=0,0025$) ile pozitif korelasyon gösterdi ve eritrosit membran Na⁺-K⁺-ATP az enzim aktivitesi ($r=-0,95$ $p=0,001$) ile negatif korelasyon gösterdi. Serum LDH seviyeleri ile eritrosit membran Na⁺-K⁺-ATP az enzim aktivitesi arasında negatif korelasyon vardı ($r=-0,744$ $p=0,014$).

Tartışma

Statinlerin (fluvastatin, pravastatin, lovastatin, rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin) kardiyovasküler mor-

bidite ve mortalite üzerine yararlı etkileri daha önce gösterilmiştir.¹³ Diğer lipid-bağımsız pleiotropik hareketler statinlerin kardiyoprotektif etkisine katkıda bulunurlar ve bu etki deneysel çalışmalarda oksidatif stres ve enflamasyonun azalması, trombojenik yanıtın inhibisyonu ve vazodilatör etkiler olarak dökümanite edilmiştir. Bazı çalışmalar kan kolesterol seviyelerinin normal değerlere düşürüldüğünde eritrosit membran akışkanlığını, lipid peroksidasyonunu ve iyonik dengeyi düzenlediğini göstermiştir.^{22,23}

Enflamatuvar mediyatörlerin sistemik salınımına bağlı olarak, ROS üretiminde azalmayla sonuçlanan bu olay iskemik reperfüzyon fenomeni ile açıklanmaktadır.²⁴ ROS'un vücuttaki ana kaynağı endotel hücreleri ve lökositlerdir. ROS biyolojik membranlarda bulunan protein, nükleik asit ve lipidler ile reaktif olmaktadır.²⁵ Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ asidi ve non-radikal ürünlerde, alkenler ve karbonil karışımlar gibi serbest radikaller ile başlatılır. ROS atağının primer hedefi membran lipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitleridir. Hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, hücre yapısı ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır.

Malonildialdehit, aktif oksijen radikallerinin, hücre membranı üzerindeki doymamış yağ asitlerine toksik etkisi sonucu, hücre membranından salınır ve artmış serum seviyesi membran hasarını gösterir.¹⁹ Bu çalışmada, serum MDA düzeyleri grup I'de, grup II ile karşılaştırıldığında net olarak düşmüştür (Tablo I). Bu bulgu, iskemik reperfüzyon sonrası lipid peroksidasyonunun önlenmesinde, rosuvastatin ile ön tedavinin etkili olduğunu desteklemektedir. Rosuvastatinin koruyucu etkisi 2 muhtemel yolla açıklanabilir. Birinci muhtemel mekanizma antioksidan özellik. ROS üretimini hücrelerde direkt etkilemektedir.²⁷ Naidu ve ark. akciğer dokusunda iskemik reperfüzyon şeklinde deneysel model ile çalışmış ve simvastatinin akciğer dokusunda nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz salınımını arttırdığını göstermişlerdir. Bu, mitokondriyal serbest oksijen radikallerinin üretiminin azalmasına neden olabilir.²⁸ Daha önce yapılmış çalışmalar, eritrosit membranındaki lipid içeriğinin lipid düşürücü tedavi ile değişmekte olduğunu göstermişlerdir.^{4,5} Serum kolesterol değerlerinin ve membran lipid içeriğinin düşmesi oksidatif stresten korunmanın ikinci mekanizması olarak düşünülebilir. Grup I'de eş zamanlı serum MDA ve LDL-C düzeylerinin düşmesi bu hipotezi desteklemektedir ($r=0,749$ $p=0,013$).

İskemi reperfüzyon hasarı, oksidatif stres oluşumuna ve eritrosit antioksidan savunma mekanizmasının zayıflamasına neden olmaktadır. Reaktif oksijen molekülleri lipid ve proteinlerin oksidasyonunu tetikleyerek, eritrosit membranında bozulmalara ve sonunda hemolize neden olmaktadır.²⁹

Çalışmamızda, AST ve LDH hemoliz göstergesi olarak değerlendirilmiştir.³² Serum AST ve LDH düzeylerinin statin tedavisiyle düştüğünü gösterdik. Hemoliz göstergeleri ve MDA değerleri arasında grup 2'de anlamlı pozitif korelasyon bulduk ($p=0,016$). Grup 2'de hemoliz göstergelerinde ve MDA seviyelerinde düşme saptadık. Bulgularımız, rosuvastatin ile ön tedavinin eritrosit membran hasarını önlediğini ve hemoliz için koruyucu etki sağladığını doğrulamaktadır. Statinlerin oksidatif stres belirteçlerini azalttığı ve membran kolesterol peroksidasyonunu düşürdüğü daha önce rapor edilmiştir.^{22,23}

Na⁺-K⁺ ATP az, hücre membranında yer alır ve hücrenin istirahat membran potansiyelinin düzenlenmesinde, iyonik ve ozmotik denge, aktif transport gibi önemli hücre fonksiyonlarında görev alır. İskemi reperfüzyon sonrası, ATP ve adenozin difosfat gibi yüksek enerjili

fosfatlar, iskemi reperfüzyon sonrası yıkılır, protonlar ve inorganik fosfatlar hücre içerisinde birikir ve Na-K ATP az gibi iyon pompaları hasar görür. Aktivitesindeki azalma, hücre membran hasarının göstergesidir.³⁰ Daha önce yapılmış olan birçok çalışma böbrek, karaciğer ve hipokampus gibi farklı dokularda Na⁺-K⁺ ATP az aktivitesinin iskemi reperfüzyon süresince değişikliğe uğradığını rapor etmiştir.^{26,30,31} Bizde bu çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, iskemi reperfüzyon sonrası, rat eritrositlerinde lipid peroksidasyonun artmış olduğunu ve ATP az aktivitesinde kötü yönde değişiklikler olduğunu tespit ettik. Ratlarda iskemi reperfüzyon öncesi rosuvastatinle tedavi anlamlı olarak ATPaz aktivitesinde artışa ve lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olmuştur. Grup I için korelasyon analizlerinde eritrosit membran ATPaz aktivitesiyle hemoliz göstergeleri ve MDA seviyeleri arasında negatif ilişki bulduk.

Sonuç olarak rosuvastatinin eritrosit membran bütünlüğünü, dolayısıyla hemolize karşı koruyucu etkisini iskemi reperfüzyon rat modelinde gösterdik. Bu olumlu etkiler lipid metabolizması ile ilişkilendirilip, eritrosit hücre membranında oksidatif stresi azaltabilmektedir.

Kaynaklar

1. Carden DL, Granger DN: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000;190:255-66
2. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;78:651-55.
3. Baskurt OK, Temiz A, Meiselman HJ. Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Radic Biol and Med* 1998;24:102-10.
4. Koter M, Franiak I, Broncel M, Chojnowska-Jeziarska J. Effects of simvastatin and pravastatin on peroxidation of erythrocyte plasma membrane lipids in patients with type 2 hypercholesterolemia. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81:485-92
5. Miossec P, Zkhiri F, Paries J, David-Dufilho M, Devynck MA, Valensi PE. Effect of pravastatin on erythrocyte rheological and biochemical properties in poorly controlled type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 1999;16:424-30.
6. Wassmann S, Laufs U, Müller K et al. Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:300-5.
7. Nohria A, Prsic A, Liu PY et al. Statins inhibit rho kinase activity in patients with atherosclerosis 2009;2052:517-21
8. Die J, Wang K, Fan L, Jiang Y, Shi Z. Rosuvastatin preconditioning provides neuroprotection against spinal cord ischemia in rats through modulating nitric oxide synthase expressions. *Brain Res* 2010;1346:251-61.
9. Liuni A, Luca MC, Gori T, Parker JD. Rosuvastatin prevents conduit artery endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion by a cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(10):1002-6.
10. Karakaya E, Ateş O, Akgür FM, Olguner M. Rosuvastatin protects tissue perfusion in the experimental testicular torsion model. *Int Urol Nephrol* 2010;422:357-60.
11. Mayanagi K, Katakam PV, Gaspar T, Domoki F, Busija DW. Acute treatment with rosuvastatin protects insulin resistant C57BL/6J ob/ob mice against transient cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28(12):1927-35.
12. Naito Y, Katada K, Takagi T et al. Rosuvastatin reduces rat intestinal ischemia-reperfusion injury associated with the preservation of endothelial nitric oxide synthase protein. *World J Gastroenterol* 2006;12(13):2024-30.
13. Koenig W, Ridker PM. Rosuvastatin for primary prevention in patients with European systematic coronary risk evaluation risk $\geq 5\%$ or Framingham risk $>20\%$: post hoc analyses of the JUPITER trial requested by European health authorities. *Eur Heart J* 2010 Oct 22. Epub ahead of print.

14. Yan-Ming Sun, Ye Tian, Xiang Li et al. Effect of atorvastatin on expression of IL-10 and TNF-alpha mRNA in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009;382:336-340.
 15. Beutler E, KuhlW, Sachs P. Sodium-potassium ATPase activity is influenced by ethnic origin and not by obesity. *N Engl J Med* 1983;309:756-60.
 16. Tuna M, Polat S, Erman T, Ildan F, Gocer AI, Tuna N. Effect of anti-rat interleukin-6 antibody after spinal cord injury in the rat: inducible nitric oxide synthase expression, sodium- and potassium-activated, magnesium-dependent adenosine-5'-triphosphatase and superoxide dismutase activation, and ultrastructural changes. *J Neurosurg* 2001;95:64-73.
 17. Reading HW, Isbir T. The role of cation-activated ATPases in transmitter release from the rat iris. *Quart J Expr Physiol* 1988;65:105-16.
 18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1954;193:265-75.
 19. Ozyurt H, Irmak ÖK, Akyol O, Sogut S. Caffeic Acid Phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischaemia-reperfusion injury. *Cell Biochem Funct* 2001;19:259-63.
 20. Armstrong D, editor. *Free radicals in diagnostic medicine*. Plenum Press, New York 1994:1-15.pp.
 21. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
 22. Kural BV, Orem C, Uydu HA, Alver A, Orem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant-antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coron Artery Dis* 2004;15:277-83.
 23. Miwa S, Watada H, Omura C, Takayanagi N, Nishiyama K, Tanaka Y. Anti-oxidative effect of fluvastatin in hyperlipidemic type 2 diabetic patients. *Endocr J* 2005;52:259-64.
 24. Seekamp A, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *Agents Actions Suppl* 1993;41:137-52
 25. Hauet TH, Bauza G, Goujan M et al. Effect of trimetazidine on lipid peroxidation and phosphorus metabolites during cold storage and reperfusion of isolated perfused rat kidneys. *Pharmacol Exp Ther* 1998;285:1061-67
 26. Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α -tocopherol in rat's kidney. *Urol Res* 2001;29:190-93.
 27. Sucu N, Unlu A, Tamer L, Aytacoglu B, Coskun B, Bilgin R. Effects of trimetazidine on tissue damage in kidney after hindlimb ischemia-reperfusion. *Pharmacological Research* 2002;46:345-49
 28. Naidu BV, Woolley SM, Farivar AS, Thomas R, Fraga C, Mulligan MS. Simvastatin ameliorates injury in an experimental model of lung ischemia-reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:48-9
 29. Hersley K, Robinson KA, Gabbita SP, Selsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signalling and cell injury. *Free Rad Biol Med* 2000;28:1456-62.
 30. Ilhan N, Halifeoglu I, Ozercan HI, Ilhan N. Tissue malondialdehyde and adenosine triphosphatase level after experimental liver ischaemia-reperfusion damage. *Cell Biochem Funct* 2001;19:207-12.
 31. Wyse AT, Zugno AI, Streck EL et al. Inhibition of Na-K ATPase activity in hippocampus of rats subjected to acute administration of homocysteine is prevented by vitamins E and C treatment. *Neurochem Res* 2002;27:1685-89.
 32. Monika R.A, Raphael A.F, Marvin E.R. Higher Rates of Hemolysis Are Not Associated with Albuminuria in Jamaicans with Sickle Cell Disease. *PLoS One* 2011 Apr 14;6(4).
-