T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN AKUT RESPİRATUAR DİSTRES SENDROMUNDA KORTİKOSTEROİDLER VE ANTİOKSİDANLARIN TEDAVİ YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Nazlı EROL

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Leyla SAĞLAM

UZMANLIK TEZİ
ERZURUM 2014

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR ..... **IV**

ŞEKİLLER ..... **V**

ONAY ..... **VII**

TEŞEKKÜR ..... **VIII**

ÖZET ..... **IX**

ABSTRACT ..... **X**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **XI**

1.GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1 Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS) Tanımı ve Tarihçesi 3

2.2 NAECC (North American-European Consensus Committee - Amerika ve Avrupa Konsensus Konferansı) 3

2.3 Patogenez 5

2.4 Etiyoloji ve Epidemiyoloji 7

2.5 İnsidans ve Prevelans 8

2.6 Prognoz 9

2.7 Klinik ve Laboratuar Bulguları 10

2.8 Tedavi 12

2.8.1 Nonfarmakolojik Tedavi 12

2.8.2 Farmakolojik Tedavi 15

2.9 Deney Modeli 16

2.10 Antioksidanlar 18

2.11 Serbest radikaller: 18

2.11.1 Serbest radikal kaynakları: 20

2.11.2 Antioksidan savunma sistemleri 20

2.11.2.1 Endojen (Doğal) antioksidanlar: 21

2.12 Alfa Lipoik Asit (ALA) 22

2.13 Antioksidan etki tipleri: 23

2.14 Serbest Radikallere Bağlı Klinik Durumlar 24

3. MATERYAL VE METOT 25

3.1 Deney Hayvanları 25

3.2 Patolojik Analizler 27

3.3 Kan Serumlarında Sitokinlerin Ölçümü 28

3.4 Biyokimyasal Analizler 28

3.4.1 Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçümü 28

3.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü 29

3.4.3 Total Glutatyon (GSH) Miktarı Ölçümü 29

3.4.4 Lipit Preoksidasyon (LPO) miktarı ölçümü 30

3.5 İstatistiksel Analizler 31

4. BULGULAR 32

4.1 Histopatolojik İncelemeler 32

4.2 Biyokimyasal Analizler 42

4.2.1 Serum TNF - α ve IL - 1β Düzeyleri 42

4.2.2 Akciğer dokusu Lipit Peroksidasyon (LPO), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon (GSH) ve Katalaz (CAT) düzeyleri 43

4.2.2.1 Doku LPO düzeyi 43

4.2.2.2 Doku SOD aktivite düzeyi 44

4.2.2.3 Doku GSH düzeyi 45

4.2.2.4 Doku CAT aktivite düzeyi 45

5. TARTIŞMA 47

SONUÇ 61

KAYNAKLAR 62

TABLOLAR

Tablo 1: NAECC-ALI ve ARDS Tanı Kriterleri **4**

Tablo 2 : Önerilen yeni ARDS sınıflaması **4**

Tablo 3. ALI/ARDS' nin etiyolojisi ve Risk faktörleri **7**

Tablo 4: Primer ve Sekonder ALI/ARDS Farkları **8**

Tablo 5: ALI ve ARDS etiyololojisi oranları **8**

Tablo 6: ALIVE ile Eisner ve ark. çalışmalarında etiyolojiye göre ALI ve ARDS mortalite oranları..... **10**

Tablo 7 : ALI ve ARDS'de akut organ yetmezliği sıklığı **12**

Tablo 8: Serbest radikal kaynakları **20**

Tablo 9. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Düşünülen Bazı Klinik Durumlar. **24**

Tablo 10. Tüm gruplara ait patolojik parametre skorları **34**

Tablo 11. Tüm gruplara ait toplam hasar skorları ve tedavi yanıtları..... **34**

ŞEKİLLER

Şekil 1 : ALI ve ARDS Patogenez Özeti **6**

Şekil 2: GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik **30**

Şekil 3: LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik **31**

Şekil 4 : Sağlıklı görünüm (Grup 1) **35**

Şekil 5 : Hiperemi, hemoraji, yaygın ödem (Grup 2). **36**

Şekil 6 : Polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu, vaskülitis (Grup 2). **36**

Şekil 7 : Normale yakın bir görünüm (Grup 3). **37**

Şekil 8 : Hafif derecede ödem, interalveolar septumlarda kalınlaşma (Grup 3). **37**

Şekil 9 : Orta şiddette yangı ve ödem (Grup 4). **38**

Şekil 10 : Perivasküler ve peribronş-bronşioler lokalizasyonlu nötrofil hücre proliferasyonları (Grup 4). **38**

Şekil 11 : Çok sayıda olmayan nötrofilik akut yangı hücreleri (Grup 5) **39**

Şekil 12 : Hafif şiddette hiperemi ve ödem (Grup 5). **39**

Şekil 13 : Kanama, ödem, hyalini görünüm ve sporadik yangı hücreleri (Grup 6). **40**

Şekil 14 : Damar duvarlarında büyüme, ödem, hiyalinizasyon ve nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları, perivasküler nötrofil hücre proliferasyonu (Grup 6). **40**

Şekil 15 : Bronş, bronşiyol ve bazı damarların duvarında ve çevresinde şiddetli derecede yangısal reaksiyonlar (Grup 7) **41**

Şekil 16 : Yaygın polimorfnükleer hücre infiltrasyonları ile karakterize yangı tablosu (Grup 7) **41**

Şekil 17 : Serum TNF-α düzeyleri **42**

Şekil 18 : Serum IL-1β düzeyleri **43**

Şekil 19 : Doku LPO düzeyleri **44**

Şekil 20 : Doku GSH düzeyleri **45**

Şekil 21 : Doku SOD aktivite düzeyi **44**

Şekil 22 : Doku CAT aktivite düzeyi **46**

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 19.07.2012 tarih ve 253 sayılı yazısı ile " **Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Akut Respiratuar Distres Sendromunda Kortikosteroidler ve Antioksidanların Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi** " konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Nazlı EROL tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nca görüşülmüş ve 29.08.2012 tarih ve 3 sayılı oturumunun 33 nolu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür. Çalışma Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nca 29.08.2012 tarih ve 3 sayılı oturumunun 33 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Leyla SAĞLAM' a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında patolojik analizlerde desteğini esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanlığı' na, hayvan deneylerinin gerçekleşmesinde önemli katkıları bulunan ATADEM Müdürlüğü' ne, biyokimya analizlerini gerçekleştirmemde sınırsız destekte bulunan Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı' na teşekkür ederim.

Mesleki bilgi ve becerilerimi kazanmam konusunda emekleri olan değerli hocalarım, Prof. Dr. Metin GÖRGÜNER' e, Prof. Dr. Hasan KAYNAR' a, Prof. Dr. Mehmet MERAL' e, Prof. Dr. Metin AKGÜN' e, Yrd. Doç. Dr. Elif YILMAZEL UÇAR' a ve Yrd. Doç. Dr. Ömer ARAZ' a, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen beraber çalıştığım asistan arkadaşlarım Dr. Esin SONKAYA'ya, Dr. Fikriye KALKAN'a, Dr. Buğra KERGET'e, hemşire arkadaşlarıma, yardımcı sağlık personeline, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

Dr. Nazlı EROL

ÖZET

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Akut Respiratuar Distres Sendromunda Kortikosteroidler ve Antioksidanların Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi

Amaç: Akut respiratuar distres sendromu (ARDS) hala kesin bir tedavisi olmayan mortalitesi yüksek bir hastalıktır. ARDS' da meydana gelen patolojilerin oluşmasında önemli sebeplerden biri de reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşturduğu hücresel hasarlar olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada amacımız antioksidan etkisi bilinen α - lipoik asit (ALA), vitamin C (VITC) ve vitamin E (VITE) ile birlikte düşük doz kortikosteroid (DDKS) ve yüksek doz kortikosteroid (YDKS)' unun bu hücresel hasarlar üzerine etkisini incelemektir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, 42 adet "sprague dawley" cinsi ratda oleik asit (OA) ile oluşturulan ARDS modeli dizayn edildi. Ratlar kontrol, OA, ALA, VITC, VITE, DDKS ve YDKS olarak 7 gruba ayrıldı. ALA grubuna 100 mg/kg ALA, VITC grubuna 100 mg/kg VITC, VITE grubuna 100 mg/kg VITE oral olarak, DDKS grubuna 5 mg/kg, YDKS grubuna ise 50 mg/kg metil prednizolon intraperitonal yolla tek sefer uygulandı. Tedavilerin uygulanmasından hemen sonra kontrol grubu hariç tüm gruplara 50 μl OA + 250 μl %1 BSA solüsyonu uygulandı. Bu ratların akciğer dokularında rutin yöntem ile histopatolojik durum incelendi. Ayrıca, spektrofotometrik yöntemler kullanılarak lipit peroksidasyon (LPO) ve glutatyon (GSH) seviyeleri ile katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ölçüldü. Ratların serumunda ELISA metodu kullanılarak IL - 1β ve TNF – α sitokinleri ölçüldü.

Bulgular: OA grubunun akciğer dokularında hiperemi, hemoraji, yaygın ödem, damar duvarlarında hiyalinizasyon, vaskülitis, yaygın nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları, polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu, intersitisyel dokuda kanama ve yaygın yangı hücreler gibi patolojik bulgular gözlendi. Ayrıca bu grupta IL - 1β, TNF – α ve LPO seviyelerinin anlamlı şekilde artmış olduğu, GSH seviyesi ile SOD ve CAT aktivitelerinin aynı şekilde düşmüş olduğu belirlendi ($p<0,05$). ALA, VITC ve VITE grupları, OA grubu ile kıyaslandığında, ALA normale yakın bir histopatolojik görünüm sergilerken, VITC ve VITE gruplarında orta düzeyde yangı bulgularına rastlandı. Diğer taraftan bu tedavilerin (OA grubunda önemli seviyede atmış bulunan) IL - 1β, TNF – α ve LPO seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ek olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli seviyede düşük bulunan GSH seviyesi ile SOD ve CAT aktiviteleri ise bu gruplarda yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). DDKS grubunun akciğer dokusunda, damar duvarlarında büyüme, ödem, hiyalinizasyon ve nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları, yaygın nötrofil hücre proliferasyonu, intersitisyel dokuda kanama, ve sporadik yangı hücreleri gözlendi. DDKS grubunda, CAT aktivitesi ve GSH seviyesini anlamlı olarak etkilemezken ($p>0.05$), LPO seviyesi düşük, SOD aktivitesi ise yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). YDKS grubunda DDKS grubuna göre daha hafif bir histopatolojik bulgular gözlemlenmiştir. IL - 1β, TNF – α ve LPO seviyeleri önemli oranda düşük ($p<0.05$) bulunmasına rağmen diğer parametrelerde etkili olamamıştır ($p>0.05$).

Sonuç: Ratlarda OA kullanılarak oluşturulan ARDS modeli üzerine yapılan bu çalışmada ALA, VITC, VITE, DDKS ve YDKS uygulamalarının OA' in ratların akciğerlerde meydana getirdiği patolojik ve biyokimyasal değişiklikler üzerine tedavi edici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu hastalıkta ALA, VITC ve VITE kullanımının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: ARDS, oleik asit, α - lipoik asit, vitamin C, vitamin E, metil prednizolon, rat, antioksidan sistem.

ABSTRACT

Evaluating The Treatment Response of Corticosteroids and Antioxidants on Experimentally Generated Acute Respiratuar Distress Syndrome in Rats

Aim: Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a disease with high mortality and there is still not a definitive treatment. It was reported that one of the major reasons for the formation of patology in ARDS is the celluler damage that formed by reactive oxygen species (ROSs). The aim of this study was to examine the effects of α – lipoic acid (ALA), vitamin C (VITC) and vitamin E (VITE) that their antioxidant effects are known, low dose corticosteroid (LDCS) and high dose corticosteroid (HDCS) on the these celluler damage.

Material and Method: In this study ARDS model, which was formed by oleic acid (OA), was designed in the 42 "sprague dawley" rats. The rats divided to seven groups as control, OA, ALA, VITC, VITE, LDCS and LDCS. Separately, 100 mg/kg ALA, 100 mg/kg VITC, 100 mg/kg VITE were applied to these groups one time orally and 5 mg/kg and 50 mg/kg methyl prednisolone were applied to LDCS and HDCS groups one time intraperitonally. Shortly after the application of treatments, 50 µl OA + 250 µl %1 BSA solutions applied to all groups except the control group. The histopathological status of these rats' lung tissues were examined by using routine methods. Furthermore, lipid peroxidation (LPO), glutathione (GSH) levels and catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) activities were measured by using spectrophotometric methods. IL - 1β ve TNF – α were measured by using ELISA method in the rat serum.

Results: The pathological findings as hyperemia, hemorragia, diffuse edema, hyalinization in the walls of vessel, vasculitis, heavy vessel damage caracterized by diffuse necrosis, polymorphnucleer (neutrophil) cell profilation, hemorragia in the interstitial tissue and diffuse inflamation cells were observed in the lung tissues of OA group. Also, increased level of IL-1β, TNF–α and LPO levels and decreased level of GSH and activity of SOD and CAT were determined in this group ($p<0,05$). The ALA, VITC and VITE groups compared with OA, while ALA showed a close to normal view, the moderate inflammation findings were found in the VITC and VITE groups. On the other hand, IL-1β, TNF–α and LPO levels, which were found high in the OA group significantly, were found low in these treatments meaningfully. Additionally, GSH level, SOD and CAT activities, which were found significantly low compared with control group, were found significantly high in these groups ($p<0.05$). In the lung tissues of LDCS group, growth of the vessel walls, edema, heavy vessel damage characterized with hyalinization and necrosis, diffuse neutrophil cell proliferation, hemorragia in the interstitial tissue and sporadic inflammation cells were observed. While CAT activity and GSH level of the LDCS group were not significantly effected ($p>0.05$), the LPO level was found low and SOD activity was found significantly high ($p<0.05$). According to LDCS more weak pathological findings were observed in the HDCS group. IL-1β, TNF–α and LPO levels were found significantly low ($p<0.05$), although it was not effective on the other parameters ($p>0.05$).

Conclusion: In this study, which is on ARDS model in rats formed by using oleic acid, applications of ALA, VITC, VITE, LDCS and HDCS had treatment effects on patological and biochemical changes formed by OA in lungs of rats. It is tought that using of the ALA, VITC and VITE in these disease can be useful.

Keywords: ARDS, oleic acid, α - lipoic acid, vitamin C, vitamin E, methyl prednisolon, rat, antioxidant system.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAH : Akut Akciğer Hasarı
AH : Akciğer Hasarı
ALA : Alfa Lipoik Asit
ALI : Acute Lung Injury
ALIVE : The Acute Lung Injury Ventilator Evaluation
ANOVA : Analysis of variance
ARDS : Acute Respiratory Distress Sydrome
BSA : Bovine Serum Albumin
CAT : Katalaz
CO_2 : Karbondioksit
$CuCl_2$: Bakır 2- Klorür
DDKS : Düşük Doz Kortikosteroid
DHLA : Dihidroksi Lipoik Asit
DNA : Deoksiribonükleik asit
DTNB : 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)
EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid
ESICM : European Society of Intensive Care Medicine
GR : Glutatyon redüktaz
GSH : Glutatyon
GSH-Px : Glutatyon peroksidaz
GST : Glutatyon S- transferaz
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
Hb : Hemoglobin
IL- : İnterlökin
i.p. : İntra peritonal
KCl : Potasyum klorür
LPO : Lipit peroksidasyonu
LPS : Lipopolisakkarid
MDA : Malondialdehit
MPO : Myeloperoksidaz
Na_2CO_3 : Sodyum karbonat
NAC : N – asetil sistein
NAECC : North American-European Consensus Committee
NBT : Nitro Blue Tetrazolium
NO : Nitrik oksit
NO_2 : Nitrojen dioksit
O_2 : Oksijen
OA : Oleik Asit
OH : Hidroksil
PAB : Pulmoner Arter Basıncı
PaO_2/FiO_2 : Partial Pressure of Oxygen / Fraction of Inspired Oxygen
PCWP : Pulmonary Capillary Wedge Pressure

PEEP : Positive End-Expiratory Pressure
ROS : Reactive Oxygen Species
SLS : Sodyum Lauril Sülfat
SOD : Süperoksit dismutaz
TNF : Tümör Nekroz Faktör
Va/Q : Ventilation / Perfusion
VITC : Vitamin C
VITE : Vitamin E
YDKS : Yüksek Doz Kortikosteroid

1.GİRİŞ

ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome-Akut Sıkıntılı Solunum Sendromu); inflamasyona sekonder olarak alveoler kapiller permeabilite artışının sebep olduğu ağır hipoksi ve her iki akciğerde de yaygın infiltrasyon ile karakterize non-kardiyojenik, oksijen tedavisine yanıt vermeyen ve hızlı gelişen akut solunum yetmezliği sendromudur. ARDS gelişmesinde en önemli risk faktörleri; sepsis, travma, pnömoni, yanıklar, çoklu nakiller, kardiopulmoner bypass ve pakreatit olarak belirlenmiştir (1).

Akut akciğer hasarı pulmoner (primer) ve ekstra-pulmoner (sekonder) ALI/ARDS olarak sınıflandırılmıştır. Primer sebepler genellikle pnömoni, aspirasyon pnömonisi, pulmoner tromboemboli, duman ve toksik gaz inhalasyonu iken, sekonder sebepler sepsis, akciğer dışı enfeksiyonlar, travma, pankreatit, ciddi kan transfüzyonları ve ilaç toksisiteleridir (2-4) .

Akut akciğer hasarının ciddiyeti ve şiddeti PaO_2/FiO_2 oranındaki düşmeyle ters orantılıdır. PaO_2/FiO_2 oranındaki düşme mortaliteyi belirgin olarak arttırmaktadır. Kronik komorbid hastalıkların varlığı örneğin; immunsupresyon, kronik böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, diyabetes mellitus vb. kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir (2).

ARDS ve ARDS'nin öncüsü olan ALI yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olup, oksidatif stresin arttığı ve aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) salındığı patolojik olaylardır. α-lipoik asit, vitamin C ve vitamin E oksidatif strese karşı kullanılan önemli antioksidanlardır. Yapılan çalışmalarda bu antioksidan vitaminlerin birçok ROS'u nötralize ettiği ve bunların zararlı etkisini önleyen enzimlerin aktivasyonunu, immün sistemin uyarılmasını, hücre apoptozisine ilişkin gen ekspresyonunu etkilediği ve birçok oksidatif stres

modelinde ve bazı kronik hastalıklarda faydalı olduğu belirtilmiştir.

ARDS tedavisinde çok sayıda farmakolojik tedaviler denenmesine rağmen yine de mortalite oranı değişmemiştir. ARDS'nin başlangıç formu kabul edilen ALI oluşumu engellenebilir veya ALI tedavi edilebilirse mortalite oranı azalması beklenir. Hastalıkları önleyici yaklaşımların, tedavi seçeneklerinden çok daha önemli olduğu bir gerçektir. Oksidatif stresin yoğun olarak yaşandığı günümüzde, dengeli doğal beslenme, sağlıklı ve iyi bir yaşam kalitesi için gereklidir.

Bu çalışma, ratlarda oleik asit ile deneysel olarak oluşturulan ARDS' da akciğer dokusunun oksidan-antioksidan savunma sistemlerinin durumu ile ortaya çıkan patolojik değişiklikler incelenirken, antioksidan özelliği bilinen α-lipoik asit, vitamin C ve vitamin E uygulamalarının ve genel olarak uygulanan kortikosteroid uygulamalarının meydana gelen bu değişiklikler üzerine tedavi edici etkisini araştırmayı amaçlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS) Tanımı ve Tarihçesi

Vietnam savaşı sırasında hızlı müdahale ve uygun şekilde tedavi edilmesine rağmen 5. günden itibaren bazı askerlerin hızla gelişen solunum yetmezliği nedeni ile kaybedildiği gözlemiştir. Bu hastalarda ani gelişen takipne, taşikardi ve hipoksi bulguları ile karakterize olan, akciğer grafisinde bilateral masif infiltrasyon saptanması nedeni ile "beyaz akciğer" olarak tanımlanan bu sendroma ilk kez 1971 yılında Ashbaugh ve arkadaşları ARDS adını verdiler ve ciddi nefes darlığı, takipne, oksijen tedavisine dirençli siyanoz, azalmış akciğer kompliyansı, akciğer grafisinde diffüz alveolar infiltrasyon olmak üzere sendromun tipik bulgularını tanımladılar (5). 1988 yılında Muray ve arkadaşları tarafından hafiften ciddi seviyeye kadar değişebilen direkt ya da indirekt akciğer hasarı ile birlikte akciğer dışı organ disfonksiyonu bulgularının da tabloya eşlik edebileceği belirtilmiştir (6).

2.2 NAECC (North American-European Consensus Committee - Amerika ve Avrupa Konsensus Konferansı)

ALI ve ARDS tanımı ve tanı kriterleri 1994 yılında gerçekleştirilen Amerika ve Avrupa Konsensus Konferansı'nda belirlenmiştir (TABLO 1). Çeşitli cerrahi ve medikal patolojiler tarafından tetiklenen, başlıca inflamasyona ikincil alveolokapiller permeabilitedeki artışa bağlı olarak her iki akciğeri de içine alabilen non-kardiyojenik özellikteki diffüz infiltrasyon ile karakterize, hızlı gelişen ve oksijen tedavisine cevap vermeyen akut solunum yetmezliği sendromu olarak tanımlandı. Akut başlangıç ve inatçı seyir gösteren bu bulguların sol kalp yetmezliği durumunda da gelişebilmesi nedeni ile dışlama kriterleri olarak sol atriyal hipertansiyon klinik bulgularının olmaması veya PCWP'nın (pulmoner

kapiller wedge-kama basıncı) 18 mm-Hg'dan az olması gerekliliği kabul edilmiştir. Sözü edilen bulgular ile birlikte oksijenizasyon oranının (PaO2/FiO2) ≤ 300 olan durumlar ALI, PaO2/ FiO2 ≤ 200 ARDS olarak tanımlandı.

Tablo 1: NAECC-ALI ve ARDS Tanı Kriterleri (7)

Başlangıç Şekli	Akut başlangıçlı ve inatçı seyirli
Dışlama Ölçütleri	-PCWP ≥ 18 mmHg -Sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları
Oksijenizasyon	-ARDS: PaO2/FiO2 ≤ 200 -ALI: PaO2/FiO2 ≤ 300
Radyolojik Bulgular	Pulmoner ödemle uyumlu bilateral opasiteler

Ancak, 2011 yılı Kasım ayında Berlin/Almanya'da "European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)" 24. Kongresinde ARDS'nin yeni tanımıyla ilgili ATS ile birlikte ESICM'nin yaptığı çalışmalar ve önerilen tanımlama, Marco Ranieri tarafından sunulmuştur (Tablo 2) (7). Önerilen yeni Berlin ARDS tanımı şunlardır:

Tablo 2 : Önerilen yeni ARDS sınıflaması (7)

Kriter	**Hafif**	**Orta**	**Ağır**
Zamanlama	Akut Başlangıç, bir hafta içinde başlayan klinik veya yeni/kötüleşen solunum semptomları		
Hipoksemi	PaO_2/FiO_2 = 201-300 ve PEEP/CPAP ≥ 5	$PaO_2/FiO_2 \leq 200$ ve PEEP ≥ 5	$PaO_2/FiO_2 \leq 100$ ve PEEP ≥ 10
Ödem nedeni	Kalp yetmezliği veya sıvı yüklenmesi ile tamamen açıklanamayan solunum yetmezliği		
Radyolojik anormallikler	Bilateral opasiteler*	Bilateral opasiteler*	En az üç kadranı kaplayan opasiteler*
Ek fizyolojik düzensizlikler	-	-	CRS < 40mL/cmH_2O veya VEcorr > 10L /dakika

*Efüzyon, nodül, kitle veya lober/akciğer kollapsı ile açıklanamayan.
VEcorr= VE x $PaCO_2$/40 (vücut yüzey alanı ile düzeltilmiş dakika ventilasyonu), CRS : Static Total Respiratory System Compliance, CPAP : Continuous Positive Airway Pressure, PEEP: Positive End-Expiratory Pressure, PaO_2: Partial Pressure of Oxygen, FiO_2: Fraction of Inspired Oxygen.

2.3 Patogenez

ARDS'deki klinik tablo yaygın alvoler hasara bağlı ortaya çıkmaktadır. Alvoeler hasarın nedeni yoğun inflamasyondur. Inflamasyon erken dönemde TNF-alfa ile IL-1'in etkisi ile başlar, geç dönemde ise IL-6, IL-8 gibi proinflamatuar sitokinlerin etkisiyle alveole artan nötrofil göçüyle devam eder.

Nötrofil etkinliği sitokinlerin etkisi ile meydana gelir. Bununla birlikte aktive olan lökositler tarafından meydana getirilen reaktif oksijen ürünleri ile proteazların salgılanmasına bağlı kapiller endotel ve alveol epitelinde hasar gelişir. Oluşan hasar sonucunda alveoler yapı bozulur ve alveoler ödeme karşı koruyucu görev yapan bariyer ortadan kalkar. Buna bağlı olarakta kapiller permeabilitede artış gözlenir. Protein, vasküler alandan interstisyuma sızar ve reabsorbsiyonu sağlayan ozmotik denge kaybolur.

İnterstisyuma sızan sıvının lenfatiklerin kapasitesini aşması ile alveol boşlukları proteinden ve debrisden zengin sıvı ile dolar. Tip 2 pnömositlerde gelişen hasara bağlı olarak üretilen sürfaktan yapımının azalması, sürfaktan yapısının ve fonksiyonlarının bozulması sonucu alveoller kollabe olur. Fizyolojik şantta ve ventilasyon perfüzyon oranında bozulma sonucu hipoksemi gelişir, ayrıca fizyolojik ölü boşluk solunumunda artmaya bağlı hiperkarbi gelişir. Erken dönemde interstisyel ödeme, eksudasyona ve geç dönemde yaygın interstisyel fibrozise bağlı olarak akciğer kompliyansında azalma ve havayolu rezistansında artış görülür. Kompliyansta azalma ve hava yolu rezistansında artışa sekonder pulmoner arter basıncında (PAB) artışa neden olur. (Ortalama PAB >30 mmHg) Sonuç olarak belirgin kardiyak depresyon ve yetmezlik gelişir (8-10). Bu süreç genellikle birbiriyle ilişkili eksudatif, proliferatif ve fibrotik evrelerden oluşur.

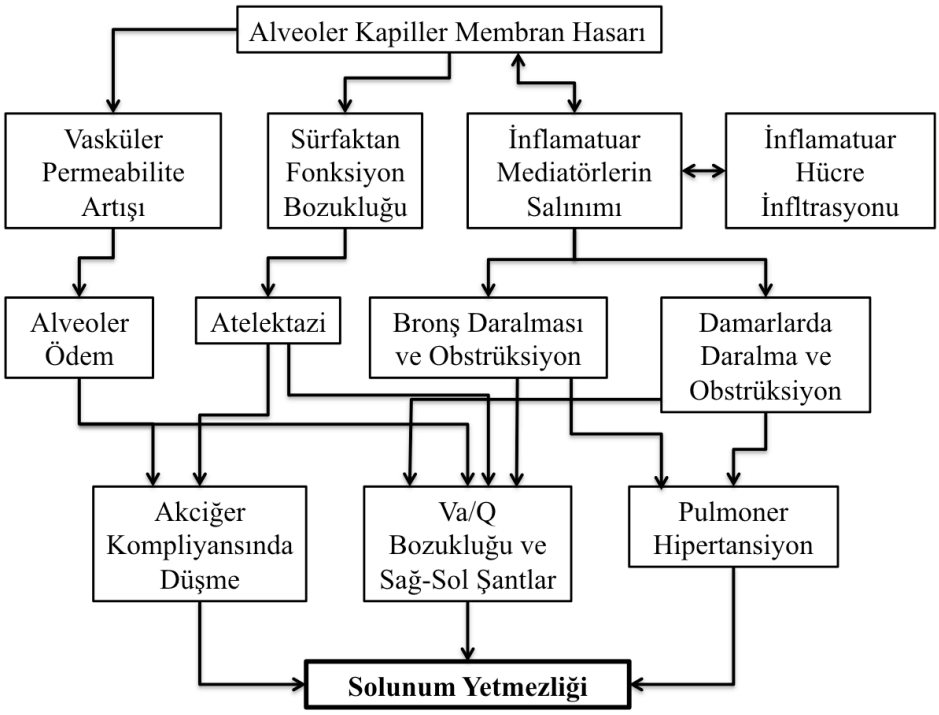
1. Eksudatif Evre: İlk haftada ortaya çıkar. Bu dönemde interstisyel,

intraalveoler ödem ve hemoraji vardır. Duktus alveolarislerde hyalin membranlar görülür. Alveoller atelektatik, ödemli ve duktus alveolarisler dilatedir. Tip I hücrelerde yaygın hasar vardır. Endotel hasarı, intravasküler fibrin birikimi görülür.

2. Proliferatif Evre: 4 ile 10. günler arası görülür. İlk evrede biriken eksuda organize olur. Tip 2 hücreler prolifere olur. Alveol duvarında da fibroblast ve myofibroblastlar prolifere olup buradaki fibrinöz eksudaya geçerler. Fibroblastlar eksudayı granülasyon dokusuna çevirir. Kollojen birikmesi ile birlikte fibröz doku oluşmaya başlar.

3. Fibrotik Evre: Epitel hücreleri organize granülasyon dokusunun üzerini örterek alveol içi eksudayı interstisyel dokuya dönüştürürler. Kollojenöz fibrozis, matriks organizasyonu, asiner yapıda bozulma, amfizematöz değişiklikler gelişir. Nadiren mikrokistik balpeteği oluşumu ve bronkopulmoner displazi görülür. Sonuç olarak alveoler bazal membran yeniden oluşur.

Şekil 1 : ALI ve ARDS Patogenez Özeti



2.4 Etiyoloji ve Epidemiyoloji

Akut akciğer hasarı pulmoner (primer) ve ekstra-pulmoner (sekonder) ALI/ARDS olarak sınıflandırılmıştır. Primer sebepler genellikle pnömoni, aspirasyon pnömonisi, pulmoner tromboemboli, duman ve toksik gaz inhalasyonu iken, sekonder sebepler sepsis, akciğer dışı enfeksiyonlar, travma, pankreatit, ciddi kan transfüzyonları ve ilaç toksisiteleridir (Tablo 3) (2-4).

Primer ve sekonder ALI/ARDS arasında klinik bulgular, radyolojik bulgular, solunum mekaniği, prognoz ve sağkalım açısından belirgin farklılıklar mevcuttur (Tablo 4) (2-4, 11).

Tablo 3. ALI/ARDS' nin etiyolojisi ve Risk faktörleri

A- Direkt (Primer) Akciğer hasarı	B- İndirekt (Sekonder) Akciğer hasarı
İnhalasyon ve aspirasyon: Duman, toksik kimyasal maddeler, gastrik asit, oksijen toksisitesi, suda boğulma	Sepsis, Majör multisistem travma, Dissemine intravasküler koagülasyon, Akut pankreatit, Kardiyopulmoner bypass sonrası Nörojenik pulmoner ödem (kafa travması, subaraknoid kanama), Hemodializ, Üremi, Yanıklar, Gebelik komplikasyonları; eklampsi, ölü fetus sendromu, amniyotik sıvı embolisi, tokolitik ajan, Reperfüzyon hasarı, Hipertransfüzyon, Yüksek irtifa, Hipertermi, Orak hücre krizi, Hipovolemik şok
İlaçlar ve kimyasal maddeler: Paraquat, Eroin, Salisilatlar, Bleomisin, Amiodaron, Etilen glikol, Lityum, Ethchlorvynol, Methadone	
Diffüz pulmoner infeksiyonlar: viral, riketsiyal, bakteriyel, fungal, tüberküloz-milier tüberküloz, protozoal	
Pulmoner emboli: yağ, amnion sıvı, hava	
Diğer: pulmoner kontüzyon, radyolojik kontrast madde, torasik radyasyon	

Tablo 4: Primer ve Sekonder ALI/ARDS Farkları

PRİMER	SEKONDER
Etiyolojik ajan havayoluyla gelir	Etiyolojik ajan dolaşımla gelir
Radyolojik gölgeler heterojendir	Radyolojik gölgeler homojendir
Konsolidasyon hakimdir	İnterstisyel ödem, atelektaziler
Akc. kompliyansı daha çok azalır	Göğüs duvarı kompliyansı daha çok azalır
Karın içi basınç genellikle normaldir	Karın içi basınç genellikle artmıştır
Yüksek PEEP hemodinamiyi bozmayabilir	Yüksek PEEP hemodinamiyi bozar
Yüksek PEEP zararlı olabilir	Yüksek PEEP yararlıdır
Recruitment Manevralar zararlı olabilir	Recruitment Manevralar yararlıdır
Prone yararlı değildir	Prone yararlıdır

ALIVE çalışmasında (Tablo 5) ARDS ve ALI'nin en sık direkt akciğer hasarına bağlı geliştiği rapor edilmiştir. (% 67.7 ve % 54.6). Direk akciğer hasarına en çok yol açan durum pnömoni (% 40.3 ve % 46.4), indirekt akciğer hasarına en çok yol açan durum ise sepsistir (% 25.4) (2).

Tablo 5: ALI ve ARDS etiyololojisi oranları (2)

ETİYOLOJİ	ORAN%	
	ALI	**ARDS**
Direk	**67.7**	**54.6**
- Pnömoni	40.3	46.4
- İnhalasyon	22.6	15.5
- Akciğer kontüzyonu	17.7	10.5
İndirekt	**14.5**	**20.4**
- Ciddi sepsis ve şok	11.3	25.4
Direkt + İndirekt	**14.5**	**21.4**
Bilinmeyen	**3.2**	**3.5**

2.5 İnsidans ve Prevelans

ARDS insidansı, Amerika Birleşik Devletleri' nde 2001 yılında 82.4/100.000, 2008 yılında 33.8/100.000 ve en son olarak 2011 yılında

7.2/100.000 olarak bulunmuştur (12). İnsidansındaki bu azalmanın, genel olarak hastaların özellikle yoğun bakımda yatanların tedavi, takip ve destek tedavilerindeki ilerleme ve gelişmelere bağlı olduğu düşünülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, 2005 yılında yılda yaklaşık 200.000 ALI ve ARDS hastası olduğu ve hastalığın mortalitesinin yaklaşık %40 olduğu tahmin edilmiştir (13). Hastalığın tanımlandığı 1960'lı yıllarda mortalitesi %90 olarak bildirilmekteydi. Son 50 yıllık süreçte, ARDS insidansı ve mortalitesinde azalma olmasına rağmen, halen mortalitesi oldukça yüksektir.

2.6 Prognoz

Yoğun bakımlarda ALI ve ARDS önemli birer mortalite ve morbidite sebepleridir. Hem ALI hem de ARDS' da solunum yetmezliği ve mekanik ventilatör ihtiyacı oluşabilir. ARDS de sağkalım oranları ALI'ye göre daha azdır. Örneğin ALIVE çalışmasında ARDS mortalite oranı % 57.9, ALI mortalite oranı ise % 32.7 olarak saptanmıştır (2). Rubenfeld ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı bir çalışmada ALI mortalite oranları %32-38, ARDS mortalite oranları % 41-60 arasında değiştiği gözlemlenmiştir (14).

ARDS'de mortalite oranlarının yüksek olduğu tespit edildiğinden beri mortaliteyle ilişkili faktörler hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu faktörler hem altta yatan ve akut akciğer hasarına neden olan hastalıklar ile ilişkilidir, hem de ALI ve ARDS'nin kendisiyle ilişkilidir. Akut akciğer hasarının ciddiyeti ve şiddeti PaO_2/FiO_2 oranındaki düşmeyle ters orantılıdır. PaO_2/FiO_2 oranındaki düşme mortaliteyi belirgin olarak arttırmaktadır. (2).

Mortalite oranı, mekanik ventilasyon desteği ve yoğun bakım yatış süreleri, akut akciğer hasarı etiyolojisine göre değişiklik göstermektedir. Sekonder akut akciğer hasarı gelişen hastaların mortalite oranı, primer akut akciğer hasarı

gelişen hastalardaki mortalite oranlarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 6) (15).

Tablo 6: ALIVE ile Eisner ve ark. çalışmalarında etiyolojiye göre ALI ve ARDS mortalite oranları

Etiyoloji	Mortalite % (ALIVE)	Mortalite % (Eisner ve ark.)
Bakteriyel Pnömoni	50.7	36
Aspirasyon Pnömonisi	46.2	37
Ciddi sepsis ve şok	50.0	43
Akciğer kontüzyonu	21.4	11
Pnömoni + Septik şok	72.2	-

Kronik komorbid hastalıklar (immunsupresyon, kronik böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, diyabetes mellitus, karaciğer sirozu vb.) kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (2, 16-19).

Yukarıda bahsedilenler dışında gereksiz ya da yetersiz antibiyotik kulanımı, gereksiz ve aşırı sedasyon, yanlış mekanik ventilatör stratejileri, yüksek tidal volüm ve ekspresyon sonu pozitif basınç (positive end-expiratory pressure - PEEP) düzeyine bağlı barotravma ve valotravma, uzamış mekanik ventilatör süreleri prognozu olumsuz etkileyen faktörlerdir.

2.7 Klinik ve Laboratuar Bulguları

Hastaların yaklaşık %50'sinde ALI ve ARDS gelişimi tetikleyici olaydan sonraki 24 saat içinde meydana gelmektedir. ALI ve ARDS hastalarının %85'inde klinik bulgular ilk 72 saat içinde ortaya çıkabilmektedir. Ani başlangıçlı progresif olarak ilerleyen ve oksijen tedavisine cevap vermeyen dispne ve ARDS'ye neden olan primer hastalık bulguları ilk ortaya çıkan semptomlardır. Beraberinde takipne, taşikardi ve siyanoz bulguları görülür. Bilinç değişikliği, hipotansiyon,

anüri gibi diğer organ yetmezliği bulgularının ortaya çıkması klinik tablonun daha da ağırlaştığını gösterir. Fizik muayenede akciğerlerde, hastalığın şiddeti ile bağlantılı olarak krepitan raller duyulur.

ARDS için tipik laboratuvar bulguları olmamakla birlikte, arter kan gazında ciddi hipoksemi, hızlı ve derin ventilasyona bağlı akut repiratuar alkaloz ve alveoler oksijen gredientinde artma görülen bulgulardandır. Klinik tablonun progresyonu durumunda hipoksemi giderek derinleşir, alveollerin kollabe olması, yetersiz akciğer perfüzyonu ve ventilasyonu sonucu hiperkarbi ve respiratuar asidoz gelişir. Hemodinaminin bozulması, kardiovasküler yetersizlik neticesinde hipotansiyon ve yetersiz organ perfüzyonuna bağlı laktik asidoz gelişir. Sonuç olarak hemodinamik durum giderek kötüleşir ve kardiyak yük artar.

ALI ve ARDS tanılı hastalarda, sistemik inflamasyona bağlı olarak diğer organ fonsiyonlarında bozulmalar görülür. En sık görülen hematolojik bulgular lökositoz ya da lökopeni, anemi, trombositopenidir. Renal perfüzyon azalır, akut tubuler nekroz gelişir ve buna bağlı olarak böbrek fonksiyonları bozulur. Hepatosellüler ya da kolestatik hasarlanmaya bağlı olarak karaciğer enzimlerinde artış gözlenir. Ciddi travmalarda ve sepsisde nadirde olsa dissemine intravasküler koagülasyona bağlı tipik kan tablosu bulguları görülebilir. Santral sinir sistemi etkilenmesine bağlı ensefelopati tablosu görülebilir. Tablo 7' de ALI ve ARDS'li hastalarda diğer organ yetmezliklerinin sıklığı görülmektedir.

Tablo 7 : ALI ve ARDS'de akut organ yetmezliği sıklığı (20)

Organ Yetmezliği Sayı/Tipi	ORAN%	
	ALI	**ARDS**
Yok	1.6	1.7
En az bir organ yetmezliği	14.5	5.5
2 den fazla	83.9	92.8
Solunum	96.8	95.3
Kardiyovasküler	38.7	55.4
Nörolojik	45.2	35.4
Böbrek	66.1	74.8
Karaciğer	11.3	16.7
Hematolojik	8.1	18.7
Ciddi sepsis/şok	9.7	22.7
PaO2/FiO2 ortalama (0. Gün)	239	119

2.8 Tedavi

ALI/ ARDS' de birçok tedavi stratejileri geliştirilmiş olmasına rağmen çok başarılı sonuçlar elde edilememiştir.

Standart destekleyici tedavide sıvı replasman tedavisi, hemodinamik tedavi, predispozan faktörlerin tedavisi ve beslenme ön plana çıkmaktadır (20).

Tedavi nonfarmakolojik ve farmakolojik olmak üzere ikiye ayrılır.

2.8.1 Nonfarmakolojik Tedavi

Ventilasyon Tedavisi: ALI/ARDS'li hastalarda mekanik ventilasyonun hedefi; yeterli oksijenasyonun sağlanması, solunum işinin ve solunum kaslarının oksijen tüketiminin azaltılması, kardiak outputu bozmadan akciğer ödeminin azaltılması, atelektatik akciğer alanlarının açılması ve havalanmanın sağlanması (recruitment) ve yeterli PEEP düzeyleri ile bunların ekspiryumda kapanmalarının önlenmesidir (derecruitment) (21, 22).

Akciğerleri koruyucu mekanik ventilasyonun mortaliteyi azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalarda plato basıncı 35 cm H_2O' yu

geçmeyecek şekilde, yüksek PEEP düzeyleri (15 cm H_2O üzerine çıkılmaması gerekir) ve 6-8 ml/kg tidal volümle mekanik ventilasyon uygulamaları yararlı bulunmuştur (23, 24).

Hastalarda altta yatan hasara ek olarak mekanik ventilasyon tedavisi sırasında 2 tip akciğer hasarı olur. Bu hasarlardan ilki mekanik ventilasyonla verilen volumün sağlıklı bölgeleri etkilemesi ve burada gerilme ve aşırı havalanma ile volüm veya barotravma meydana getirmesidir. Bu bölgelerde doku inflamasyonu, ödem ve hyalen membranlar oluşur. Bu bölgeden dolaşıma inflamatuar sitokinler salgılanır ve bu olay biyotravma olarak da adlandırılır. İkinci hasar şekli ise dorsal yani dependent bölgelerdeki atelektatik alanların her solukta tekrar tekrar açılıp kapanması ile sağlıklı ve atelektatik düşük kompliansli akciğer alanları arasında meydana gelen hasarlar veya atelektotravmadır (25). Akciğerleri koruyucu mekanik ventilasyon stratejileri ile bu sekonder hasarlar önlenmeye çalışılmıştır.

Pron pozisyon: Yapılan çalışmalarda ARDS'li hastalarda pron pozisyonun arteryel oksijenizasyonda %65 iyileşme sağladığı görülmüştür (26).

Pron pozisyonda göğüs duvarının alt bölümünde komplians azalır. Üst bölgelerde ise komplians biraz daha düzelir ve tidal volüm bu bölgelere yönelir. Sonuçta oksijenizasyon düzelir ve CO_2 atılımı artar (27). Pron pozisyona cevap ARDS'nin erken dönemlerinde ve sekonder ARDS'de daha iyidir.

Hemodinamik Destek Tedavisi: Önceki deneysel çalışmalarda sıvı kısıtlaması uygulanarak pulmoner ödemin azalabileceği bildirilmiştir. Fakat diğer deneysel çalışmalarda ALI/ARDS hastalarında vasküler volüm artışına ihtiyaç duyabilecek, oksijen dağılımını arttıracak hemodinamik tedaviden olumlu yanıt alınabileceği bildirilmektedir (28).

ARDS hastalarına diyaliz veya diüretik tedavisi uygulamalarının oksijenizasyonu ve akciğer kompliansını artırdığı bildirilmiştir (29).

Sıvı kısıtlaması ile akciğer ödeminin azaltılması yararlı gibi gözükse de sıvı kısıtlamasının kardiak outputu düşürerek organların perfüzyon ve oksijenizasyonunu olumsuz etkilediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Sonuçta uluslararası uzlaşı konferansı raporunda belirtilen, zamanında sıvı replasmanı ve hemodinaminin stabil hale getirilmeye çalışılması esastır (30). Başlangıçta öncelikle intravasküler volümün normale getirilmesi gerekir. Bu tedaviler sırasında kan Hb düzeyinin 10 g/dL' nin üzerinde tutulmaya çalışılması gerekir.

Beslenme: ARDS'li hastalarda öncelikle enteral beslenme uygulanması, uygulanamıyorsa parenteral beslenme uygulaması önerilmektedir (31).

Enteral beslenme uygulamasında verilecek solüsyonun içeriğinden çok hastaya verilecek kalorinin fazla miktarda verilmemesi önemlidir. Buna ek olarak son yıllarda immünonutrisyonun (arginin, glutamin, ribonükleotitler ve omega-3 yağ asitlerinden zengin solüsyonlar) özellikle de argininden zengin solüsyonların yoğun bakım enfeksiyonlarını azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (32).

Beslenme içeriğinin yapısı hakkında yapılan başka bir çalışmada karbonhidrattan fakir, yağdan ise zengin diyetin CO_2 üretimini ve solunum katsayısını azaltarak ventilatörde kalma süresini azalttığı bildirilmiştir (33).

ARDS meydana gelen hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise antioksidanlardan zengin, balık yağı ve γ-linolenik asit içeren bir solüsyonun uygulamanın bu hastaların oksijenizasyonunu düzelttiği, mekanik ventilasyonda kalma süresini azalttığı ve diğer organ yetmezliklerine de olumlu etkisi olduğu gösterilirken, mortalitenin etkilenmediği bildirilmiştir (34).

2.8.2 Farmakolojik Tedavi

Steroidler: ALI/ARDS'de steroidlerin kullanımı halen tartışmalı iken ARDS hastaları üzerine yapılan çalışmalarda başlangıçtan birkaç gün sonra erken dönemde uygulanan steroid tedavisinin mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise ARDS'nin geç döneminde uygulanan metil prednizolonun hastalarda belirgin düzelme sağladığı gözlenmiştir (35, 36).

Antioksidan Tedavi: Hücre içinde üretilen ve ROS'lara karşı savunmada büyük önem arz eden Glutatyonun miktarı akciğer hasarında azalır (37). N-asetil sistein (NAC) glutatyon prekürsörüdür ve ALI/ARDS'de etkileri araştırılmıştır. Bazı hayvanlarda yapılan denemelerde antioksidan tedavinin ALI'den koruma ve tedavisinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. (38).

ALI/ARDS hastalarında yüksek seviyede oksijen verilmesi ve akciğerdeki nötrofil aktivasyonu ile birlikte oksidatif stres meydana gelmektedir. Bazı deneysel çalışmalarda NAC ve prosisteinin oksidatif stres üzerine olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Faz II klinik çalışmalarda ise bu antioksidanları alan hastalardaki klinik düzelmeler umut verici olarak yorumlanmıştır (39). Ayrıca kısıtlı sayıdaki mevcut çalışmalarda antioksidan kullanan hastalardaki klinik düzelmeler umut vericidir (38, 40).

Surfaktan Replasman Tedavisi: Endojen surfaktanın temel fonksiyonu alveolar yüzey gerilimi azaltarak atelektazi oluşumunu önlemektir. Sürfaktanın diğer özellikleri de antiinflamatuar etkisi, ROS' ların tutulmasında görev yapması ve makrofajlardan sitokin salınmasını inhibe etmesidir (41). ALI/ARDS' de Tip II pnömositlerden sürfaktan yapımı azalır ve sürfaktan yapısındaki değişiklikler sürfaktan fonksiyonunun azalmasına neden olur. Ayrıca alveolar boşluğa sızan plazma proteinleri sürfaktanın etkisini inaktive eder. Sonuçta yüzey geriliminin

artışı, atelektazi ve akciğer kompliansında azalma akciğer ödemini artırır. Bazı deneysel çalışmalarda ALI teşhisi konulan hastalara uygulanan ekzojen sürfaktanın, akciğer kompliansını ve oksijenasyonunu düzeltiği gözlemlenmiştir (42, 43).

Nitrik Oksit (NO) İnhalasyonu: NO, pulmoner vasküler yatakta vazodilatasyon yaparak iyi havalanan akciğer bölgelerindeki şantı azaltır, buna bağlı olarak oksijenizasyonu arttırır ve sonuç olarak pulmoner ödem azalır (44). İnhale NO ALI/ARDS'nin rutin tedavisinde önerilmez, ancak refrakter hipoksemili hastaların tedavisinde faydalı olabilir.

ALI/ARDS tedavisinde sodyum nitroprusside, hidralazine, prostaglandin E_1, prostasiklin gibi selektif vazodilatörlerin faydası gösterilememiştir.

Aktif Protein C Tedavisi : Aktif protein C' nin sağlıklı insanlar üzerinde yapılan denemelerde endotoksin sonucu oluşan akciğer inflamasyonlarını azalttığı belirtilse de, çok merkezli randomize yapılan bir çalışmada bu tedavinin hastaları iyileştirmediği belirtilmiştir (45, 46). Fakat bu çalışmalara ARDS hastaları dahil edilmediği için kesin bir görüş bulunmamaktadır.

Diğer Tedavi Yöntemleri: ALI/ARDS'li hastalarda oksijenizasyonu düzeltmek için trakeal gaz insuflasyonu, likit ventilasyon, ekstrakorporeal oksijenizasyon, prostoglandin inhibitörleri (indometazin), fosfodiesteraz inhibitörleri (pentoksifilin), tromboksan sentez inhibitörleri (ketokonazol) gibi tedavi yöntemleri üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte bunlardan çoğunun klinik yararı gösterilememiş ve rutine girememiştir (39).

2.9 Deney Modeli

ALI/ARDS hastalığı üzerine yapılacak çalışmalar için labaratuvar hayvanlarına uygulanabilen çeşitli metotlar bulunsa da en sık kullanılan model,

Oleik asitin (OA) deney hayvanlarına intavenöz olarak uygulanması sonucu oluşturulan akciğer hasarı modelidir (47).

OA, 18 karbonlu tek çift bağa sahip doymamış yağ asidi olup eikosatrienoik asit gibi diğer yağ asitlerinin sentezinde rol oynayan bir moleküldür. OA saf olarak oda sıcaklığında sıvı formdadır. OA'in 25 kg'lık bir hayvana 1-2 ml dozda intravenöz yolla verilirse akciğerlerinde belirgin bir hasar meydana getirir. Ayrıca fraksiyonlar halinde, tuz çözeltisinde veya etanolde çözülerek ya da birkaç dakikada bir sürekli infüzyon halinde de verilebilir. Bu veriş yolları hasarın yoğunluğunu ve şiddetini etkiler ve değişik patofizyolojiler meydana gelir (47). OA intravenöz yolla verildiğinde akciğer üzerinde oluşturduğu patolojik değişiklikler ALI/ARDS'de izlenen değişikliklere paraleldir (48, 49). OA ile indüklenen akciğer hasarı modelinde damar içi yolla uygulanan OA pulmoner vaskuler endotelyal hücrelerinde hasar meydana getirir ve akciğerlerde inflamasyon oluşur. Bu oksido-inflamatuar olayda birçok faktör rol oynar. Bunlar; alveolo-kapiler membran yapısında bozulma ve kapiller permeabilite artışı, interstisiyel sıvı artışı, adezyon molekülleri, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, oksidan enzimlerin aktivasyonu, sitokin salınımı ve reaktif oksijen türevlerinin (Reactive Oxygene Species, ROS) üretim artışları olarak sıralanabilir (50, 51). OA, aktive olan nötrofillerin endotel hücrelerine bağlanması ve nötrofil aktivasyonunu içeren kaskad ile süperoksit ve hidroksil radikali gibi ROS'ların salınımını başlatır. Ayrıca hasarlanan akciğer dokusunda aşırı nitrik oksit salınımı meydana gelir (52).

Miktarca fazlalaşan NO, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) ile reaksiyona girer ve güçlü bir oksidan olan peroksinitritin oluşmasını arttırır (53). Güçlü oksidan olan peroksinitrit lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve hatta nükleik asitler üzerine

oksidan etki gösterir. Sonuç olarak ARDS gibi akciğer hastalıklarında doku hasarının ve inflamasyonun şiddetlenmesine neden olurlar (54).

Yapılan bir çalışmada OA uygulamasının oluşturduğu akut akciğer hasarı modelinde serum total antioksidan kapasitesinde azalma olduğu bildirilmiştir (49). ALI/ARDS ile ilgili bazı çalışmalarda ROS'lar araştırılmış; ancak bu maddelerin kısa ömürlü ve oldukça reaktif olmaları nedeniyle, ayrıntılı ve yeterli sonuç elde edilemediğinden, genellikle H_2O_2, oksidize proteinler, peroksidize lipitler, malondialdehit (MDA) gibi sekonder veya son ürünlerin ölçümü ile ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimlerdeki değişiklikler ve ALI/ARDS'deki oksidan-antioksidan denge ortaya konulmaya çalışılmıştır (52, 55).

2.10 Antioksidanlar

Serbest radikallere karşı (antioksidan savunma sistemleri, antioksidanlar) reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Organizmalarda reaktif oksijen radikallerinin üretimi ve yıkılması arasında sürekli bir denge vardır. Bu dengenin reaktif oksijen radikalleri lehine kayması oksidatif stresi artırırken organizmalar pek çok hastalığın ortaya çıkmasına elverişli hale gelmiş sayılır (56). Bu yüzden öncelikle serbest radikalleri iyi tanımak gereklidir.

2.11 Serbest radikaller:

Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalin moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan

çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir (57).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelir (58).

1. Bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikaller,

2. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atom veya atom gruplarının birinde kalması sonucu oluşan serbest radikaller,

3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu oluşan serbest radikaller,

Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir.

Serbest radikal çeşitleri:

- Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$): Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur (59).

- Hidrojen peroksit (H_2O_2): Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması veya süperoksit'in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir (60).

- Hidroksil radkali ($OH^{\cdot}$): Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında yani fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif oksidan radikaldir (61).

- Singlet Oksijen ($^1O_2$): Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların enerjisinin artarak hızlarının artması singlet oksijenin diğer reaktif oksijen türleri ile okside olmasını artırmaktadır. (56, 62).

- Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$): Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler (60, 63, 64).

- Diğer Serbest Radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($R^{\cdot}$), peroksil radikalleri ($ROO^{\cdot}$), alkoksil radikalleri ($RO^{\cdot}$), tiyol radikalleri ($RS^{\cdot}$) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir (65).

2.11.1 Serbest radikal kaynakları:

Serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen olmak üzere ikiye ayrılır.

Tablo 8: Serbest radikal kaynakları

Eksojen radikal kaynakları:	Endojen radikal kaynakları:
- İlaç oksidasyonları - Radyasyon - Güneş ışığı, UV-ışınları - Sigara dumanı, egzos gazları - Kükürtdioksit - Alışkanlık yapan maddeler - Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksitler, pestisitler, solventler, anastezik maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler. - Stres	- Küçük moleküllerin otooksidasyonu - Enzimler ve proteinler - Mitokondriyal elektron transferi - Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri - Peroksizomlar - Plazma membranı

Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır (66, 67).

1- Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.

2- Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir.

3- Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir.

4- Toksin antioksidant aktiviteyi düşürebilir.

2.11.2 Antioksidan savunma sistemleri

Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilmektedir.

2.11.2.1 Endojen (Doğal) antioksidanlar:

a. Primer antioksidanlar (Enzimler):

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD yaklaşık olarak bütün canlılarda bulunmaktadır (68, 69).

Katalaz (CAT): Katalaz, hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir (70-72).

Glutatyon peroksidaz (GPO): Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. (73). GPO, intrasellüler yapıda lipitleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. (74, 75).

Glutatyon S-transferaz (GST): GST'ler, glutatyon (GSH) ile endojen ve ekzojen hidrofobik elektrofilik bileşiklerin bağlanmasını gerçekleştirmektedir (76).

Glutatyon redüktaz (GR): GR, yükseltgenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir (77).

Miyeloperoksidaz (MPO): Nötrofil granüllerde bol mitarda bulunan MPO enzimi H_2O_2'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etki eder.

b. Sekonder antioksidanlar:

Glutatyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir (78). İndirgenmiş glutatyon yani GSH, GPO enzimi katalizörlüğünde H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidant etki sergiler ve H_2O_2'yi uzaklaştırır (78-80).

Diğer sekonder antioksidanlar: A, E ve C vitaminleri vücut hücrelerinin serbest radikallerin meydana getirebileceği hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmeleri ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında

(antioksidan etki) yardımcı olurlar. (81).

Ekzojen antioksidanlar:

- Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürnol, folik asit ve pterin aldehit

- Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

- NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antienflamatuar ilaçlar.

- Recombinant süperoksit dismutaz

- Troloks – c : E vitamini analoğu

- Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: Glutatyon peroksidaz aktivitesini artırırlar. Bunlar; Ebselen ve asetil sisteindir.

- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin

- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin

- Nötrofil adezyon inhibitörleri

- Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör (TNF), Interlökin 1

- Barbitüratlar

- Demir şelatörleri

2.12 Alfa Lipoik Asit (ALA)

Lipoik asit bir tioldür ve lipit peroksidasyonunu engeller, lipoik asit takviyesi antioksidan korumayı artırır ve bazı tedavi edici etkilere sahiptir (82). ALA hem hayvanlar hem de bitkiler tarafından sentezlenebilir. Alfa lipoik asitin biyosentez yolağı hala tam olarak açıklanamamışsa da, 8 karbonlu bir yağ asidi ve elementer sülfürün mitokondride birleşmesiyle sentezlendiği düşünülmektedir (83). ALA'nın intrasellüler GSH'nin artmasına sebep olduğu ve normal

antioksidan savunma için gerekli olduğu gösterilmiştir (84).

ALA hem yağda hem de suda çözünebilir. ALA, ROSları ortadan kaldıran, endojen antioksidanların yeniden oluşumunu sağlayan, siklosporin A kullanımıyla oluşan hipertansiyon ve nefrotoksisiteyi önleyen doğal bir antioksidandır (85). ALA, dihidroaskorbik asiti (DHLA) askorbik asite çevirebilir; direkt olarak C vitamininin, indirekt olarak E vitamininin yeniden oluşumunu sağlayabilir (86).

Araştırmacılar, ALA'nın hücreler arası glutatyon ve koenzim Q10 seviyelerini artırdığını bulmuşlardır (84, 87). ALA, güçlü serbest radikal temizleyici, mitokondriyal enzimler için gerekli kofaktördür (88).

2.13 Antioksidan etki tipleri:

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler (81, 89).

1. Süpürücü etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

2. Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen atarak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren etkiye bastırıcı etki denir.

3. Onarıcı etki (repair etki): Genellikle DNA'daki hasarların tamir edilmesinde bu etki sürekli geçerlidir.

4. Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir.

2.14 Serbest Radikallere Bağlı Klinik Durumlar

Tablo 9. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Düşünülen Bazı Klinik Durumlar (90).

Olgu Grubu	Olgu Adı
Yaşlanma	Prematür yaşlanma hastalıkları
İyonize edici radyasyon	Nükleer patlamalar, Radyoterapi seansları, Hipoksik hücre aktivatörleri, Solar radyasyon hasarı
Alkolizm	Alkol indüksiyonuna ilişkin aşırı demir yüklemesi, Alkolik miyopati
Kan elemanları patolojileri	Fenilhidrazin primakin vb. ilaç toksikasyonları, Kurşun zehirlenmesi, Favizm, Protoporfirin fotooksidasyonu, Malarya, Orak hücre anemisi, Fanconi anemisi
İnflamatuar immun hasar	İdiyopatik ve membranöz glomeruloınefrit, Vaskülit, Hepatit B, Otoimmun hastalıklar, Romatoid artrit
İskemi-reperfüzyon hasarı	Felç, Miyokard enfarktüsü, Aritmiler, Transplantasyonlar, Donma
Akciğer patolojileri	Sigara ve organik yanık dumanı inhalasyonu, Amfizem, Bronkopulmoner, displazi, Fotokimyasal kirler, Oksidan kirleticiler (NO_2)
Kardiyovasküler patolojiler	Ateroskleroz, Adriyamisin toksisitesi
Sinir sistemi bozukluklar	Hiperbarik oksijen, Nörotoksinler, Vit. E yetmezliği, Alzheimer, Parkinson, Steroid lipofusinozis, Alerjik ensefalomiyelit, Demiyelizan hastalıklar, Multipl skleroz, Muskuler distrofi
Gastrointestinal patolojiler	Endotoksik karaciğer hasarı, Diabetes mellitus, Pankreatit, Oral demir zehirlenmesi, Ülserler Gastrointestinal kanserler, İnflamatuar barsak hastalıkları
Ürogenital patolojiler	Otoimmun nefrotik olgular ve Metal Nefrotoksisistesi
Diğer patolojiler	Sistemik kanserler, Malnutrisyonlar, Kontakt dermatit, Porfiria, Termal haraplanma, Katarakt, Oküler kanamalar, Retrolental fibroplazi Multipl kan transfüzyonları gerektiren anemiler

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışmada yapılan hayvan deneyleri için gerekli izin, Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 20.02.2014 tarihli toplantıda görüşülmüş 38 karar numarasıyla izin alınmıştır.

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 260 – 280 gr. ağırlığında "Sprague Darwey" cinsi 42 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar hassas terazi ile tartılarak eşit ağırlıkta gelişi güzel olarak 7 gruba ayrıldı. Uygulamalar süresince ratlar oda sıcaklığında (22ºC±1) ve % 40-50 sabit nem oranında, havalandırma sistemine sahip bir odada bekletildi. Işık periyodu ise 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı. Standart rat kafeslerinde optimal şartlarda taze çeşme suyu ve ad libitum standart pellet yem verildi. Deney günü tüm uygulamalar aynı gün ve eşit zamanlama ile yapıldı.

Kontrol grubu (Kontrol) (n=6) : Bu gruba %1'lik 300 µl Bovine Serum Albumin (BSA) kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandı.

Oleik Asit Grubu (OA) (n=6) : Bu gruba akciğer hasarı oluşturulması amacıyla 250 µl %1'lik BSA içinde çözülen 50 µl OA (OA+BSA) kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandı.

Düşük Doz Kortikosteroid Grubu (DDKS) (n=6) : Bu gruba OA+BSA kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandıktan hemen sonra intraperitonal yolla 5 mg/kg dozda metil prednizolon uygulandı.

Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu (YDKS) (n=6) : Bu gruba OA+BSA kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandıktan hemen sonra intraperitonal yolla 50 mg/kg dozda metil prednizolon uygulandı.

α-Lipoik Asit Grubu (ALA) (n=6) : Bu gruba OA+BSA kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandıktan hemen sonra gavaj yöntemi ile oral yolla 100 mg/kg dozda α-lipoik asit uygulandı.

Vitamin E Grubu (VITE) (n=6) : Bu gruba OA+BSA kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandıktan hemen sonra gavaj yöntemi ile oral yolla 100 mg/kg dozda vitamin E uygulandı.

Vitamin C Grubu (VITC) (n=6) : Bu gruba OA+BSA kuyruk veninden intravenöz yolla uygulandıktan hemen sonra gavaj yöntemi ile oral yolla 100 mg/kg dozda vitamin C uygulandı.

Uygulama Özeti :

Gruplar	Uygulama
Kontrol	300 µl BSA kuyruk veninden
OA	OA+BSA kuyuk veninden
ALA	OA+BSA kuyuk veninden + 100 mg/kg α-lipoik asit
VITC	OA+BSA kuyuk veninden + 100 mg/kg vitamin C
VITE	OA+BSA kuyuk veninden + 100 mg/kg vitamin E
DDKS	OA+BSA kuyuk veninden + 5 mg/kg metil prednizolon
YDKS	OA+BSA kuyuk veninden + 50 mg/kg metil prednizolon

Akciğer hasarı oluştrumak için kullanılan OA (cis-9-octadecenoic acid-Sigma-Aldrich Germany) ratlara kuyruk veninden (v.caudalis) 25G iğne ucuna sahip insülin enjektörü kullanılarak, 50 µl OA 250 µl %1'lik BSA (Bovine Serum Albumin – Sigma Aldrich Germany) solüsyonu içinde çözülerek verildi. 24 saat sonra ratlara sevofluran anestezisi uygulandıktan sonra intrakardiak punksiyon yöntemi ile kanları alındı ve servikal dislokasyon ile ötanazi edildi.

Akciğer dokuları çıkarılıp steril serum fizyolojik solüsyonu ile yıkandıktan sonra patolojik incelemeler için %10' luk formaldehit çözeltisine, biyokimyasal

incelemeler içinse petri kaplarına kodlanarak koyuldu. Biyokimya incelemesinde kullanılacak dokular -20 ^{o}C 'de derin dondurucuda (BEKO) dondurulduktan sonra sıvı azot kullanılarak homojenize edildi ve dokular -80 ^{o}C derin dondurucu (SANYO MDF-235) içerisinde deneylerin yapılmasına kadar saklandı.

VITC ve VITE gruplarına uygulanan Vitamin C ve Vitamin E Sigma Aldrich Germany'den, ALA grubuna uygulanan α-Lipoik Asit Solgar® firmasından, DDKS ve YDKS gruplarına uygulanan metil prednizolon ise Mustafa Nevzat (Prednol® 40 mg) firmasından temin edildi.

3.2 Patolojik Analizler

Tüm gruplardaki ratlar anestezi altında ötanazi uygulanarak nekropsileri yapıldı ve akciğer dokularından histopatolojik inceleme için alınan örnekler %10' luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin histopatolojik işlemlerden geçirilerek doku örneklerinden parafin bloklar hazırlandı ve mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoxilen-Eosin (HE) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (DP72 kamera sistemli Olympus BX52) ile incelendi ve önemli mikroskobik bulguları gösteren resimler çekildi. Tüm alınan örnekler Grup 1' den 7' ye kadar kodlandı. Bu gruplara ait preperatlar yapılan uygulama bilinmediğinden, grup isimleri daha sonra eklenerek, bulgular bölümünde parantez içinde belirtildi. Patolojik olarak hemoraji, hyalinize yapı, ödem, vasküler reaksiyonlar, yangısal hücre infiltrasyonları olarak parametreler belirlendi. Her rata ait preperatlar tek tek tüm alan taranarak incelendi ve 1' den 5' e doğru normal görünüm (1), hafif şiddete (2), orta şiddette (3), ağır şiddette (4), çok ağır şiddette (5) olmak üzere skorlandı. Skorlama daha önceki çalışmalara benzer şekilde yapıldı (91, 92). Elde edilen bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildikten sonra elde edilen sonuçlar ile tüm

skorlar birleştirildi ve ortalaması alınarak toplam hasar skoru meydana getirildi. Tedavilerin toplam hasar skorları ile OA grubunun toplam hasar skoru arasında bulunan fark % olarak hesaplandı ve buradan % tedavi yanıtı tespit edildi (Tablo 10 ve 11).

3.3 Kan Serumlarında Sitokinlerin Ölçümü

Kanlar truncu kapaklı, polimer jelli serum tüplerine (BD RST™) alınarak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hettich Rotina 32R) edilerek serumlar elde edildi. Bu serumlarda interlökin – 1 beta (IL1-β) ve tümör nekroz faktör – alfa (TNF-α) parametreleri Rat Elisa Kitleri (Invitrogen Novex® IL1-β Elisa Kit Cat. No: KRC0011, Invitrogen Novex® TNF-α Elisa Kit Cat. No: KRC3011) kullanılarak prosedürlerine uygun şekilde Elisa Reader (Epoch, BIO-TEK U.S.A.) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar GEN 5 (BIO-TEK U.S.A.) programı kullanılarak kite dahil olan standartlarla oluşturulan grafiklerden (y = ax) elde edilen formüllerle hesaplandı.

3.4 Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizlerde kullanılan tüm kimyasallar Sigma-Aldrich Germany'den temin edilmiştir. Ölçümlerde kullanılan kuvars küvetler ve plate Hellma Germany'den temin edildi.

3.4.1 Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçümü

CAT aktivitesi, Aebi (1984) 'nin metoduna göre ölçülmüştür (93). 0.5 gr doku üzerine 4.5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7.8) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 18000 g'de 60 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar CAT aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kuvars spektrofotometre küveti içerisine son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde H_2O_2 çözeltisinden 1.5 ml konularak numune çözeltisinden 1.5 ml ilave edilir edilmez kronometre

çalıştırıldı. Alt üst etme sonrası spektrofotometrede 240 nm dalga boyundaki absorbans azalması, 15 saniye aralıklarla 3 dakika süreyle, köre karşı kaydedildi.

Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. 240 nm'de, dakikada 1 mmol H_2O_2'nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplandı. Formül pratik olarak mmol/min= (A/39.4) x 30 şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbans değerlerinden hesaplandı. CAT aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Deneyler 3 tekrar olarak yapıldı.

3.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşları (1988) tarafından tarif edilen yönteme göre ölçüldü (94). Dokular homojenize edildikten sonra 18000 g' de 1 saat santrifüj edildi. Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0.3 mM Xanthine, 0.6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0.4 M Na_2CO_3, 1.2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantinoksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkubasyon bırakıldı ve 1000 µl $CuCl_2$ ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

Oluşan formazon miktarları 560 nm'de 3 ml'lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri (EU) elde edildi ve SOD aktivitesi, mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.

$$EU/mg.doku = 100 - \left(1- \frac{\Delta A_{Kör}-\Delta A_{numune}}{\Delta A_{Kör}} \right) \times 100$$

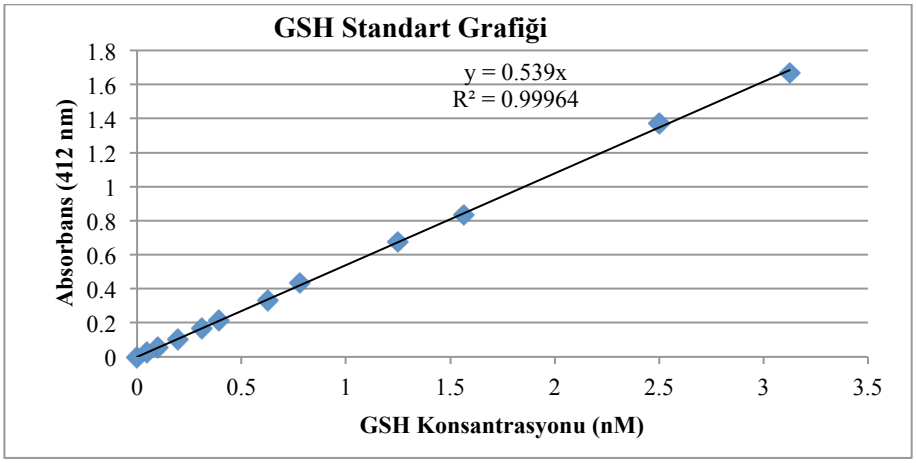
3.4.3 Total Glutatyon (GSH) Miktarı Ölçümü

Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi (95). Örneklerden alınan 0.5 gr doku üzerine 4.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4)

ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 12000 g' de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH=8.2), 500 µl süpernatant, 100 µl DTNB ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37^{o}C'ta 30 dakika inkubasyona bırakıldı ve sonra ölçümleri alındı.

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 ml'lik kuvars küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten (Şekil 2) yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.

Şekil 2: GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik



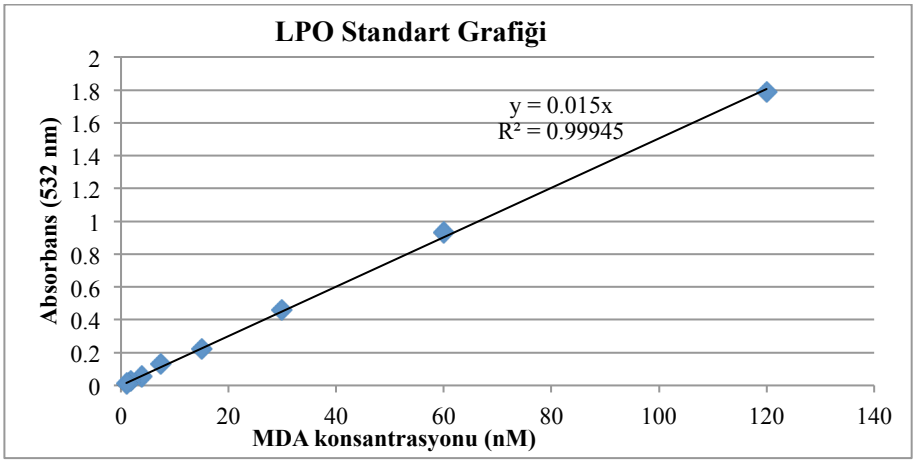
3.4.4 Lipit Preoksidasyon (LPO) miktarı ölçümü

Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi (96). Örneklerden alınan 0.5g doku üzerine 4.5 ml % 10 KCl ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi ve bu

süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat,100 µl % 8 sodyum lauril sülfat (SLS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100 ^{o}C' ta 60 dakika inkubasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2.5ml n-bütanol ilave edildi ve ölçüm alındı.

Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm'de 3 ml'lik cam küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı (Şekil 3). Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/gr doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.

Şekil 3: LPO miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik



3.5 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 software programı kullanılarak yapıldı (97). Grupların patolojik olarak belirlenen skorları ve biyokimyasal parametrelerin ölçümleri, arasındaki farklılıklar ve önem seviyeleri "one-way variance analyse" (ANOVA) testi ile belirlendi ve $p<0.05$ seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

4. BULGULAR

4.1 Histopatolojik İncelemeler

Grup 1 (Kontrol)

Kontrol grubuna ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; doku kesitlerinin normal histolojik yapıda olduğu görüldü ve patolojik olarak değerlendirilebilecek herhangi bir bulguya rastlanmadı (Şekil 4).

Grup 2 (OA)

Bu gruba ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; hiperemi, hemoraji, yaygın ödem, damar duvarlarında hiyalinizasyon, vaskülitis ve yaygın nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları gözlendi (Şekil 5). Perivasküler lokalizasyonlu, yer yer de nodüler olmak üzere yaygın polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu bulunmaktaydı (Şekil 6). Ayrıca intersitisyel dokuda kanama, hyalini görünüm ve yaygın yangı hücreleri gözlendi.

Grup 3 (ALA)

Bu gruba ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; hafif derecede ödem ve interalveolar septumlarda kalınlaşma (Şekil 7) dışında bir patolojik değişiklik gözlenmedi (Şekil 8).

Grup 4 (VITE)

Bu gruba ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; örneklerin tamamında ve orta şiddette yangısal reaksiyonlar mevcuttu (Şekil 9). Özellikle yangısal ödem varlığı ile birlikte perivasküler ve peribronş-bronşioler lokalizasyonlu nötrofil hücre proliferasyonları dikkat çekiciydi (Şekil 10).

Grup 5 (VITC)

Bu gruba ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; hafif şiddette hiperemi ve ödem varlığı (Şekil 12) ile birlikte çok sayıda olmayan nötrofilik akut yangı hücreleri gözlendi (Şekil 11).

Grup 6 (DDKS)

Bu gruba ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; damar duvarlarında büyüme, ödem, hiyalinizasyon ve nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları mevcuttu (Şekil 14). Çoğunlukla perivasküler lokalizasyonlu, yer yer de nodüler olmak üzere yaygın nötrofil hücre proliferasyonu bulunmaktaydı. Ayrıca intersitisyel dokuda kanama, ödem, hyalini görünüm ve sporadik yangı hücreleri gözlendi (Şekil 13).

Grup 7 (YDKS)

Bu gruba ait ratların akciğerlerine ait örneklerinin mikroskopik incelemesinde; alveoler alanlar normale yakın histolojik yapı gösterirken, bronş, bronşiyol ve bazı damarların duvarında ve çevresinde şiddetli derecede yangısal reaksiyonlar gözlendi (Şekil 15). Grup 6' ya ait akciğer örneklerindeki kadar şiddetli olmasa da yaygın polimorfnükleer hücre infiltrasyonları ile karakterize yangı tablosu devam etmekteydi (Şekil 16).

Tablo 10. Tüm gruplara ait patolojik parametre skorları

Gruplar (N=6)	Hemoraji	Hiyalinize Yapı	Ödem	Vasküler Rekasiyonlar	Yangısal Hücre İnfiltrasyonları
Kontrol	1.00±0.00^{d}	1.00±0.00^{c}	1.00±0.00^{c}	1.00±0.00	1.00±0.00^{e}
OA	4.17±0.31^{a}	3.17±0.31^{a}	3.33±0.21^{a}	3.83±0.17^{a}	4.83±0.17^{a}
ALA	1.83±0.17^{c}	1.50±0.22^{bc}	2.00±0.00^{b}	2.00±0.00^{d}	1.83±0.17^{d}
VITE	3.00±0.26^{b}	2.17±0.17^{b}	2.17±0.17^{b}	2.83±0.31^{bc}	3.17±0.31^{bc}
VITC	2.83±0.17^{b}	2.00±0.00^{b}	2.00±0.00^{b}	2.67±0.21^{cd}	2.83±0.3^{c}
DDKG	3.83±0.31^{a}	3.17±0.31^{a}	3.50±0.22^{a}	3.50±0.22^{ab}	3.83±0.31^{b}
YDKG	4.00±0.37^{a}	2.83±0.31^{a}	2.17±0.17^{b}	3.17±0.40^{ab}	3.67±0.42^{b}

N: Gruptaki Rat Sayısı, OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu, sonuçlar "Ortalama±Standart Hata (SE)" şeklindedir.
Duncan testinde, aynı sütundaki aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

Tablo 11. Tüm gruplara ait toplam hasar skorları ve tedavi yanıtları

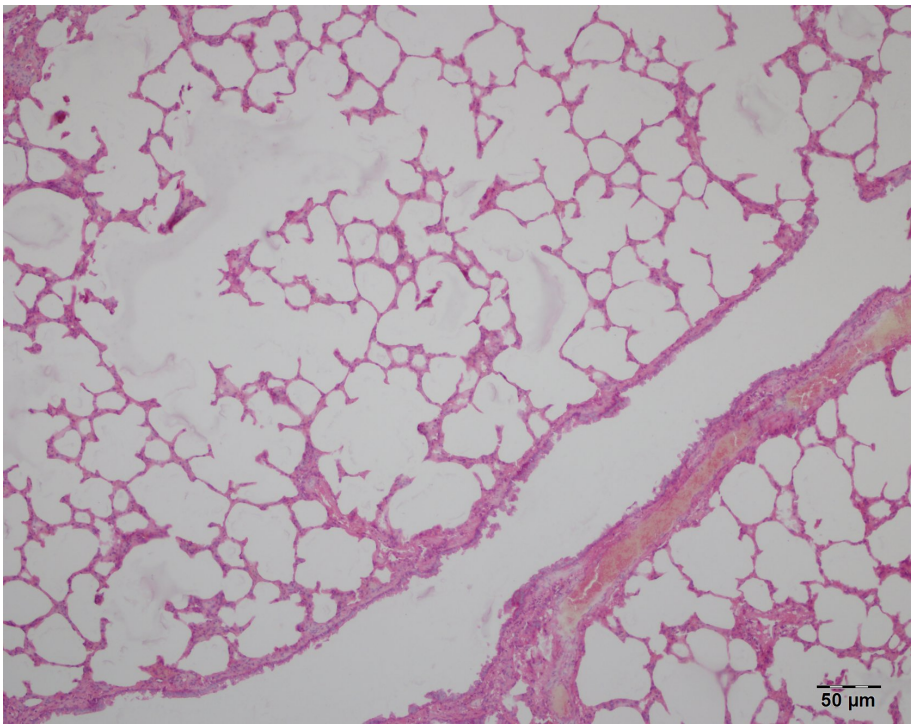
Gruplar (N=6)	Toplam Hasar Skoru	% Tedavi Yanıtı
Kontrol	1.00±0.00^{f}	-
OA	3.87±0.30^{a}	%0
ALA	1.83±0.09^{e}	%71.1
VITE	2.67±0.21^{cd}	%41.8
VITC	2.47±0.19^{d}	%48.8
DDKS	3.57±0.13^{ab}	%10.5
YDKS	3.17±0.32^{b}	%24.4

N: Gruptaki Rat Sayısı, OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu, sonuçlar "Ortalama±Standart Hata (SE)" şeklindedir.
Duncan testinde, aynı sütundaki aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

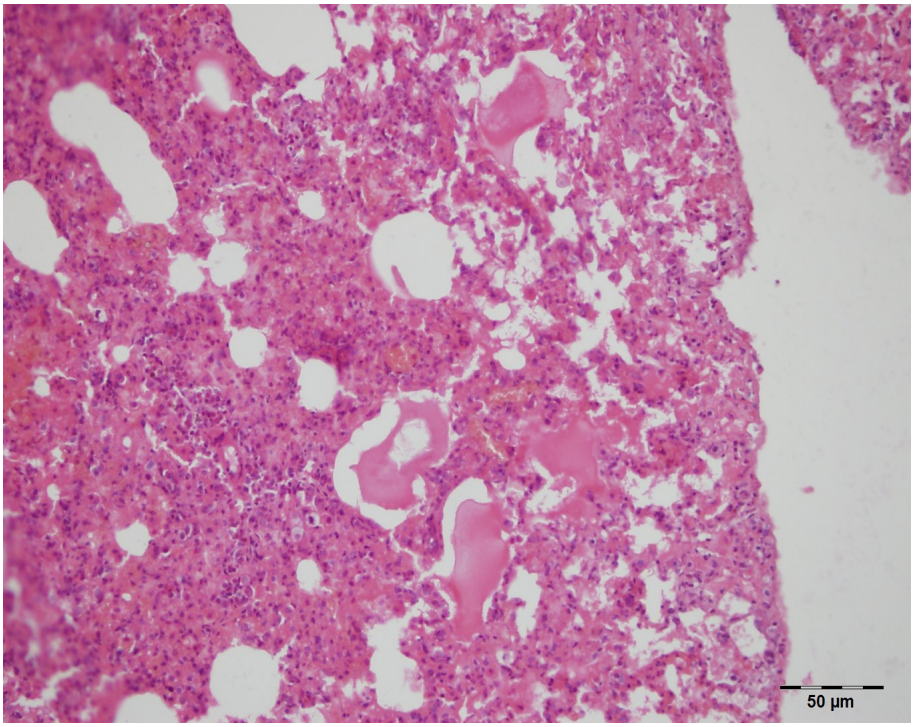
Toplam hasar skorlarını gösteren tablo 11 incelendiğinde, OA grubunun toplam hasar skoru diğer grupların toplam hasar skorları ile karşılaştırıldığında

anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan uygulamalardan en fazla tedaviye yanıt %71.1 ile ALA grubunda alınmıştır. Bunun yanında VITC %48.8 ile VITE ise %41.8 ile benzer tedavi yanıtları oluştururken, YDKS %24.4 ve DDKS %10.5 ile vitaminlerle karşılaştırıldıklarında daha az tedavi yanıtı oluşturmuşlardır.

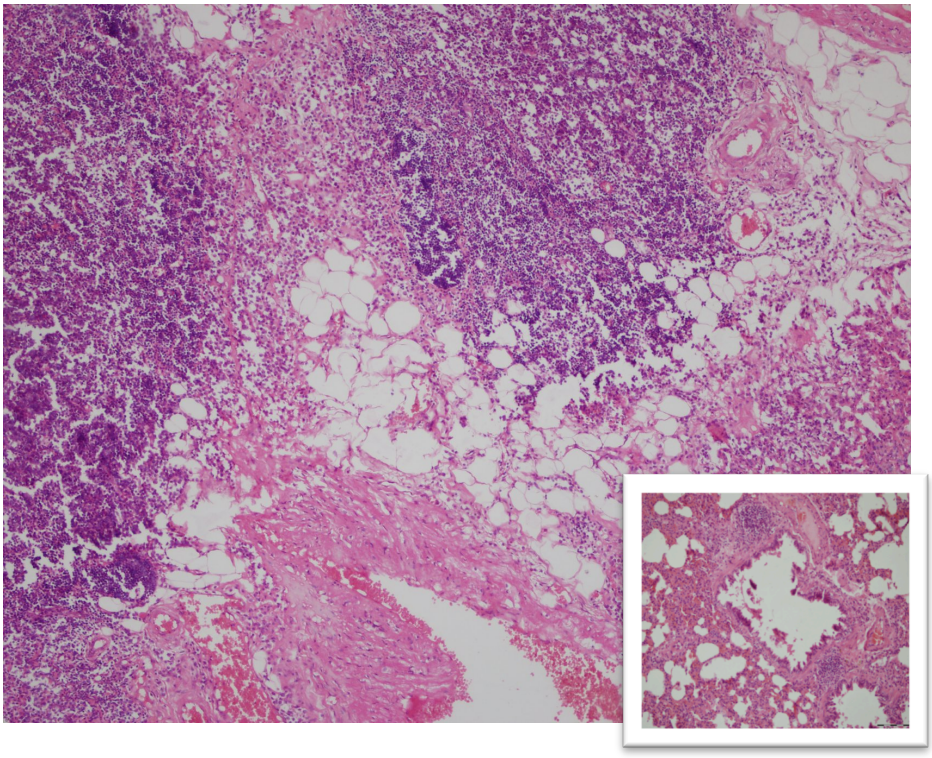
Şekil 4 : Sağlıklı görünüm (Grup 1)



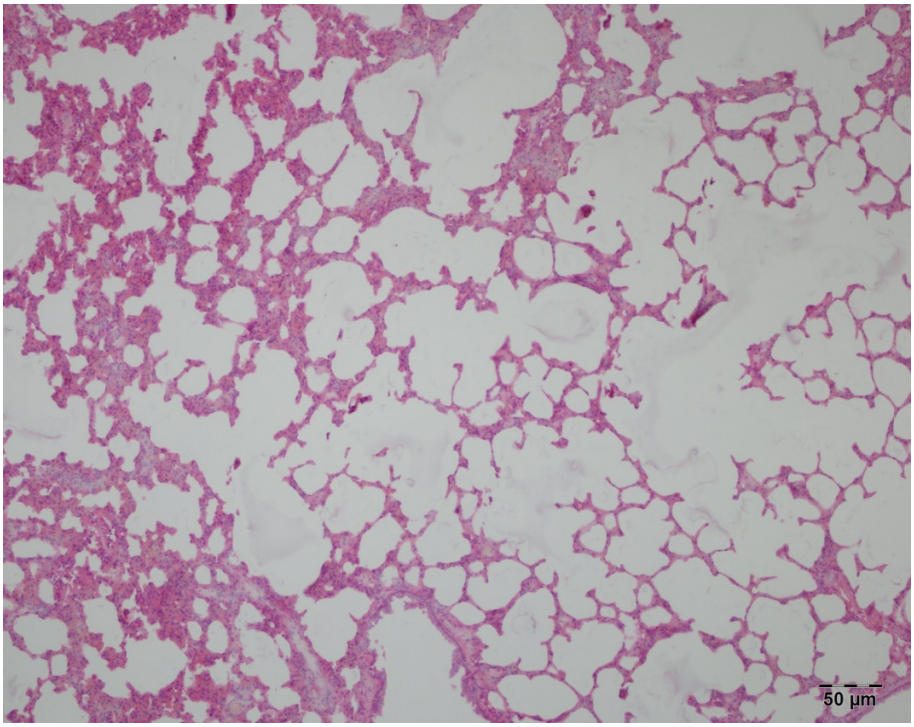
Şekil 5 : Hiperemi, hemoraji, yaygın ödem (Grup 2).



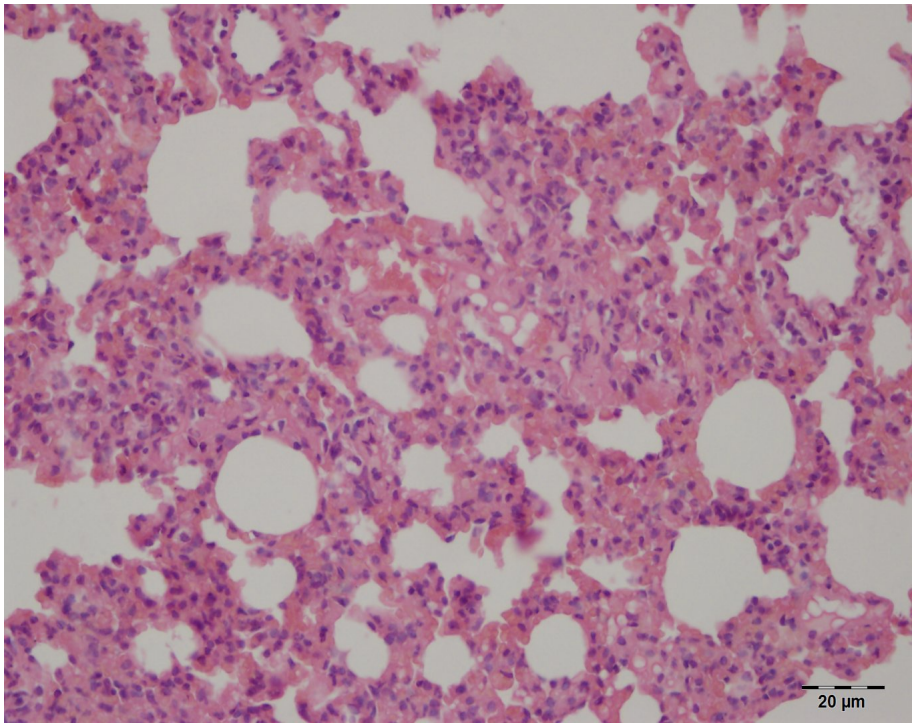
Şekil 6 : Polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu, vaskülitis (Grup 2).



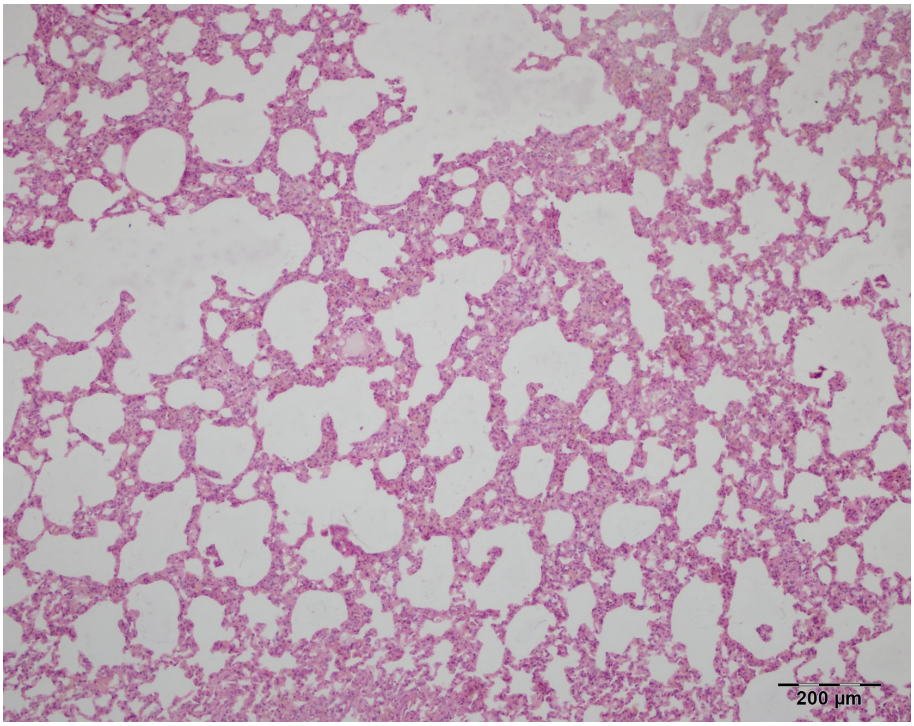
Şekil 7 : Normale yakın bir görünüm (Grup 3).



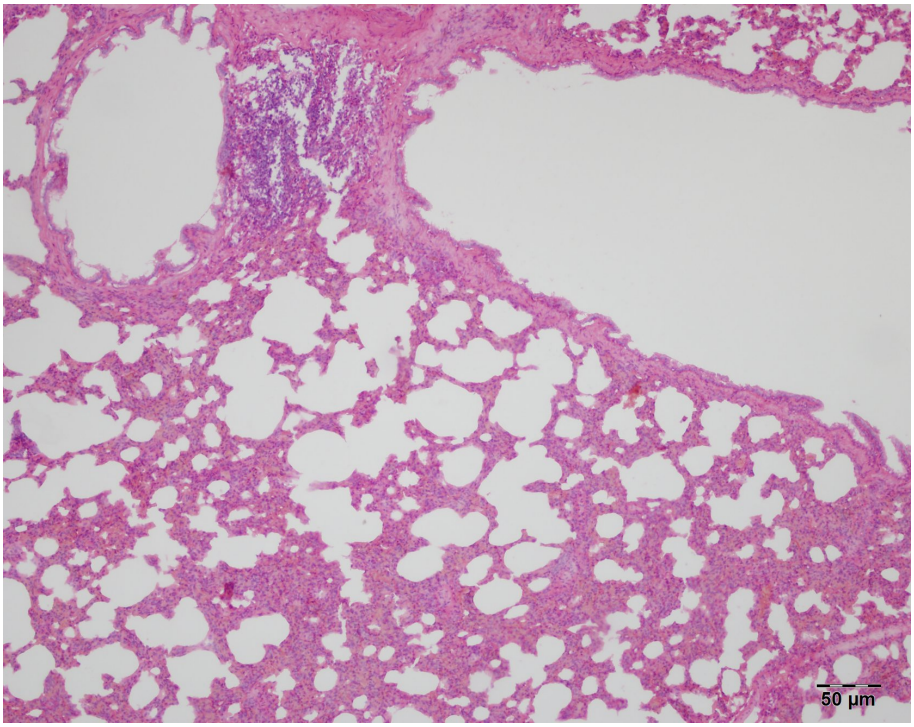
Şekil 8 : Hafif derecede ödem, interalveolar septumlarda kalınlaşma (Grup 3).



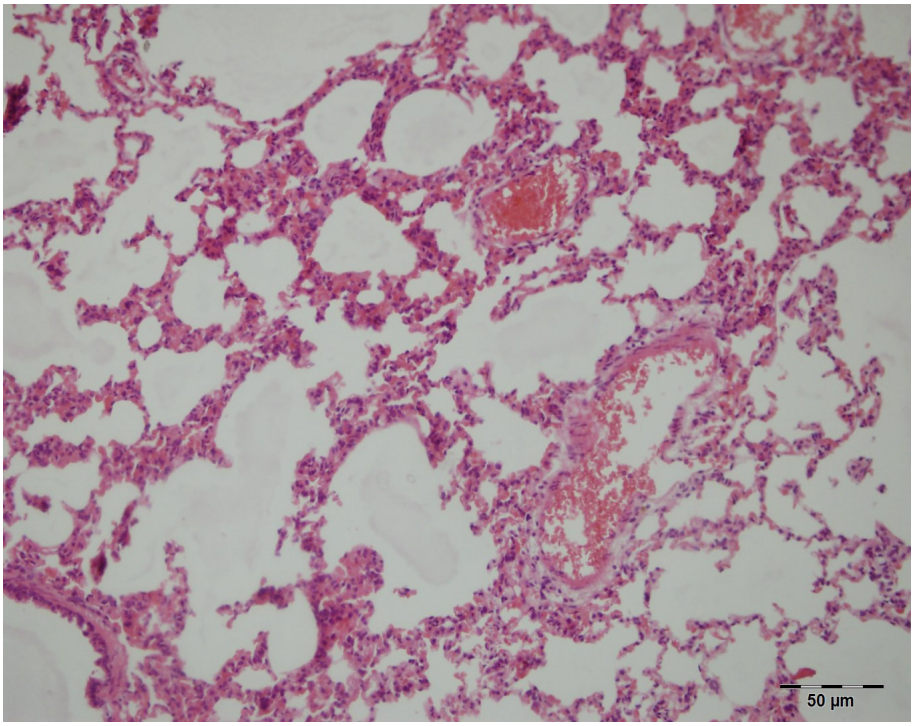
Şekil 9 : Orta şiddette yangı ve ödem (Grup 4).



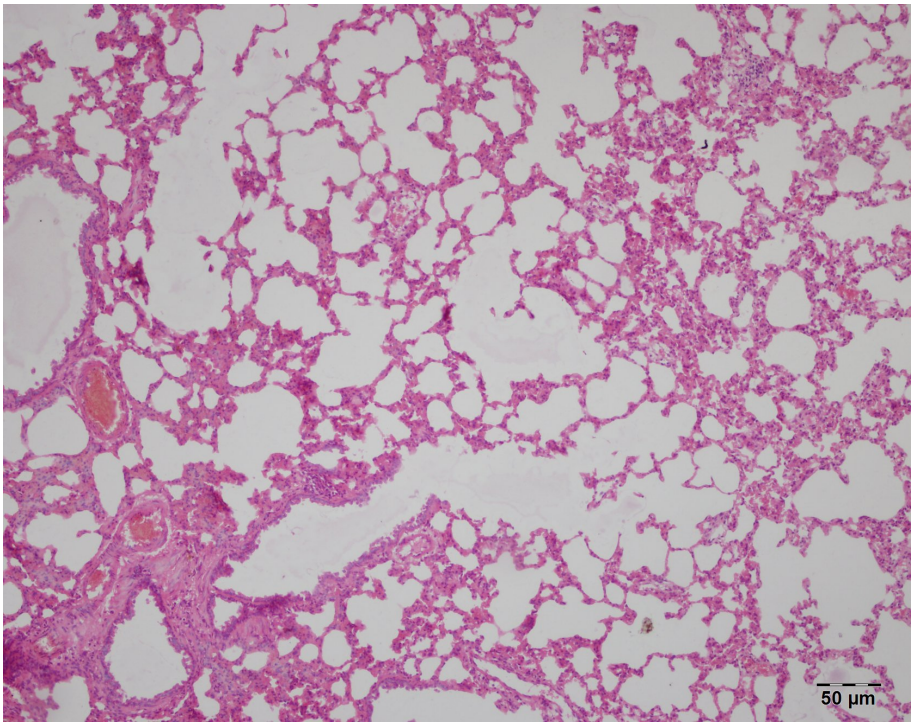
Şekil 10 : Perivasküler ve peribronş-bronşioler lokalizasyonlu nötrofil hücre proliferasyonları (Grup 4).



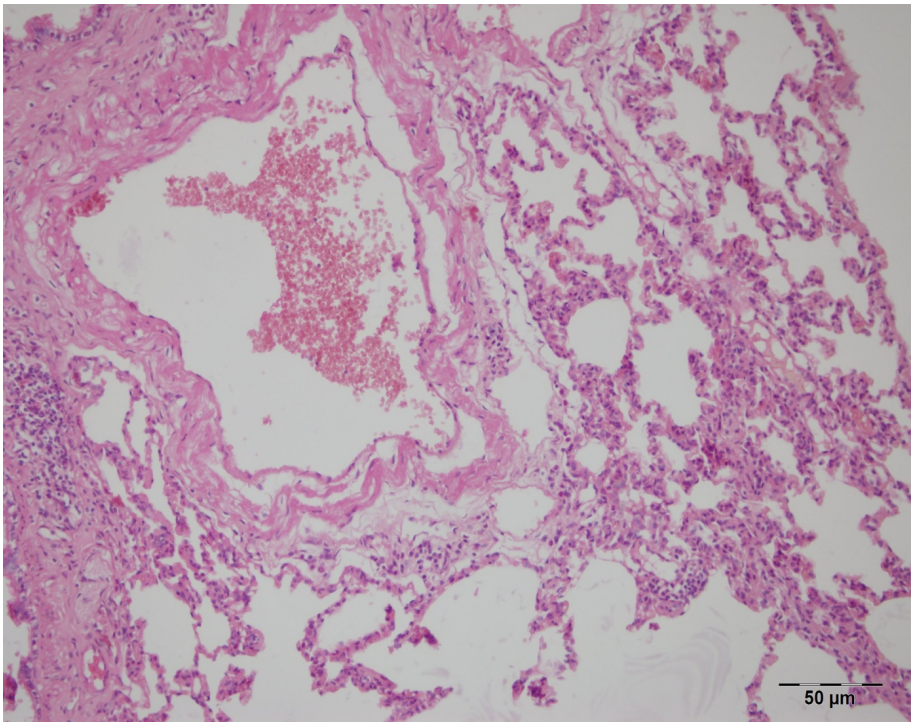
Şekil 11 : Çok sayıda olmayan nötrofilik akut yangı hücreleri (Grup 5)



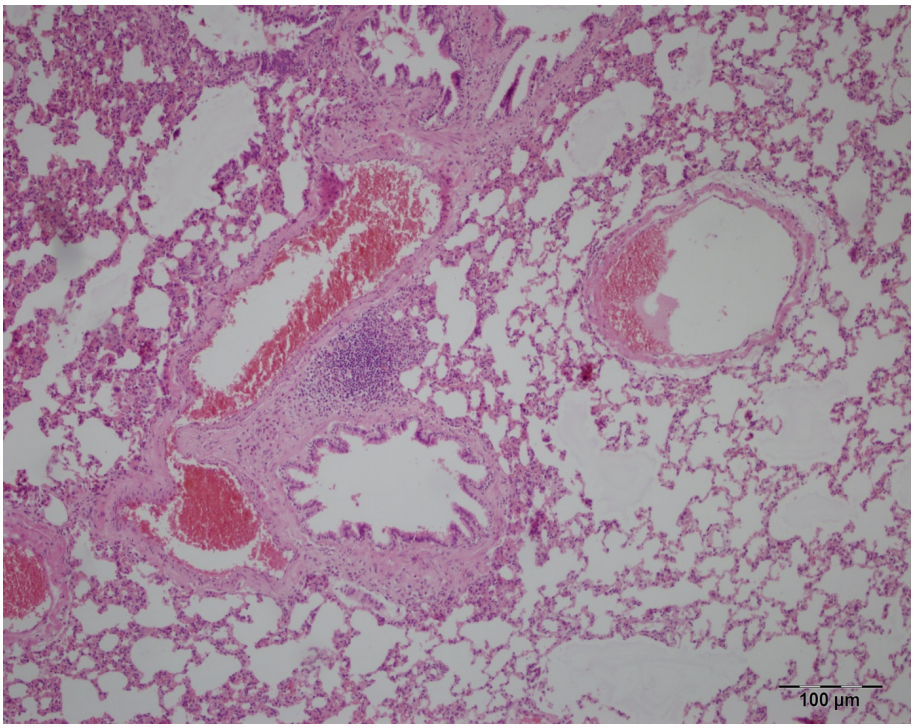
Şekil 12 : Hafif şiddette hiperemi ve ödem (Grup 5).



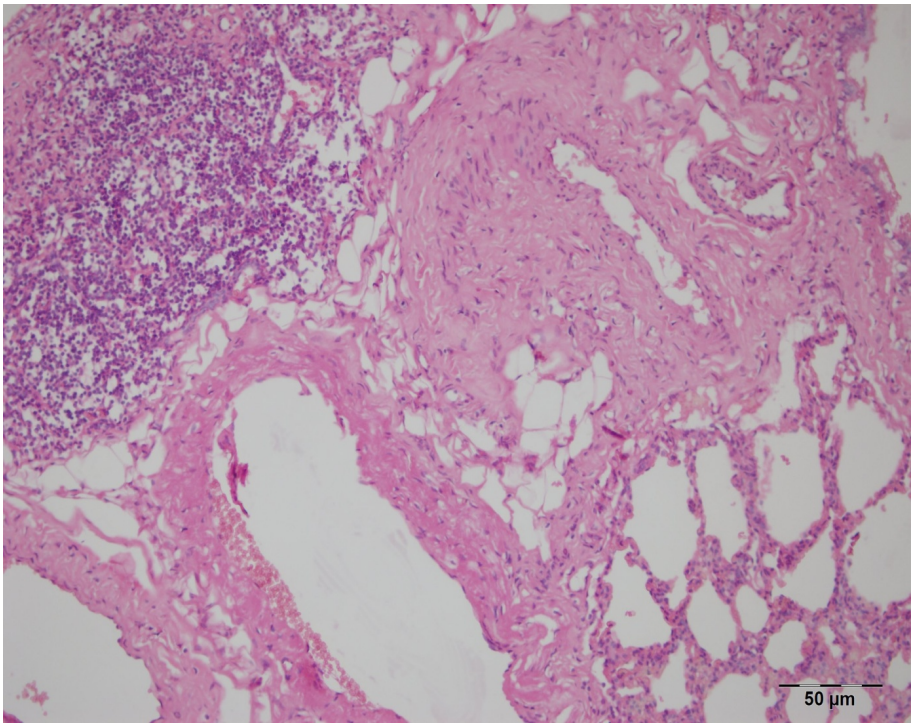
Şekil 13 : Kanama, ödem, hyalini görünüm ve sporadik yangı hücreleri (Grup 6).



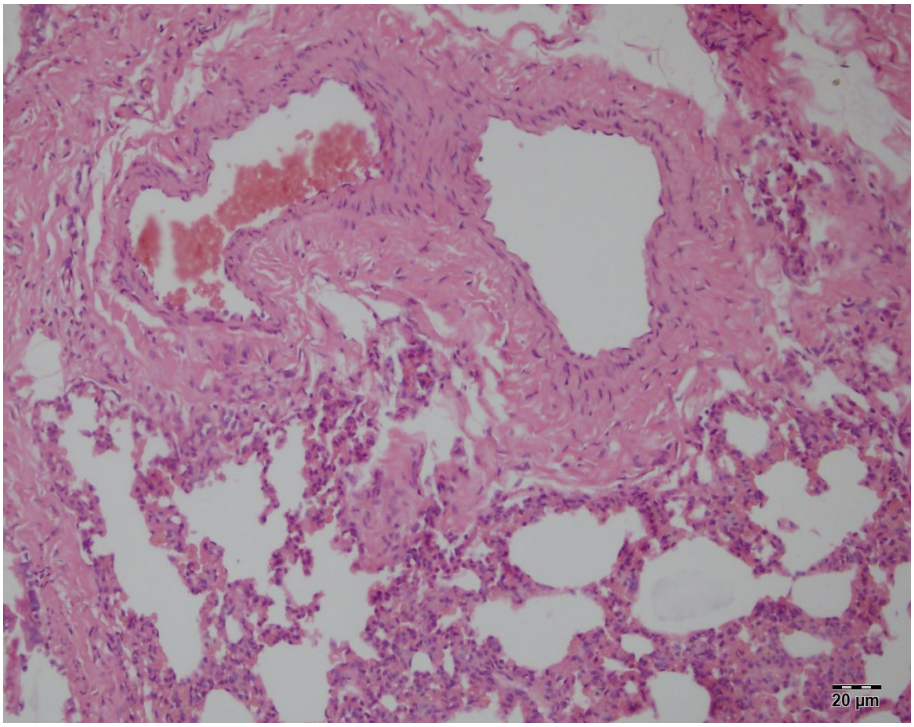
Şekil 14 : Damar duvarlarında büyüme, ödem, hiyalinizasyon ve nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları, perivasküler nötrofil hücre proliferasyonu (Grup 6).



Şekil 15 : Bronş, bronşiyol ve bazı damarların duvarında ve çevresinde şiddetli derecede yangısal reaksiyonlar (Grup 7)



Şekil 16 : Yaygın polimorfnükleer hücre infiltrasyonları ile karakterize yangı tablosu (Grup 7)



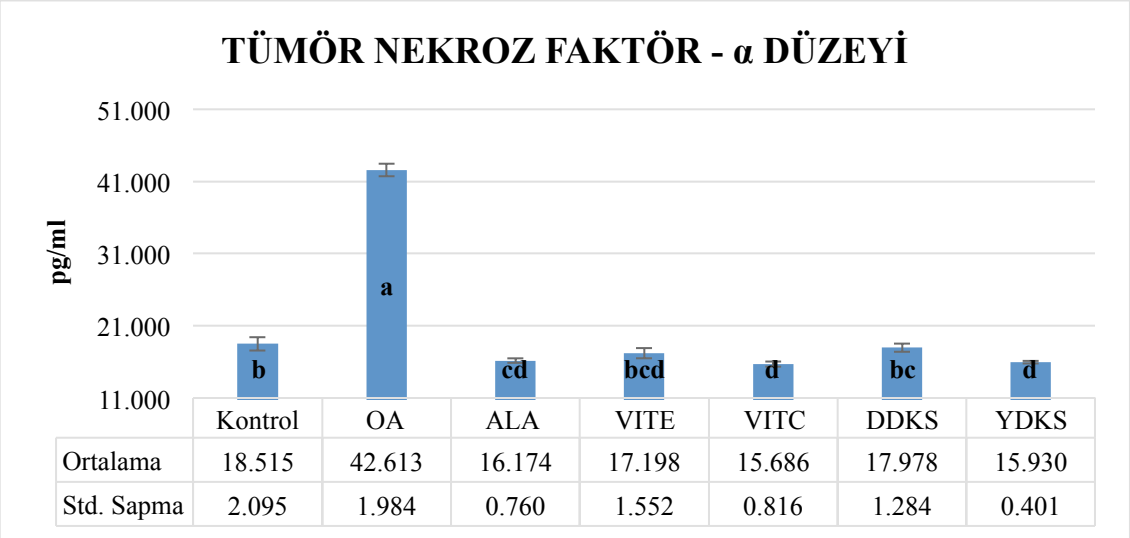
4.2 Biyokimyasal Analizler

4.2.1 Serum TNF - α ve IL - 1β Düzeyleri

Serum TNF - α ve IL - 1β Düzeylerine ait sonuçlar Şekil 17 ve 18' de verilmiştir.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında oleik asitin TNF-α seviyelerinin önemli oranda arttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Öte yandan uygulanan tüm tedavilerin akciğer hasarı sonucu artan serum TNF - α seviyelerini düşürdüğü ve hatta ALA, VITC ve YDKS gruplarında bu düşüşün kontrol grubu değerlerinin bile altında olduğu görülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 17).

Şekil 17 : Serum TNF-α düzeyleri

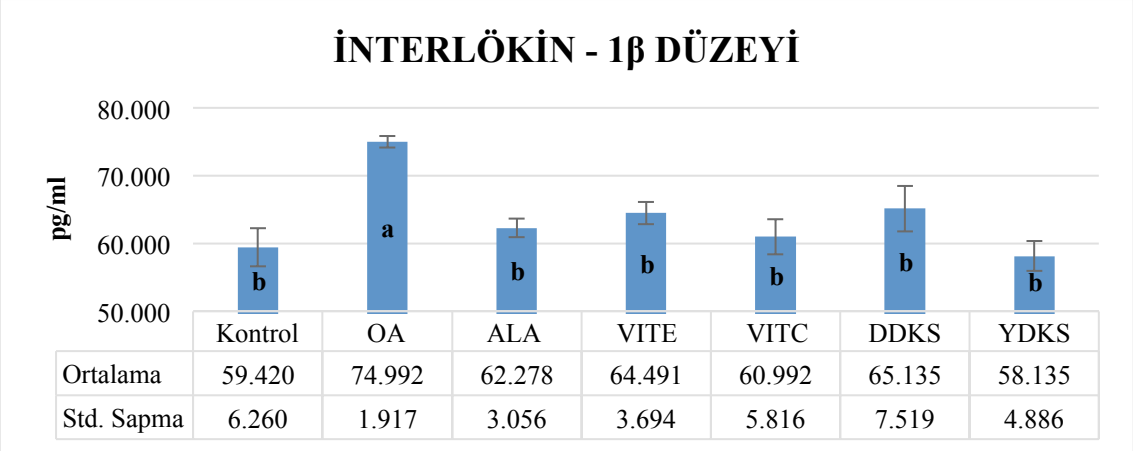


	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKS	YDKS
Ortalama	18.515	42.613	16.174	17.198	15.686	17.978	15.930
Std. Sapma	2.095	1.984	0.760	1.552	0.816	1.284	0.401

OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

TNF-α seviyelerinde olduğu gibi, IL 1-β seviyelerinin benzer şekilde kontrol grubu serumlarıyla kıyaslandığında OA grubunda önemli oranda arttığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Öte yandan uygulanan tüm tedavilerin akciğer hasarı sonucu artan serum IL 1-β seviyelerini düşürdüğü gözlenirken, tedavi grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. ($p<0,05$) (Şekil 18).

Şekil 18 : Serum IL-1β düzeyleri



	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKS	YDKS
Ortalama	59.420	74.992	62.278	64.491	60.992	65.135	58.135
Std. Sapma	6.260	1.917	3.056	3.694	5.816	7.519	4.886

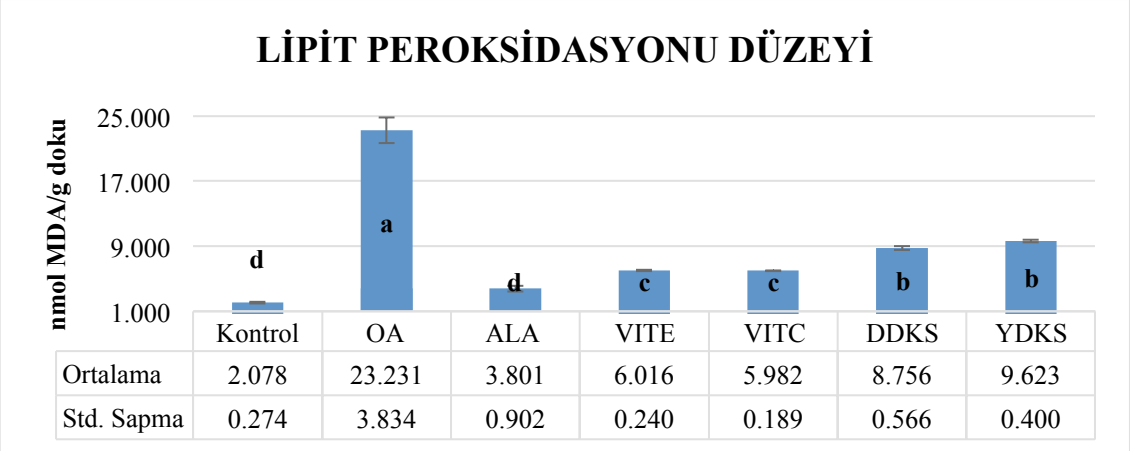
OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

4.2.2 Akciğer dokusu Lipit Peroksidasyon (LPO), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon (GSH) ve Katalaz (CAT) düzeyleri

4.2.2.1 Doku LPO düzeyi

Akciğer dokusu LPO seviyeleri Şekil 19' da verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında OA grubunun dokularında LPO seviyesinin önemli oranda arttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Öte yandan uygulanan tüm tedavilerin OA tarafından arttırılan doku LPO seviyelerini düşürdükleri bulunmuştur ($p<0.05$). ALA grubunun LPO seviyesi kontrol grubunun LPO seviyesine ulaştığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$). Kontrol grubuna en yakın seviyede bulunan VITC ve VITE grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca, DDKS ve YDKS grupları arasında da anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0.05$).

Şekil 19 : Doku LPO düzeyleri



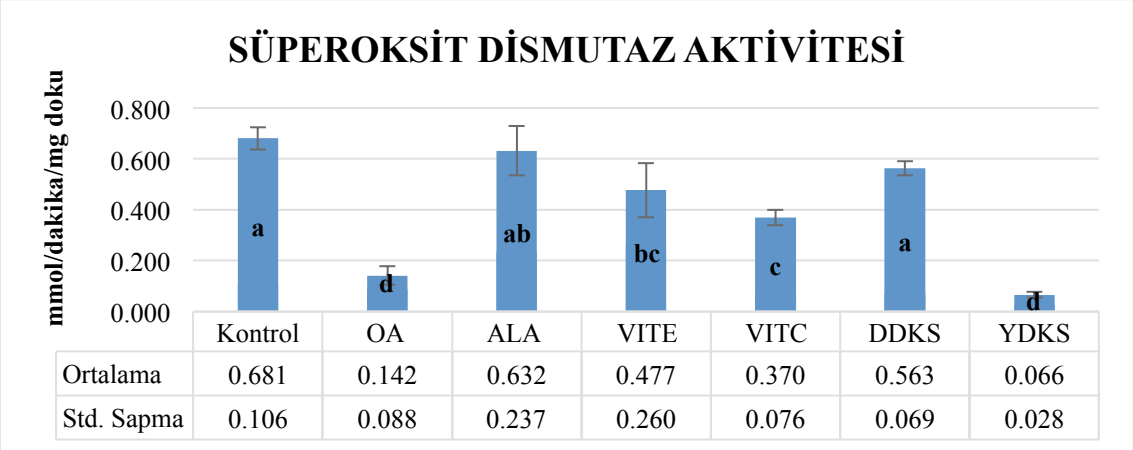
	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKS	YDKS
Ortalama	2.078	23.231	3.801	6.016	5.982	8.756	9.623
Std. Sapma	0.274	3.834	0.902	0.240	0.189	0.566	0.400

OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

4.2.2.2 Doku SOD aktivite düzeyi

Kontrol grubuna ait dokularla kıyaslandığında OA' in SOD aktivitesinde önemli bir düşüşe neden olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 21). YDKS hariç, uygulanan diğer tüm tedavilerin OA grubunda düşen SOD aktivitesini düzelttiği ($p<0.05$), ALA ve DDKS tedavilerinin SOD aktivitesini kontrol grubu seviyelerine ulaştırdığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Şekil 21 : Doku SOD aktivite düzeyi



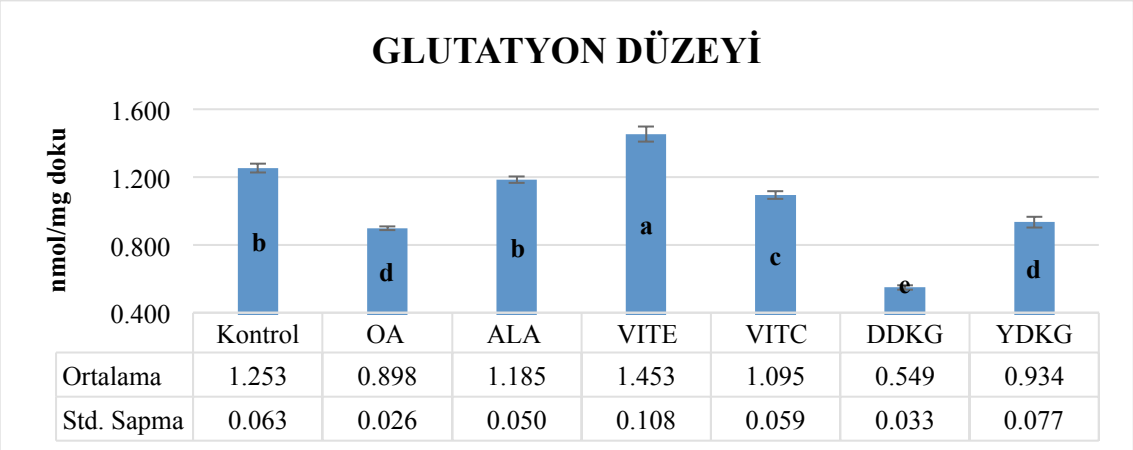
	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKS	YDKS
Ortalama	0.681	0.142	0.632	0.477	0.370	0.563	0.066
Std. Sapma	0.106	0.088	0.237	0.260	0.076	0.069	0.028

OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

4.2.2.3 Doku GSH düzeyi

Kontrol grubuyla kıyaslandığında akciğer hasarı oluşturulan OA grubuna ait GSH seviyesinin önemli oranda düştüğü gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 20). Uygulanan kortikosteroid tedavileri olan DDKS ve YDKS, düşen GSH seviyelerini yükseltememiş aksine DDKS daha fazla oranda düşürmüştür. ALA, VITC ve VITE tedavileri düşen GSH miktarını anlamlı olarak rejenere etmiştir ($p<0.05$).

Şekil 20 : Doku GSH düzeyleri



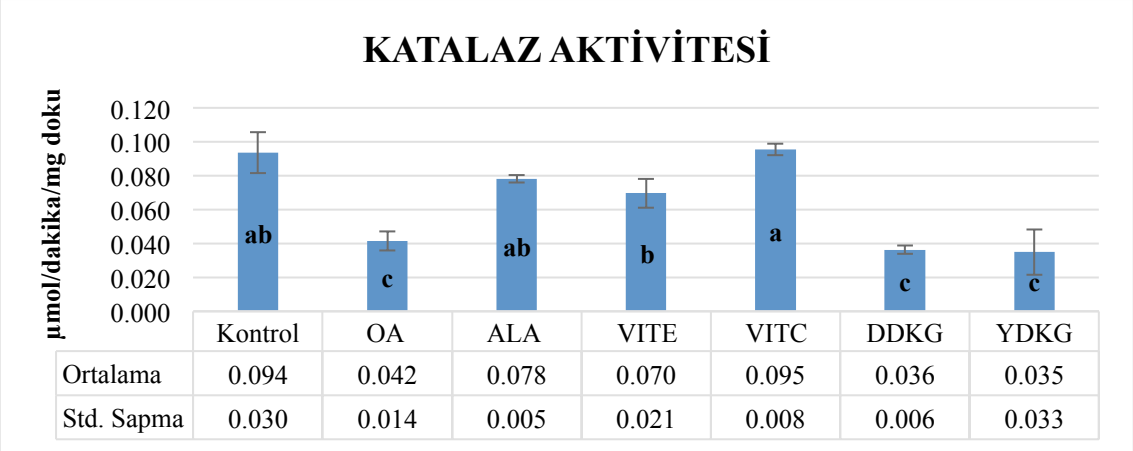
	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKG	YDKG
Ortalama	1.253	0.898	1.185	1.453	1.095	0.549	0.934
Std. Sapma	0.063	0.026	0.050	0.108	0.059	0.033	0.077

OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

4.2.2.4 Doku CAT aktivite düzeyi

SOD aktivitesine benzer şekilde CAT aktivitesinin de akciğer hasarında önemli oranda düştüğü gözlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 22). ALA, VITE ve VITC tedavilerinin CAT aktivitesindeki bu önemli düşüşü önlediği ($p<0.05$), öte yandan DDKS ve YDKS uygulamalarının ise CAT aktivitesinde herhangi bir olumlu etkiye neden olmadığı tespit edilmiştir. ($p>0.05$).

Şekil 22 : Doku CAT aktivite düzeyi



	Kontrol	OA	ALA	VITE	VITC	DDKG	YDKG
Ortalama	0.094	0.042	0.078	0.070	0.095	0.036	0.035
Std. Sapma	0.030	0.014	0.005	0.021	0.008	0.006	0.033

OA: Oleik Asit Grubu, ALA: Alfa Lipoik Asit Grubu, VITE: Vitamin E Grubu, VITC: Vitamin C Grubu, DDKS: Düşük Doz Kortikosteroid Grubu, YDKS: Yüksek Doz Kortikosteroid Grubu.
Duncan testinde, aynı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını ($p>0.05$), farklı harfler, grupların değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, ratlarda oleik asit (OA) kullanarak deneysel olarak oluşturulan akut respiratuar distres sendromunda (ARDS) bir kortikostreoid olan metil prednizolonun ve güçlü antioksidan etkileri bilinen α-lipoik asit (ALA), vitamin C (VITC) ve vitamin E' nin (VITE) patolojik ve biyokimyasal etkileri incelendi ve tedavi yanıtları değerlendirildi.

Ratlara verilen OA, akciğer dokusunda hemoraji, hyalinize yapı oluşması, ödem, vaskülitis, yangı hücrelerinin infiltrasyonu gibi çeşitli patolojik değişiklikler meydana getirirken, sitokin seviyesinin yükselmesi, hücre hasarı belirteci olan lipit peroksidasyon (LPO) düzeyinin artması, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde düşmeyle beraber glutatyon (GSH) düzeyinin azalması gibi biyokimyasal değişikliklere yol açmıştır. Uygulama yapılan ratların akciğerlerinde meydana gelen ARDS' na benzer doku hasarı ve metabolik değişimler, bu deney modelinin insandaki ARDS üzerine çalışma yapılabilecek iyi bir model olduğunu göstermektedir.

Uygulanan tedavilerden ALA grubu, OA grubuna göre kıyaslandığında mevcut parametrelerde en iyi sonuçları vererek %71.1 ile en yüksek tedavi yanıtını oluşturmuştur. Yine VITC ve VITE, ALA grubundaki etkilere benzer bir şekilde parametreleri olumlu yönde etkilemiş ve VITC %48.8' lik bir tedavi yanıtını oluştururken, VITE %41.8' lik bir tedavi yanıtı ile birbirlerine yakın sonuçlar vermişlerdir. Kortikosteroid ise düşük dozda kullanıldığı DDKS grubunda, hemoraji, ödem, hyalinize yapı gibi patolojik değişikliklere, SOD ve CAT aktivitesi, GSH düzeyi gibi biyokimyasal parametrelere etki etmezken, sitokin seviyelerini düşürmüş, vasküler ve yangısal değişikliklerde az da olsa anlamlı olarak etki etmiştir. Bu nedenle %10.5 tedavi yanıtı vererek en düşük

yanıtı oluşturmuştur. Yüksek dozda kullanımında ise hemoraji ve hyalinize yapıda meydana gelen değişiklikler ile GSH düzeyi, SOD ve CAT aktivitelerine etkisi olmamış, diğer parametrelerde ise anlamlı etkileri bulunmuştur. Düşük doza göre daha fazla parametrede meydana getirdiği değişiklikler ile %24.4' lük bir tedavi yanıtı meydana getirmiştir.

Bu sendrom için çok sayıda Faz II ve Faz III klinik çalışmalarla farmakolojik tedaviler geliştirmiştir. Bu tedaviler, glukokortikoidler, sürfaktanlar, inhale nitrik oksit, antioksidanlar, proteaz inhibitörleri ve çeşitli diğer antiinflamatuarlar şeklinde sıralanabilir (98). Son yıllarda sayıları önemli oranda artan antioksidan maddelerin üzerine yapılan çalışmalar, antioksidanların etkinliğini, güvenilirliğini ve etki şekli hala tam olarak ortaya koyamamıştır ve hala bu konuda çok sayıda çalışma sürmektedir (99-101). Buna rağmen şu ana kadar etkili bulunan bir tedavi ortaya çıkmamıştır. Bu nedenle çalışmamız bu konuya yeni bir bakış açısı getirebilecek güçlü verileri içermesi ve bu konuda literatüre katkı sağlayabilmesi sebebiyle önemlidir.

ARDS sonucunda meydana gelen akciğer hasarı endotel yanında epiteli de içerebilir. Primer olarak endotelyumda meydana gelen indirekt yaralanmalar, bir dizi sistemik inflamatuar yanıtı başlatırlar. Enfeksiyonlar (sepsis gibi), pankreatit, multiple travma ve hemorajik şok gibi çeşitli sistemik koşullar sistemik inflamatuar yanıtı dolayısıyla beraberinde akciğer hasarını da (nötrofil elastaz üzerinden) tetikleyebilirler. Oluşan akciğer hasarı, artan hücre membranı geçirgenliği sonrasında oluşan kapiller sızıntı (akut non-kardiyojenik akciğer ödemi), alveolar boşluk içine yüksek protein içerikli eksudat birikimi sonucunda akciğerde ekstravasküler su artışı ile karakterize bir inflamatuar tepki meydana getirir (102). İnflamasyon reaksiyonları endotel hücreleri arası boşlukların

aralanmasına neden olarak sıvı ve makromoleküllerin damar dışına geçişine sebebiyet verir. Solunum yolu epitel hücreleri, inflamatuar mediatörler olan interlökin – 8 ve inflamasyonu yöneten protein kinaz C, fosfatidik asit ve Rho habercilerinin salınımını yaparak bu inflamasyon reaksiyonlarına katkıda bulunurlar (103). Ayrıca infilamasyon sonucu oluşan yaygın alveoler hasarın neden olduğu TNF – α, IL – 1 ve IL – 6 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salınımı ile nötrofiller aktive olurlar. Bu nötrofiller tarafından toksik mediatörler olan reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar salınır, bu da fazlaca serbest radikal oluşumuna sebebiyet verir ve endojen kaynaklı antioksidanları tüketerek hücre hasarlarına neden olurlar (104).

Deney hayvanlarında ARDS oluşturmakta kullanılan çeşitli metotlar bulunmaktadır (105). Bu yöntemler intraperitonal lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu, intratrakeal HCl, tekrarlayan tuz lavajı, endotoksin infüzyonu, çekal ligasyon ve punksiyon (CLP), bleomisin, pulmoner iskemi-reperfüzyon ve oleik asitin intravenöz enjeksiyonu olarak sıralanabilir (106-113).

İntravenöz yolla verilen oleik asit'in (OA) akciğerlerde oluşturduğu morfolojik ve hücresel değişiklikler, akut akciğer hasarı (AAH) ve ARDS' da görülenlere benzemektedir. Bu nedenle OA ile oluşturulan akut akciğer hasarı modeli deneysel çalışmalarda sık olarak kullanılmakta ve çok sayıda farmakolojik ajan, ARDS tedavisine katkı sağlamak amacıyla denenmektedir (48, 114). OA ile oluşturulan akciğer hasarı modellerinde OA' in intravenöz yolla verilmesinden kısa bir süre sonra başlangıçta hasar pulmoner vasküler endotel hücrelerinde oluşur ve bunu inflamasyon ile akciğer hasarı takip eder. Bu oksido-inflamatuar sürece alveolokapiller membran yapısının bozulması ve permeabilite artışı, intraalveoler ve interstisyel sıvı artışı ve hemoraji, polimorfonükleer lökosit

infiltrasyonu, oksidan enzimlerin aktivasyonu, sitokin salınımı, adezyon molekülleri ve reaktif oksijen ürünleri üretimi artışının katkıda bulunduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (50, 51, 115-117). Kısaca OA akciğerlerde alveolo-kapiller membranın yapısının bozulmasına, permeabiltie artışına, nötrofil infiltrasyonuna, sitokin salınımına, intraalveoler ve interstisyel sıvı artışına, intrapulmoner kan akımında değişikliklere ve bunlara ilave olarak hemorajiye, ventilasyon-perfüzyon bozukluğuna ve hipoksik solunum yetmezliğine neden olur (118, 119). Bu çalışmada da hiperemi, hemoraji, yaygın ödem, damar duvarlarında hiyalinizasyon, vaskülitis ve yaygın nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları ile perivasküler lokalizasyonlu, yer yer de nodüler olmak üzere yaygın polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu, intersitisyel dokuda kanama, hyalini görünüm ve yaygın yangı hücreleri gibi bulgulara rastlanmış olup önceki benzer çalışma sonuçları ile paralel olduğu görülmüştür.

Oleik asitin akciğer ağırlık oranını arttırdığı da kanıtlanmıştır (119). Yapılan bu çalışmada da oleik asit verilmiş ratların akciğerlerinde voluminöz bir görünüm dikkat çekmiş ve belirgin olarak ödem şekillendiği gözlenmiştir (Şekil 5 ve 6). Buna paralel olarak Motohiro ve ark. tarafından köpeklere verilen OA'in pulmoner vasküler permeabiliteyi arttırdığı bunun sonucu olarak ekstravasküler akciğer sıvı artışına neden olduğu gösterilmiştir (120). Yine Vadasz ve ark. OA'in akciğer transepitelyal aktif sodyum transport mekanizmasını bozduğu ve endotelyal hücrelerin permeabilitesinin artmasına neden olduğu bildirmişlerdir (121).

Doku hasarının biyokimyasal olarak ortaya konulmasında en önemli ve en çok kullanılan parametrelerden biri lipit peroksidasyonu (LPO) seviyesidir (122). Serbest radikaller hücre membranlarına saldırarak LPO' nu meydana getirmektedirler (123). Serbest oksijen radikallerinin miktarındaki artış LPO

seviyesinde artma meydana getirmektedir. LPO kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve bu oto katalitik reaksiyonu sonucu oluşan malondialdehit, membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurken lipit, alkol ve aldehitler gibi istenmeyen yan ürünler oluşur (124). Bu ürünler hücre düzeyinde metabolize edilerek veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak kansere kadar giden birçok hastalığa ve doku hasarına neden olurlar (125). Organizmalar LPO kaynaklı hasarları azaltmak zorundadır ve bu amaçla antioksidant sistemlere sahiptirler. Antioksidan sistemin yetersiz kaldığında veya sistemin dengesi bozulduğunda hücresel hasarlar da kaçınılmazdır.

Çalışmamızda ratlara verilen vitamin C, vitamin E ve α-lipoik asit ile metil prednizolonun, oleik asidin arttırdığı LPO seviyesini azalttıkları tespit edilmiştir. Deney hayvanlarında deneysel oluşturulan veya insanlarda meydana gelen hastalıklarda vitamin E, vitamin C ve α-lipoik asit uygulamalarının, artmış doku LPO düzeyini azalttığını bildiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (126, 127). LPO seviyesinin azalmasını α-lipoik asit ve vitamin C, direkt olarak süperoksit radikallerini süpürerek sağlarlar. Vitamin E ise hem sekonder bir antioksidan olan GSH' ın rejenere olmasına yardım ederek hem de hücre membranına yerleşerek süperoksitleri tutar ve bunların etkilerini azaltır. (128-130).

SOD enzimi süperoksit radikalini H_2O_2 ve O_2' e dönüşümünü katalizleyen bir enzim olarak görev yapar (131). Çalışmamızda ratlara uygulanan OA' in SOD aktivitesini düşürdüğü belirlenmiştir. Gruplara verilen α-lipoik asit, vitamin C ve vitamin E ise düşen SOD aktivitesini kontrol gruptaki SOD aktivitesine yaklaştırmıştır. Daha önce ratlarda oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çok çalışmada OA' in akciğer dokusunda SOD aktivitesini azalttığı

bildirilmiştir (132-135). Bunun aksine Bulmuş ve ark. ratlarda oleik asitle oluşturulan akciğer hasarı modelinde OA' in SOD aktivitesinde anlamlı bir fark oluşturmadığını belirtmişlerdir (136).

Yakın zamanda Gokce ve ark. tarafından ratlarda kontüzyon ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yaptıkları çalışmada kontüzyon uygulaması sonucu MDA seviyesinin yükseldiği ve SOD aktivitesinin düştüğü gözlenmişken tedavi için uygulanan vitamin C' nin artan MDA seviyesini anlamlı düzeyde düşürdüğünü, vitamin E' nin ise azalan SOD aktivitesini arttırdığını bildirilmiştir (137).

Bulgularımızda düşük dozda uygulanan metil prednizolon, SOD aktivitesini yükseltmişken, yüksek dozda SOD aktivitesi üzerine OA grubu ile kıyaslandığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı gözlemlenmiştir.

Benzer çalışmalarda, Tian ve ark. tarafından ratlarda OA ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada OA'in doku ve serum SOD aktivitesini düşürürken, 5 mg/kg dozda verilen metil prednizolonun SOD aktivitesini etkilemediğini bildirmiştir (133). Ayrıca, son yıllarda ratlarda iskemi-reperfüzyon yontemi ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada ise iskemi-reperfüzyon uygulamısının arttırdığı SOD aktivitesi üzerine 15 mg/kg dozda yapılan metil prednizolon uygulaması anlamlı bir değişikliğe neden olmazken, 150 mg/kg dozda verilen metil prednizolonun anlamlı şekilde düşürdüğü bildirilmiştir (138).

GSH bir tripeptit olup antioksidan sistemin en önemli savunma elemanlarından biridir ve SOD tarafından oluşturulan H_2O_2' in suya dönüştürülmesini sağlar (78). Çalışmamızda OA grubunda GSH düzeyi düşük bulunmuş olup gruplara verilen α-lipoik asit, vitamin C ve vitamin E verilen

gruplarda bu düzeyin kontrol grubun seviyesine yakın olduğu bulunmuştur. GSH' ın rejenerasyonunda önemli etkinliği bulunan vitamin E verilen grup kontrol gruptan bile anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Bu sonuçlara paralel olarak Bulmus ve ark. ratlarda oleik asitle oluşturulan akciğer hasarı modeli üzerine yapılan çalışmada benzer şekilde OA' in GSH düzeyini düşürdüğü α-lipoik asitin ise bu düşen düzeyi yükseltiği ortaya konulmuştur (136).

Bunlara ilave olarak YDKS grubu OA grubu ile fark oluşturmamasına rağmen DDKS grubu en düşük GSH seviyesi olarak ölçülmüştür. Prednizolonun doku GSH seviyesi hakkında çok fazla bilgi bulunmamakla beraber Beytut ve ark. ratlara 3 gün boyunca 100 mg/kg dozda uygulanan metil prednizolon ile oluşturulan böbrek hasarı üzerine yaptıkları bir çalışmada metil prednizolonun böbrek dokusundaki GSH seviyesini düşürdüğünü vitamin E ve selenyum kombinasyonu uygulamasının düşen bu GSH miktarını anlamlı bir şekilde arttırdığını bildirmişlerdir (139).

CAT enzimi, SOD enzimi tarafından süperoksit radikalinin etkisiz hale getirildikten sonra ortaya çıkan H_2O_2' in suya çevrilmesinde görev alır (93). Çalışmamızda SOD aktivite düzeyine benzer olarak CAT aktivite düzeyi de OA, YDKS ve DDKS gruplarında en düşük düzeyde bulunmuş ve bu gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Buna ek olarak, α-lipoik asit ve vitamin E verilen grupların düşen bu CAT aktivite düzeyinin kontrol grubunun CAT aktivite düzeyine yaklaştığı ve hatta vitamin C verilen grubun CAT aktivite düzeyinin kontrol grubun aktivite düzeyinden bile yüksek olduğu bulunmuştur.

Yakın zamanda Bulmus ve ark. ile Salman ve ark. tarafından ratlarda oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yaptıkları çalışmalarda aynı şekilde OA'

in akciğer dokusunda CAT aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir (136, 140). Ayrıca Bulmuş ve ark. düşen CAT seviyesinin α-lipoik asit tarafından anlamlı şekilde yükseltildiğini belirtmiştir (136).

TNF-α ve IL-1β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi veya fonksiyonu, birçok inflamatuar cevapta rol oynar (141). Bu nedenle, sitokin üretiminin veya fonksiyonunun düzenlenmesi, inflamasyonun kontrolünde önemli bir mekanizmadır. Makrofajların güçlü bir aktivatörü olan TNF-α, başlangıçta monositler tarafından üretilir ve birçok hücre tipleri üzerinde çeşitli pro-inflamatuar etkilere sahiptir. Ayrıca IL-1β da makrofajlar tarafından salıverilen önemli bir sitokindir (142). Bulgularımızda OA grubunun her iki parametrede de önemli seviyede yüksek olduğu verilen tüm tedavilerin bu parametrelerde önemli azalma sağladığı gözlendi.

Domuz yavrularında OA ile indüklenen akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada OA uygulanan hayvanlarda serum TNF-α düzeyinin arttığı gösterilmiştir (143).

Hoshino ve ark. tarafından farelerde bleomisin kullanılarak oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada hasara bağlı olarak IL-1β düzeyinin arttığının ve bu düzeye paralel olarak akciğer hasarının da arttığı bildirilmiştir (144).

Tüm bu sonuçlara paralel olarak farelerde parakuat kullanılarak oluşturulan akciğer hasarı modeli üzerine yapılmış bir çalışmada akciğer dokusunda sadece parakuat uygulanan farelerde doku LPO düzeyinin arttığı, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin düştüğü ve TNF-α düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (145).

Köksel ve ark. intravenöz OA vererek oluşturdukları akut akciğer hasarı modelinde akut akciğer hasarının gelişmiş olduğunu histopatolojik olarak

göstermiş ve bu hasarda peroksinitrit'in etkili olduğunu belirtmişlerdir [49]. Aynı araştırmacılar yaptıkları başka bir çalışmada da oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde, hasar göstergesi olarak serum nitrik oksit metabolit düzeylerinin arttığı, N-asetil sistein kullanılmasının bu metabolit düzeylerini azaltmakta etkili olduğunu rapor etmişlerdir [146].

Marwa ve ark. tarafından tavşanlarda nikotin ile oluşturulan endotelyal hasar modeli üzerine yapılan bir çalışmada α-lipoik asitin yükselen MDA seviyesini düşürdüğü, düşen SOD ve GSH seviylerini de yükselttiğini bildirmiştir. Bunlara ilave olarak nikotin tarafından arttırılan sub-endotelyal lipit birikiminin α-lipoik asit tarafından azaltıldığını ortaya koymuştur (147).

Bulgularımızdaki OA grubuna ait akciğer dokularının histopatolojik verileri incelendiğinde OA; hiperemi, hemoraji, yaygın ödem, damar duvarlarında hiyalinizasyon, vaskülitis ve yaygın nekroz ile karakterize şiddetli damar hasarları meydana getirmiştir. Perivasküler lokalizasyonlu, yer yer de nodüler olmak üzere yaygın polimorfnükleer (nötrofil) hücre proliferasyonu bulunmaktadır. Ayrıca intersitisyel dokuda kanama, hyalini görünüm ve yaygın yangı hücreleri gözlenmiştir. Bulgularımızda ALA grubunda hafif derecede ödem ve interalveolar septumlarda kalınlaşma dışında bir patolojik değişiklik gözlenmemiştir. Bulgularımıza paralel olarak Bulmuş ve ark. tarafından ratlarda oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada 100 mg/kg dozda oleik asit uygulanan grubun akciğer dokusunda artan vasküler permeabilite ile bilikte intersitisyel ve interalveoler ödem, hemoraji, perivasküler ve intra-alveoler alanlarda hiyalin membranla birlikte intersitisyel ve interalvoler mononükleer hücre infiltrasyonuyla karakterize diffüz alvoler hasar görülmüştür. α-lipoik asit verilen grubun akciğerlerinde histolojik olarak normal bir görünüm verdiği ve

minumum düzeyde perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonlarının belirlendiği bildirilmiştir (136).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularımızda vitamin C verilen gruptaki ratların akciğerlerinde hafif şiddette hiperemi ve ödem varlığı ile birlikte çok sayıda olmayan nötrofilik akut yangı hücreleri gözlendi. Vitamin E uygulanan ratlarda ise örneklerin tamamında ve orta şiddette yangısal reaksiyonlar mevcuttu. Özellikle yangısal ödem varlığı ile birlikte perivasküler ve peribronş-bronşioler lokalizasyonlu nötrofil hücre proliferasyonları dikkat çekiciydi. Gokce ve ark. tarafından ratlarda 400 gr ağırlığındaki çelik silindirin 50 cm yükseklikten düşmesiyle oluşturulan akciğer kontüzyonu ile oluşturulan akciğer hasarı modeli üzerine bildirilen bir çalışmada vitamin C, vitamin E ve Coenzim Q uygulanmış ve deksametozonun etkisiyle karşılaştırılmıştır. Kontüzyon grubunda hemoraji, ödem ve parçalanma kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış iken vitamin C ve vitamin E uygulanan grupların akciğerlerinde orta şiddette ödem ve konjesyon gösterdiği ve kontrol grubuna göre daha az lökosit bulunduğu gösterilmiş, deksametozon uygulanan ratların akciğerinde ise kontüzyon grubundan anlamlı bir fark göstermediğini bildirmiştir (137). Bunlara ilaveten Berkan ve ark. ratlarda iskemi ve reperfizyon yapılarak oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapıtıkları bir çalışmada sadece iskemi ve reperfüzyon oluşturulan grupta polimorfnükleer hücre miktarının arttığını 50 mg/kg dozda vitamin C verilen grupta ise bu miktarın düştüğü belirtilmektedir. Ayrıca hastalığın oluşturduğu intersitisyel ödem ve konjesyon, vitamin C verilen hayvanlarda bu lezyonların anlamlı şekilde azaldığı da gözlemlenmiştir (148). Niu ve ark. yenidoğan bebeklerin akciğer hastalıklarında kortikosteroid kullanımı sonrası bu bebeklerin çocukluk çağında kardiovasküler yan etkilerin ortaya çıktığını belirterek yavru ratlara 3 ila 6 gün

arasında deksametazon uygulaması ile birlikte vitamin C ve vitamin E uygulamıştır. Deneme sonunda kardiak yan etkilerin azaldığını ortaya koymuştur (149).

Bulgularımızda metil prednizolonun düşük dozda verilen grupda doku hasarı OA grubuna benzerlik izlenmiş, yüksek dozda metil prednizolon verilen ratların akciğerinin alveoler alanları normale yakın histolojik yapı göstermiştir. Ayrıca bronş, bronşiyol ve bazı damarların duvarında ve çevresinde şiddetli derecede yangısal reaksiyonlar gözlenmiştir. Bulgularımıza paralel olarak Yeginsu ve ark. tarafından ratlarda iskemi reperfüzyon yöntemi kullanılarak yaptıkları bir çalışmada 15 mg/kg dozda verilen düşük doz metil prednizolon grubuna ait akciğer dokusunda yoğun lenfosit infiltrasyonuna ek olarak bronşiol ve alvoellerin lümeni parçalanmış hücre ve ödem içerirken, 50 mg/kg dozda verilen yüksek doz metil prednizolon grubunda daha az lenfosit infiltrasyonuyla birlikte bronşiyollerin normal histolojik görünüme yakın olduğunu ve bu iki grubun TNF-α düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü bildirmişlerdir (150). Balcı ve ark. tarafından ratlarda oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada oleik asit grubunda şiddetli patolojik lezyonlar olarak belirtilen intrapulmoner ve interstisyel ödem ile şiddetli vasküler konjesyon ve tromboz %28.6 görülmüşken 25 mg/kg metil prednizolon verilen grubun akciğerlerinde %14.2 olarak bulunduğu bildirilmiştir (117).

Chen ve ark. tarafından ratlara oleik asit verilerek oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada propofolun etkinliği araştırılmıştır. Oleik asit uygulanan ratların akciğerler dokularında yaygın pulmoner ödemle birlikte artan inflamatuar hücre patolojik olarak izlenmiş olup plazma TNF-α ve IL-1 β seviyelerinin diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yükseldiği

belirtilmiştir. Propofolun ise bu parametreleri anlamlı şekilde azalttığı bildirilmiştir (151).

Kang ve ark. tarafından ratlara verilen lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan akciğer hasarı modelinde taurin etkinliğini gösteren bir çalışmada LPS uygulanan gruptaki ratların akciğer dokusunda bol sitoplazmalı hiperkromik beyaz kan hücrelerinden oluşan ağır perivasküler ve interstitial inflamasyon görüldüğü bildirilmiştir (152).

ARDS için klinik çalışmalar değerlendirildiğinde sepsis sonucu ortaya çıkan ve eksüdatif dönemde bulunan ARDS' lerde kortikosteroid kullanımının etkisiz olduğu gösterilmiş olmakla beraber, bazı deneylerde akut durumdaki akciğer hasarında olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (153, 154). Ayrıca, Meduri ve ark. tarafından 91 ARDS meydana gelen hastada (%66' sı sepsisle) plasebo kontrollü yapılan denemede, hastalara 1 mg/kg/gün dozda metil prednizolon 72 saat içinde başlayarak 28 gün boyunca uygulanmış ve bu uygulamanın önemli derecede sistemik inflamasyonu baskıladığı, akciğerler ve akciğer dışı organların yetersizliklerini iyileştirdiği, mekanik ventilasyon ve yoğun bakımda kalış süresini kısalttığı bildirilmiştir (155).

ARDS gelişen hastaların ilerleyen akut solunum yetmezliği tedavilerinin dayanak noktası entübasyon ve mekanik ventilasyon uygulamalarıdır. Fakat mekanik ventilasyon yöntemlerinin uygulama zorlukları ve imkan kısıtlamaları bulunmaktadır. Bunlara ilaveten akciğerlerin aşırı havalandırılmasına bağlı akciğer doku hasarı, solunum yetmezliği, barotravma gibi istenmeyen durumlara yol açmasıda muhtemeldir ve bunları içeren morbiditeler ile önemli derecede ilişkili bulunmuştur (104, 156).

Yapılan birçok çalışma ile oksidatif stres insan hastalıklarında önemli bir

yer aldığı görüşü yaygınlık kazanmıştır (157-159). Akciğer hastalıklarında artan reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesi, SOD ve CAT gibi antioksidan sistemin enzimleri ile GSH, vitamin C ve vitamin E gibi süpürücülerin seviyelerinde düşüşe neden olduğu bildirilmektedir (160). Ayrıca ARDS' da akciğer hasarını arttıran bir diğer etmenin oksidatif yük olduğu belirtilmiş, antioksidan maddelerin iyileşme sürecinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (99). Tedavi için kullanılan mevcut çoğu farmakolojik ajanlar bu oksidatif süreç üzerine etki göstermemekle birlikte, çoğunun istenmeyen yan etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle antioksidan maddelerin kullanımı ve bunların üzerinde yapılacak çalışmalar önem kazanmıştır. Metabolizmada oluşan oksidatif stresi azaltmak, hem iyileşme süreceni kısaltabilir hem de hasarı en aza indirebilir. Tedavi öncesi, sırasında veya sonrasında oksidatif stres sürecinde antioksidan kullanımı ile alınacak önemli tedbirler canlı metabolizmasında olumlu etki edebileceği gibi aynı zamanda refahının da artmasında yardımcı olabilecektir.

Yakın zamanda alveoler fibrozisi bulunan hastalara antioksidan etkisi bilinen N-asetilsistein yüksek dozda verilmiş ve bu uygulamanın iyileşmede yardımcı olabileceği vurgulanmıştır (161).

Son yıllarda çalışmamıza benzer yapılan çalışmalarda akciğer hastalığı olan insanlarda ve deneysel olarak farklı metotlarla akciğer hasarı oluşturulmuş hayvanlarda, vitamin C, vitamin E ve α-lipoik asit' in faydalı olduğu ortaya konulmuştur (162-164).

Sonuç olarak çalışmamızda; α-lipoik asit, vitamin C, vitamin E ile yüksek ve düşük dozda metil prednizolon uygulanmış, oleik asit ile meydana gelen doku hasarı, sitokin ve oksidan-antioksidan metabolizma üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan bu uygulamaların ARDS modeli üzerine tedavi edici etkileri bulunduğu

tespit edilmiştir. Bu çalışma diğer çalışmalarla kıyaslandığında uygulanan tedavilerin, hemoraji, ödem, hyalinize yapı, vasküler reaksiyonlar ve yangısal hücre infiltrasyonları gibi patolojik parametreler tek tek skorlanarak toplam hasar skoru elde edilmiş ve bu skor ile tedavi yanıtı % olarak belirlenmiştir. Bunlara ilaveten sitokinler ile oksidan-antioksidan mekanizma incelenerek metabolizmanın durumu gösterilmiştir. Bu da diğer çalışmalara göre daha güvenilir sonuçlar elde etmemizi sağlamıştır. Ayrıca antioksidan vitaminler ile kortikosteroidlerin etkileri birbiriyle kıyaslanarak her iki yönden geniş olarak incelenmiştir.

Yine de tüm bu uygulamalar deney hayvanları üzerinde denenmiş olup insan üzerindeki etkilerinin geniş ve çoklu klinik çalışmalar ile ortaya konulması ve bu sonuçlara benzerlik ve farklılıklarının bildirilmesi gerekmektedir.

SONUÇ

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde çalışmamızda yapılan tüm uygulamaların tedavi edici etkisi bulunsa da α-lipoik asit, vitamin C ve vitamin E, meydana getirdikleri yüksek tedavi yanıtları nedeniyle ARDS tedavisi için umut vermektedir. ARDS' nun erken safhasında veya öncesinde ALA, VITC, VITE gibi antioksidan vitaminlerin kullanılması meydana gelecebilecek doku hasarlarının önlenmesinde ve inflamasyon, hücre hasarı, antioksidan metabolizmanın zayıflaması gibi doku hasarına yol açabilecek biyokimyasal değişimleri engelleyerek doku ve hücre savunmasını güçlendirebilir. Ayrıca bu vitaminler hastalık oluşmadan önlemek veya etkilerini hafifletmek amacıyla kullanılabilir.

Çalışmamızda uygulanan maddelerin her biri ayrı uygulanmış ve değerlendirilmiştir. Gelecek çalışmalarda daha çok sayıda örnek içeren gruplarda bu maddeler kombine edilerek kullanılması ile etkilerinin incelenmesinin yararlı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Christiani D, Gong M**.** *Acute Lung Injury*. 2. ed. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2006.
2. Brun-Buisson C, Minelli C, Bertolini G, Brazzi L, Pimentel J, Lewandowski K, et al. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Intensive care medicine. 2004;30(1):51-61.
3. Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, Pedoto A, Vercesi P, Lissoni A**.** Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrapulmonary disease: different syndromes? American journal of respiratory and critical care medicine. 1998;158(1):3-11.
4. Goodman LR, Fumagalli R, Tagliabue P, Tagliabue M, Ferrario M, Gattinoni L, et al. Adult Respiratory Distress Syndrome Due to Pulmonary and Extrapulmonary Causes: CT, Clinical, and Functional Correlations1. Radiology. 1999;213(2):545-52.
5. Ashbaugh D, Boyd Bigelow D, Petty T, Levine B**.** Acute respiratory distress in adults. The Lancet. 1967;290(7511):319-23.
6. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR**.** An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. American Review of Respiratory Disease. 1988;138(3):720-3.
7. Force ADT**.** Acute Respiratory Distress Syndrome. Jama. 2012;307(23):2526-33.
8. Deby-Dupont G, Lamy M**.** *Pathophysiology of acute respiratory distress syndrome and acute lung injury.* Oxford: Oxford University Press; 1999.
9. Tomashefski Jr J**.** Pulmonary pathology of the adult respiratory distress syndrome. Clinics in chest medicine. 1990;11(4):593-619.

10. Ware LB, Matthay MA**.** The acute respiratory distress syndrome. New England Journal of Medicine. 2000;342(18):1334-49.

11. Lim C-M, Kim EK, Lee JS, Shim TS, Do Lee S, Koh Y, et al. Comparison of the response to the prone position between pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome. Intensive care medicine. 2001;27(3):477-85.

12. Villar J, Blanco J, Añón JM, Santos-Bouza A, Blanch L, Ambrós A, et al. The ALIEN study: incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in the era of lung protective ventilation. Intensive care medicine. 2011;37(12):1932-41.

13. Matthay MA, Zemans RL**.** The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. Annual review of pathology. 2011;6:147.

14. Rubenfeld GD, Herridge MS**.** Epidemiology and outcomes of acute lung injury. CHEST Journal. 2007;131(2):554-62.

15. Eisner MD, Thompson T, Hudson LD, Luce JM, Hayden D, Schoenfeld D, et al. Efficacy of low tidal volume ventilation in patients with different clinical risk factors for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. American journal of respiratory and critical care medicine. 2001;164(2):231-6.

16. Doyle RL, Szaflarski N, Modin GW, Wiener-Kronish JP, Matthay MA**.** Identification of patients with acute lung injury. Predictors of mortality. American journal of respiratory and critical care medicine. 1995;152(6):1818-24.

17. Roupie E, Lepage E, Wysocki M, Fagon J-Y, Chastre J, Dreyfuss D, et al. Prevalence, etiologies and outcome of the acute respiratory distress syndrome among hypoxemic ventilated patients. Intensive care medicine. 1999;25(9):920-9.

18. Suchyta M, Clemmer T, Elliott C, Orme J, Weaver L**.** The adult respiratory distress syndrome. A report of survival and modifying factors. CHEST Journal. 1992;101(4):1074-9.

19. Monchi M, Bellenfant F, Cariou A, Joly L-M, Thebert D, Laurent I, et al. Early predictive factors of survival in the acute respiratory distress syndrome: a multivariate analysis. American journal of respiratory and critical care medicine. 1998;158(4):1076-81.

20. Abel S, Finney S, Brett S, Keogh B, Morgan C, Evans T**.** Reduced mortality in association with the acute respiratory distress syndrome (ARDS). Thorax. 1998;53(4):292-4.

21. Gursel G**.** *Gögüs Hastalıkları Acilleri*: Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi; 2000.

22. Bernard GR, Vincent J-L, Laterre P-F, LaRosa SP, Dhainaut J-F, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. New England Journal of Medicine. 2001;344(10):699-709.

23. Amato MBP, Barbas CSV, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. New England Journal of Medicine. 1998;338(6):347-54.

24. De Campos T**.** Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. N Engl J Med. 2000;342(18):1302-130g.

25. Tremblay LN, Slutsky AS**.** Pathogenesis of ventilator-induced lung injury: trials and tribulations. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2005;288(4):L596-L8.

26. Nakos G, Tsangaris I, Kostanti E, Nathanail C, Lachana A, Koulouras V, et al. Effect of the prone position on patients with hydrostatic pulmonary edema compared with patients with acute respiratory distress syndrome and pulmonary fibrosis. American journal of respiratory and critical care medicine. 2000;161(2):360-8.

27. Guerin C, Badet M, Rosselli S, Heyer L, Sab J-M, Langevin B, et al. Effects of prone position on alveolar recruitment and oxygenation in acute lung injury. Intensive care medicine. 1999;25(11):1222-30.

28. Schuster D**.** The case for and against fluid restriction and occlusion pressure reduction in adult respiratory distress syndrome. New horizons (Baltimore, Md.). 1993;1(4):478.

29. Bone RC**.** Treatment of adult respiratory distress syndrome with diuretics, dialysis, and positive end-expiratory pressure. Critical care medicine. 1978;6(3):136-9.

30. Artigas A, Bihari D, Burchardi H, Gajdos P, Hemmer M, Langer M, et al. Tissue hypoxia: How to detect, how to correct, how to prevent. Journal of Critical Care. 1997;12(1):39-47.

31. Cerra FB, Benitez MR, Blackburn GL, Irwin RS, Jeejeebhoy K, Katz DP, et al. Applied nutrition in ICU patients A consensus statement of the American college of chest physicians. CHEST Journal. 1997;111(3):769-78.

32. Heys SD, Walker LG, Smith I, Eremin O**.** Enteral nutritional supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Annals of surgery. 1999;229(4):467.

33. Al-Saady N, Blackmore C, Bennett E**.** High fat, low carbohydrate, enteral feeding lowers PaCO2 and reduces the period of ventilation in artificially

ventilated patients. Intensive care medicine. 1989;15(5):290-5.

34. Pacht ER, DeMichele SJ, Nelson JL, Hart J, Wennberg AK, Gadek JE**.** Enteral nutrition with eicosapentaenoic acid,[gamma]-linolenic acid, and antioxidants reduces alveolar inflammatory mediators and protein influx in patients with acute respiratory distress syndrome. Critical care medicine. 2003;31(2):491-500.

35. Meduri GU, Headley AS, Golden E, Carson SJ, Umberger RA, Kelso T, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome. JAMA: the journal of the American Medical Association. 1998;280(2):159-65.

36. Meduri GU, Chinn AJ, Leeper KV, Wunderink RG, Tolley E, Winer-Muram HT, et al. Corticosteroid rescue treatment of progressive fibroproliferation in late ARDS. Patterns of response and predictors of outcome. CHEST Journal. 1994;105(5):1516-27.

37. Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Criner GJ, et al. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Critical care medicine. 1998;26(1):15-23.

38. Bernard G, Lucht W, Niedermeyer M, Snapper J, Ogletree M, Brigham K**.** Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function. Journal of Clinical Investigation. 1984;73(6):1772.

39. Brower RG, Ware LB, Berthiaume Y, Matthay MA**.** Treatment of ARDS. CHEST Journal. 2001;120(4):1347-67.

40. Spies Cd Fau - Reinhart K, Reinhart K Fau - Witt I, Witt I Fau - Meier-Hellmann A, Meier-Hellmann A Fau - Hannemann L, Hannemann L Fau -

Bredle DL, Bredle Dl Fau - Schaffartzik W, et al. Influence of N-acetylcysteine on indirect indicators of tissue oxygenation in septic shock patients: results from a prospective, randomized, double-blind study. Critical Care Medicine. 1994;22:1738-46.

41. Hudson LD, Steinberg KP**.** Epidemiology of acute lung injury and ARDS. Chest Journal. 1999;116(suppl_1):74S-82S.

42. Lewis JF, Jobe AH**.** Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. American Review of Respiratory Disease. 1993;147(1):218-33.

43. Anzueto A, Baughman RP, Guntupalli KK, Weg JG, Wiedemann HP, Raventós AA, et al. Aerosolized surfactant in adults with sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. New England Journal of Medicine. 1996;334(22):1417-22.

44. Ogura H, Cioffi WG, Offner PJ, Jordan BS, Johnson AA**.** Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary function after sepsis in a swine model. DTIC Document; 1994.

45. Nick JA, Coldren CD, Geraci MW, Poch KR, Fouty BW, O'Brien J, et al. Recombinant human activated protein C reduces human endotoxin-induced pulmonary inflammation via inhibition of neutrophil chemotaxis. Blood. 2004;104(13):3878-85.

46. Liu KD, Levitt J, Zhuo H, Kallet RH, Brady S, Steingrub J, et al. Randomized clinical trial of activated protein C for the treatment of acute lung injury. American journal of respiratory and critical care medicine. 2008;178(6):618-23.

47. Schuster DP**.** ARDS: clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury. American journal of respiratory and critical care medicine. 1994;149(1):245-60.

48. Syrbu S, Thrall RS, Smilowitz HM**.** Sequential appearance of inflammatory

mediators in rat bronchoalveolar lavage fluid after oleic acid-induced lung injury. Experimental lung research. 1996;22(1):33-49.

49. Koksel O, Cinel I, Tamer L, Cinel L, Ozdulger A, Oral U**.** N-acetylcysteine inhibits peroxynitrite-mediated damage in oleic acid-induced lung injury. Critical Care. 2004;8(Suppl 1):P204.

50. Yang C, Moriuchi H, Takase J, Ishitsuka Y, Irikura M, Irie T**.** Oxidative stress in early stage of acute lung injury induced with oleic acid in guinea pigs. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2003;26(4):424-8.

51. Weiner RE, Sasso DE, Gionfriddo MA, Thrall RS, Syrbu S, Smilowitz HM, et al. Early detection of oleic acid-induced lung injury in rats using 111in-labeled anti-rat intercellular adhesion molecule-1. Journal of Nuclear Medicine. 2001;42(7):1109-15.

52. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S**.** Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. CHEST Journal. 2002;122(6_suppl):314S-20S.

53. Beckman JS, Koppenol WH**.** Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 1996;271(5):C1424-C37.

54. Butler AR, Flitney FW, Williams DLH**.** NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. Trends in pharmacological sciences. 1995;16(1):18-22.

55. Liu H, Zhang D, Zhao B, Zhao J**.** Superoxide anion, the main species of ROS in the development of ARDS induced by oleic acid. Free radical research. 2004;38(12):1281-7.

56. Odabasoglu F**.** Antioksidan Vitaminler. Konferans. Erzurum: Atatürk Üniersitesi Eczacılık Fakültesi 1999.

57. Akkus I**.** *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Konya: Mimoza Yayınları; 1995.

58. Johnston CS, Steinberg FM, Rucker RB**.** Handbook of vitamins: Ascorbic acid. Encyclopedia of Biology and Chemistry. 2007;4:367-71.

59. Naidu KA**.** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. Nutrition Journal. 2003;2(1):1-10.

60. Malo C, Wilson J**.** Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. The Journal of nutrition. 2000;130(1):63-9.

61. Hughes DA**.** Dietary antioxidants and human immune function. Nutrition Bulletin. 2000;25(1):35-41.

62. McCorkle F, Taylor R, Stinson R, Day EJ, B. G**.** The effects of a mega level of vitamin C on the immune response of the chicken. Poultry Science. 1980;59:1324-9.

63. Wu C, Dorairajan T, Lin T**.** Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2000;74(1):145-52.

64. Pardue SL, Thaxton JP, Brake J**.** Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. Journal of Applied Physiology. 1985;58(5):1511-6.

65. Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, Banerjee RK**.** Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. Free radical biology and medicine. 2006;40(8):1397-408.

66. Halliwell B, Gutteridge J**.** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochemical Journal. 1984;219(1):1.

67. İmik H, Fidancı UR, T. S**.** Ankara Keçisi Oğlaklarında C Ve E Vitaminlerinin Metabolik Strese Karşı Etkisi. Eurosian Journal of Veterinary Science. 1999;15(1):47-53.

68. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G**.** Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. Clinical Chemistry. 1991;37(11):1932-7.

69. Freeman BA, Crapo JD**.** Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 1982;47(5):412-26.

70. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y**.** Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. Archives of pharmacal research. 2007;30(11):1426-34.

71. Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, et al. Binding Of Xanthine Oxidase To Vascular Endothelium Kinetic Characterization And Oxidative Impairment Of Nitric Oxide-Dependent Signaling. Journal of Biological Chemistry. 1999;274(8):4985-94.

72. Doctor RB, Mandel LJ**.** Minimal role of xanthine oxidase and oxygen free radicals in rat renal tubular reoxygenation injury. Journal of the American Society of Nephrology. 1991;1(7):959-69.

73. Ku H-H, Brunk UT, Sohal RS**.** Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. Free Radical Biology and Medicine. 1993;15(6):621-7.

74. Jana A, Agarwal S, Chatterjee S**.** Membrane lipid peroxidation by ultrasound: mechanism and implications. Journal of biosciences. 1990;15(3):211-5.

75. Li J-M, Shah AM**.** ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology. 2003;14(suppl 3):S221-S6.

76. Davies K, Goldberg A**.** Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. Journal of Biological Chemistry. 1987;262(17):8220-6.

77. Goulart M, Batoreu M, Rodrigues A, Laires A, Rueff J**.** Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. Mutagenesis. 2005;20(5):311-5.

78. Halliwell B, Chirico S**.** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. The American journal of clinical nutrition. 1993;57(5):715S-24S.

79. Marnett LJ**.** Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 1999;424(1):83-95.

80. Long CA, Bielski BH**.** Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species. The Journal of Physical Chemistry. 1980;84(5):555-7.

81. Simpson J, Narita S, Gieseg S, Gebicki S, Gebicki J, Dean R**.** Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. Biochem. J. 1992;282:621-4.

82. Coombes JS, Rowell B, Dodd SL, Demirel HA, Naito H, Shanely AR, et al. Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. European Journal of Applied Physiology. 2002;87(3):272-7.

83. Packer L, Kraemer K, Rimbach G**.** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. Nutrition. 2001;17(10):888-95.

84. Busse E, Zimmer G, Schopohl B, Kornhuber B**.** Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. Arzneimittel-Forschung. 1992;42(6):829.

85. Louhelainen M, Merasto S, Finckenberg P, Lapatto R, Cheng ZJ, Mervaala EM**.** Lipoic acid supplementation prevents cyclosporine-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. Journal of hypertension. 2006;24(5):947-56.

86. Scholich H Fau - Murphy ME, Murphy Me Fau - Sies H, Sies H**.** Antioxidant activity of dihydrolipoate against microsomal lipid peroxidation and its dependence on alpha-tocopherol. Biochimica et Biophysica Acta. 1989;1001:256-61.

87. Kagan V, Serbinova E, Packer L**.** Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling. Biochemical and biophysical research communications. 1990;169(3):851-7.

88. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A**.** The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. General Pharmacology: The Vascular System. 1997;29(3):315-31.

89. Halici M, Kufrevioglu OI, Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Aslan A**.** The Ethanol–Water Extract Of Ramalina Capitata Has Gastroprotective And Antioxidative Properties: An Experimental Study In Rats With Indomethacin‐Induced Gastric Injuries. Journal of Food Biochemistry. 2011;35(1):11-26.

90. Fang Y-Z, Yang S, Wu G**.** Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 2002;18(10):872-9.

91. Ozer A, Ozer S**.** Ratlarda Sevofluranın Oluşturduğu Histopatolojik Değişimlere Likopenin Etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2007;21(3):103-8.

92. Seydanoglu A, Gul M, Erdem S, Baser C, Ayan M, Toy H, et al. Deneysel

Sepsis Modelinde Oksidan-Antioksidan Sistem ve Akciğer Histopatolojisi Üzerine Oktreotid'in Doza Bağımlı Etkileri. Selçuk Üniv. Tıp Derg. 2010;26(3):90-4.

93. Aebi H. Catalase in vitro. In: Lester P, ed. Methods in Enzymology: Academic Press; 1984:121-6.

94. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clinical Chemistry. 1988;34(3):497-500.

95. Sedlak JF, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Analytical Biochemistry. 1968;25(0003-2697 (Print)):192-205.

96. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 1979;95(2):351-8.

97. SPSS. Statistical Packages for the Social Sciences. 20 ed. Chicago: IBM Inc.; 2011.

98. Cepkova M, Matthay MA. Pharmacotherapy of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. Journal of intensive care medicine. 2006;21(3):119-43.

99. Altintas ND, İskit AT. Akut solunum sıkıntısı sendromu tanısı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. Tüberküloz ve Toraks Dergisi. 2009;57(2):228-36.

100. YARKIN T. Akut Solunum Yetmezliğinde Kortikosteroid Tedavi. Turkish Journal of Intensive Care Medicine. 2004;4(1):13-24.

101. Kunter E, Işıtmangil T. Akut solunum sıkıntısı sendromu. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2010;18(3):238-46.

102. Wong WP. Acute respiratory distress syndrome: pathophysiology, current management and implications for physiotherapy. Physiotherapy.

1998;84(9):439-50.

103. Cummings RJ, Parinandi NL, Zaiman A, Wang L, Usatyuk PV, Garcia JG, et al. Phospholipase D activation by sphingosine 1-phosphate regulates interleukin-8 secretion in human bronchial epithelial cells. Journal of Biological Chemistry. 2002;277(33):30227-35.

104. Pierrakos C, Karanikolas M, Scolletta S, Karamouzos V, Velissaris D**.** Acute respiratory distress syndrome: pathophysiology and therapeutic options. Journal of clinical medicine research. 2012;4(1):7.

105. McGuigan C, Mullenix C, Norlund M, Ward M, Walts M, Azarow L**.** Acute lung injury using oleic acid in the laboratory rat: establishment of a working model and evidence against free radicals in the acute phase. Current surgery. 2003;60(4):412-7.

106. Van Helden H, Kuijpers W, Langerwerf P, Langen R, Haagsman H, Bruijnzeel P**.** Efficacy of Curosurf in a rat model of acute respiratory distress syndrome. European Respiratory Journal. 1998;12(3):533-9.

107. Brackenbury AM, Puligandla PS, McCAIG LA, Nikore V, Yao L-J, Veldhuizen RA, et al. Evaluation of exogenous surfactant in HCL-induced lung injury. American journal of respiratory and critical care medicine. 2001;163(5):1135-42.

108. Germann P-G, Häfner D**.** A rat model of acute respiratory distress syndrome (ARDS): Part 1. Time dependency of histological and pathological changes. Journal of pharmacological and toxicological methods. 1998;40(2):101-7.

109. Nieman GF, Gatto LA, Paskanik AM, Yang B, Fluck R, Picone A**.** Surfactant replacement in the treatment of sepsis-induced adult respiratory distress syndrome in pigs. Critical care medicine. 1996;24(6):1025-33.

110. Villar J, Ribeiro SP, Mullen JBM, Kuliszewski M, Post M, Slutsky AS, et al. Induction of the heat shock response reduces mortality rate and organ damage in a sepsis-induced acute lung injury model. Critical care medicine. 1994;22(6):917-21.

111. Moore BB, Hogaboam CM**.** Murine models of pulmonary fibrosis. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2008;294(2):L152-L60.

112. Sakuma T, Takahashi K, Ohya N, Kajikawa O, Martin TR, Albertine KH, et al. Ischemia-reperfusion lung injury in rabbits: mechanisms of injury and protection. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 1999;276(1):L137-L45.

113. Dickey B, Thrall R, McCormick J, Ward P**.** Oleic-acid-induced lung injury in the rat. Failure of indomethacin treatment or complement depletion to ablate lung injury. The American journal of pathology. 1981;103(3):376.

114. Golbidi S, Moriuchi H, Yang C, Irikura M, Irie T, Hamasaki N**.** Preventive effect of phosphoenolpyruvate on hypoxemia induced by oleic acid in guinea pigs. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2003;26(3):336-40.

115. Davidson KG, Bersten AD, Barr HA, Dowling KD, Nicholas TE, Doyle IR**.** Lung function, permeability, and surfactant composition in oleic acid-induced acute lung injury in rats. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2000;279(6):L1091-L102.

116. Syrbu S, Thrall RS, Wisniecki P, Lifchez S, Smilowitz HM**.** Increased immunoreactive rat lung ICAM-1 in oleic acid-induced lung injury. Experimental lung research. 1995;21(4):599-616.

117. Balci AE, Şehitoğullari A, Şevval E, Büyükbayram H, Nesimi E**.** Oleik Asit İle

Oluşturulan Akut Respiratuar Distres Sendromunun Tedavisinde Metilprednizolun Etkinliği. Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences. 2003;23(1):23.

118. Neumann P, Berglund JE, Andersson LG, Maripu E, Magnusson A, Hedenstierna Gr**.** Effects of Inverse Ratio Ventilation and Positive End-Expiratory Pressure in Oleic Acid–Induced Lung Injury. American journal of respiratory and critical care medicine. 2000;161(5):1537-45.

119. Zhou Z-H, Sun B, Lin K, Zhu L-W**.** Prevention of rabbit acute lung injury by surfactant, inhaled nitric oxide, and pressure support ventilation. American journal of respiratory and critical care medicine. 2000;161(2):581-8.

120. Motohiro A, Furukawa T, Yasumoto K, Inokuchi K**.** Mechanisms involved in acute lung edema induced in dogs by oleic acid. European surgical research. 1986;18(1):50-7.

121. Vadász I, Morty RE, Kohstall MG, Olschewski A, Grimminger F, Seeger W, et al. Oleic acid inhibits alveolar fluid reabsorption: a role in acute respiratory distress syndrome? American journal of respiratory and critical care medicine. 2005;171(5):469-79.

122. Gumieniczek A, Hopkała H, Wójtowicz Z, Wysocka M**.** Changes in antioxidant status of lung tissue in experimental diabetes in rabbits. Clinical biochemistry. 2002;35(2):147-9.

123. Slater TF**.** Free radical mechanisms in tissue injury. Cell Function and Disease: Springer; 1989:209-18.

124. Gutteridge J, Halliwell B**.** The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends in biochemical sciences. 1990;15(4):129-35.

125. Halliwell B**.** Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. The American Journal of Medicine. 1991;91(3, Supplement 3):S14-S22.

126. Al-Hashem FH**.** Potential roles for vitamins E and C in combination in modulating exhaustive swimming and high altitude-associated lung injury in rats. Saudi Med J. 2012;33(4):367-74.

127. Zaghloul MS, Nader MA, El-Kashef H, Gamiel NM**.** Oxidants and Antioxidants in Medical Science. Oxid Antioxid Med Sci. 2013;2(3):175-80.

128. Cai X, Chen X, Wang X, Xu C, Guo Q, Zhu L, et al. Pre-protective effect of lipoic acid on injury induced by H2O2 in IPEC-J2 cells. Molecular and cellular biochemistry. 2013;378(1-2):73-81.

129. Singh D, Ram TC, Srivastava AK, Roy BK**.** Free Radicals, Antioxidants And Culinary Spices: In Human Health And Disease Response. International Journal of Botany and Research. 2013;3(3):1-14.

130. van Haaften RI, Haenen GR, Evelo CT, Bast A**.** Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes. Drug metabolism reviews. 2003;35(2-3):215-53.

131. Fox PF, McSweeney PL**.** *Dairy chemistry and biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional; 1998.

132. Wang C, Wang H-y, Liu Z-w, Fu Y, Zhao B**.** Effect of endogenous hydrogen sulfide on oxidative stress in oleic acid-induced acute lung injury in rats. Chinese Medical Journal-Beijing. 2011;124(21):3476-80.

133. Tian W, Wang T, Sun WP, Deng XH, Xue Q, Li TS, et al. The impact of sodium aescinate on acute lung injury induced by oleic acid in rats. Experimental Lung Research. 2011;37(10):585-99.

134. Wang C, Huang Q, Wang C, Zhu X, Duan Y, Yuan S, et al. Hydroxysafflor yellow A suppress oleic acid-induced acute lung injury via protein kinase A. Toxicology and Applied Pharmacology. 2013;272(3):895-904.

135. Korkmaz M, Erden İA, Şennur U, Akinci SB, Erden G, Karabulut İ, et al. Sıçanlarda Koenzim Q10'un Oleik Asitle Oluşturulan Akut Akciğer Hasarına Etkisi. Turkiye Klinikleri Journal of Anesthesiology Reanimation. 2013;11(1):1-10.

136. Bulmus FG, Gürsu MF, Muz MH, Yaman İ, Bulmuş Ö, Sakin F**.** Protective Effects of Alpha-Lipoic Acid on Oleic Acid-Induced Acute Lung Injury in Rats. Balkan Medical Journal. 2013;30:309-14.

137. Gokce M, Saydam O, Hanci V, Can M, Bahadir B**.** Antioxidant vitamins C, E and coenzyme Q10 vs Dexamethasone: comparisons of their effects in pulmonary contusion model. Journal of cardiothoracic surgery. 2012;7(1):92.

138. Yeginsu A, Ergin M, Ozyurt H, Elmas C, Akbas A, Goktas GC, et al. The effects of methylprednisolone on the lung injury resulted from extremity ischemia reperfusion. Turkish J Thorac Cardiovasc Surg. 2010;18(1):45-51.

139. Beytut E, Erişir M, Aksakal M**.** Effects of additional vitamin E and selenium supply on antioxidative defence mechanisms in the kidney of rats treated with high doses of glucocorticoid. Cell biochemistry and function. 2004;22(1):59-65.

140. Salman AE, Yetişir F, Kılıç M, Önal Ö, Dostbil A, Zeybek D, et al. The impact of pretreatment with bolus dose of enteral glutamine on acute lung injury induced by oleic acid in rats. Journal of Anesthesia. 2013:1-9.

141. De Nardin E**.** The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease. Annals of periodontology. 2001;6(1):30-40.

142. Dayer JM**.** The pivotal role of interleukin-1 in the clinical manifestations of rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford, England). 2003;42 Suppl 2:ii3-10.

143. Liu A, Ling F, Li Z, Li X, Liu Y, DU J, et al. Effect of oleic acid-induced acute lung injury and conventional mechanical ventilation on renal function in piglets. Chinese medical journal. 2013;126(13):2530-5.

144. Hoshino T, Okamoto M, Sakazaki Y, Kato S, Young HA, Aizawa H**.** Role of Proinflammatory Cytokines IL-18 and IL-1β in Bleomycin-Induced Lung Injury in Humans and Mice. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2009;41(6):661-70.

145. Amirshahrokhi K, Bohlooli S**.** Effect of Methylsulfonylmethane on Paraquat-Induced Acute Lung and Liver Injury in Mice. Inflammation. 2013;36(5):1111-21.

146. Koksel O, Ozdulger A, Ercil M, Tamer L, Ercan B, Atik U, et al. Effects of N-acetylcysteine on oxidant-antioxidant balance in oleic acid-induced lung injury. Experimental lung research. 2004;30(6):431-46.

147. Zaghloul MS, Nader MA, El-Kashef H, Gamiel NM**.** Beneficial effect of lipoic acid on nicotine-induced vascular endothelial damage in rabbits. Oxidants and Antioxidants in Medical Science. 2013;2(3):175-80.

148. Berkan Ö, Güneç F, Katrancioğlu N, Günay İ, Doğan K, Yildiz E**.** İskemi ve Reperfüzyona Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Akciğer Hasarını Önlemede Pentoksifilin, Karnitin ve Askorbik Asidin Etkileri. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2002;10(2):92-5.

149. Niu Y, Herrera EA, Evans RD, Giussani DA**.** Antioxidant treatment improves neonatal survival and prevents impaired cardiac function at adulthood following neonatal glucocorticoid therapy. The Journal of physiology. 2013;591(20):5083-

93.

150. Yeginsu A, Ergin M, Özyurt H, Elmas Ç, Akbaş A, Göktaş GÇ, et al. Ekstremite iskemi reperfüzyonuna bağlı akciğer hasarında metilprednizolonun etkileri. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2010;18(1):045-51.

151. Chen HI, Hsieh N-K, Kao SJ, Su C-F**.** Protective effects of propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats*. Critical care medicine. 2008;36(4):1214-21.

152. Kang H-S, Park H-M, Go H-K, Kim S-J, Kim J-S, Kim S-J, et al. Effect of antioxidant in an acute lung injury animal model. Korean Journal of Chemical Engineering. 2012;29(11):1591-6.

153. Rochan R, Rice C, Carrico C**.** *Acute respiratory distress syndrome*. 4 ed. Malvern PA: Williams&Wilkins; 2000.

154. Ustun E**.** *Yetişkinin Sıkıntılı Solunum Sendromu (ARDS)*. Ankara: Türkiye Klinikleri; 1992.

155. Meduri GU, Golden E, Freire AX, Taylor E, Zaman M, Carson SJ, et al. Methylprednisolone Infusion in Early Severe ARDSResults of a Randomized Controlled Trial. CHEST Journal. 2007;131(4):954-63.

156. Agarwal R, Aggarwal AN, Gupta D**.** Role of noninvasive ventilation in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: a proportion meta-analysis. Respiratory care. 2010;55(12):1653-60.

157. Halliwell B**.** Antioxidants in human health and disease. Annual review of nutrition. 1996;16(1):33-50.

158. Aruoma OI**.** Free radicals, antioxidants and international nutrition. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 1999;8:53-63.

159. Aruoma OI**.** Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and

disease. Journal of the American Oil Chemists' Society. 1998;75(2):199-212.

160. Ciencewicki J, Trivedi S, Kleeberger SR**.** Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008;122(3):456-68.

161. Behr J, Maier K, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C**.** Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis: adjunctive therapy to maintenance immunosuppression. American journal of respiratory and critical care medicine. 1997;156(6):1897-901.

162. Fisher BJ, Seropian IM, Kraskauskas D, Thakkar JN, Voelkel NF, Natarajan R**.** Ascorbic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury*. Critical care medicine. 2011;39(6):1454-60.

163. Schäffer MW, Roy SS, Mukherjee S, Das SK**.** Vitamin A, Vitamin E, Lutein and β-Carotene in Lung Tissues from Subjects with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Emphysema. Open Journal of Respiratory Diseases. 2013;3:44-51.

164. Chou T-C**.** The Protective Effect of Alpha-Lipoic Acid in Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury Is Mediated by Heme Oxygenase-1. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013:1-12.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN AKUT RESPİRATUAR DİSTRES SENDROMUNDA KORTİKOSTEROİDLER VE ANTİOKSİDANLARIN TEDAVİ YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Nazlı EROL

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 24.06.2009

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 14.10.2013

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 17.03.2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Leyla SAĞLAM

Jüri üyesi : Prof. Dr. Leyla SAĞLAM

Jüri üyesi : Prof. Dr. Hasan KAYNAR

Jüri üyesi : Prof. Dr. Mehmet MERAL

Jüri üyesi : Prof. Dr. Metin AKGÜN

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ömer ARAZ

Prof. Dr. Leyla SAĞLAM
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

MART-2014
ERZURUM