

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

OLEİK ASİT İLE OLUŞTURULAN AKUT AKCİĞER HASARI
MODELİNDE LİKOPENİN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Suat TÜRKOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Hamdi MUZ

ELAZIĞ- 2008

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ömer Lütü ERHAN

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. M. Hamdi MUZ

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Hamdi MUZ

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

Oğlum Duhan Anıl' a

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan değerli hocam, Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. M. Hamdi MUZ'a teşekkür ederim.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıştığım süre içerisinde yakın ilgilerini gördüğüm, çalışmalarım esnasında ve eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Figen DEVECİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Teyfik TURGUT'a ve Yrd. Doç. Dr. Gamze KIRKIL'a, tez çalışmalarımda yardımlarıyla hep yanımda olan Prof.Dr. Reşat ÖZERCAN'a, Prof.Dr. Ferit GÜRSU'ya, Prof.Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a, Prof.Dr. Kazım Şahin'e ve ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım, hemşireler ve personellere teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	iv
İçindekiler	v
Tablolar listesi	vii
Şekiller listesi	viii
Kısaltmalar	ix
1. Özet	1
2. Abstract	2
3. Giriş	3
3.1. Akut Akciğer Hasarı /Akut Sıkıntılı Solunum Sendromu	3
3.1.2. Epidemiyoloji	4
3.1.3. Risk Faktörleri	4
3.1.4. Patogenez ve Patoloji	5
3.1.5. Klinik ve Laboratuvar Bulguları	9
3.1.6. Tedavi	10
3.2. Oleik asit	13
3.3. Serbest Oksijen Radikalleri	14
3.3.1. Serbest Radikal Kaynakları	17
3.3.1.1. Biyolojik Kaynaklar	17
3.3.1.2. Hücre İçi Kaynaklar	17
3.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri	18
3.3.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma	19
3.3.4. Serbest Radikallere Bağlı Klinik Durumlar	23
3.4. Likopen	24
3.5. Amaç	27
4. Gereç ve Yöntem	28
4.1. Deney grupları ve uygulama dozları	28
4.2. Biyokimyasal Analizler	29
4.3. Histopatolojik İnceleme	31
4.4. İstatistiksel Analiz	31
5. Bulgular	32
5.1. MDA Düzeyi	33
5.1.1. Serum MDA düzeyi	33

5.1.2. Doku MDA düzeyi	34
5.2. SOD Enzim Aktivitesi Bulguları	35
5.2.1. Serum SOD değerleri	35
5.2.2. Doku SOD değerleri	36
5.3. GSH-Px Enzim Aktivitesi Bulguları	37
5.3.1. Serum GSH-Px değerleri	37
5.3.2. Doku GSH-Px değerleri	38
5.4. Doku CAT Aktivitesi Bulguları	39
5.5. Histopatolojik Bulgular	39
6. Tartışma	44
7- Kaynaklar	50
8- Özgeçmiş	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. ALI ve ARDS için tanı kriterleri	4
Tablo 2. ARDS' nin risk faktörleri	5
Tablo 3. ALI/ARDS' de potansiyel mediyatörler	7
Tablo 4. Akciğer Hasarı Skorlaması	10
Tablo 5. Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar	21
Tablo 6. Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar	22
Tablo 7. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Düşünülen Bazı Klinik Durumlar	23
Tablo 8. Çeşitli Gıdalarda Bulunan Likopen Miktarları	25
Tablo 9. Deney gruplarının ortalama $\pm$ SD değerleri	32
Tablo 10. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar	32

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Likopenin kimyasal yapısı	24
Şekil 2. Deney gruplarına ait serum MDA düzeyleri	33
Şekil 3. Deney gruplarına ait doku MDA düzeyleri	34
Şekil 4. Deney gruplarına ait serum SOD değerleri	35
Şekil 5. Deney gruplarına ait doku SOD değerleri	36
Şekil 6. Deney gruplarına ait serum GSH-Px değerleri	37
Şekil 7. Deney gruplarına ait doku GSH-Px değerleri	38
Şekil 8. Deney gruplarına ait doku CAT değerleri	39
Şekil 9. Kontrol grubunda histopatolojik görüntü(HEx100)	40
Şekil 10. Kontrol grubunda histopatolojik görüntü(HEx200)	40
Şekil 11. OA grubunda histopatolojik görüntü	41
Şekil 12. OA grubunda histopatolojik görüntü	41
Şekil 13. Mısır yağı+ OA grubunda histopatolojik görüntü	42
Şekil 14. Mısır yağı+ OA grubunda histopatolojik görüntü	42
Şekil 15. Likopen+ OA grubunda histopatolojik görüntü	43
Şekil 16. Likopen+ OA grubunda histopatolojik görüntü	43

KISALTMALAR

ALI	Akut akciğer hasarı
ARDS	Akut solunum sıkıntısı sendromu
OA	Oleik asit
MDA	Malondialdehit
SOD	Süperoksit dismutaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
CAT	Katalaz
SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
PAF	Platelet aktive faktör
IL	İnterlökin
TNF	Tümör nekrozis faktör
G-CSF	Granulosit koloni stimulan faktör
Fe-NTA	Ferriknitritotriasetat
BAL	Bronkoalveolar lavaj
PEEP	Pozitif expiryum sonu basınç
NAC	N-asetilsistein
CAPE	Kafeik asit fenil ester
ROS	Reaktif oksijen türleri
NO₂	Nitrik dioksit
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
TBA	Tiyobarbutirik asit
NBT	Nitroblue tetrazolium
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrogenaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
OH[·]	Hidroksil radikali
O₂^{·-}	Süperoksit radikali

1. ÖZET

Bu çalışma, deneysel olarak oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarında oksidan-antioksidan sistemlerdeki değişiklikler ile antioksidan özelliği bilinen likopen uygulanmasının bu sistemler üzerine etkileri ve akciğer hasarı oluşumunda koruyucu etkisinin araştırılması amacı ile yapılmıştır.

Çalışmaya 28 adet Wistar cinsi dişi rat (140-160 g) alındı. Kontrol grubuna (n=7) standart rat yemi verildi ve serum fizyolojik+ etanol (9:1) infüzyonu uygulandı. Oleik asit (OA) grubuna (n=7), OA (100 mg/kg) tek doz intravenöz olarak uygulandı. Mısır yağı+OA grubuna (n=7), 5 hafta mısır yağı (1 ml/gün) gavajla verildi ve 5. haftanın sonunda OA (100 mg/kg) uygulandı. Likopen+OA grubuna (n=7), 5 hafta likopen (20 mg/kg/gün) mısır yağı içinde gavajla verildi ve 5. haftanın sonunda OA (100 mg/kg) uygulandı. OA verildikten 4 saat sonra kan ve akciğer doku örnekleri alındı. Serum ve doku malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve doku katalaz (CAT) enzim aktivite düzeyleri ölçüldü.

Kontrole göre OA ile mısır yağı+OA gruplarında artmış olan serum ve akciğer doku MDA düzeyi, likopen+OA grubunda kontrol değeri düzeyinde idi ($p<0.05$). Serum ve doku SOD ve GSH-Px enzim aktivitesi ile doku katalaz aktivitesinde OA ve mısır yağı+OA gruplarında kontrole yakın değerler veya hafif artışlar görülürken, likopen+OA grubunda diğer gruplara göre belirgin artış mevcuttu ($p<0.05$). Histopatolojik olarak OA ve mısır yağı+OA gruplarında akciğer hasarı oluşurken, likopen+OA grubunda daha az akciğer hasarı vardı.

Sonuç olarak, akut akciğer hasarında likopenin oksidan-antioksidan sistemlerdeki dengeyi antioksidanlar lehine artırması nedeni ile diyetle likopen alımının artırılması akciğer hasarını önlemede faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Akut akciğer hasarı, likopen, antioksidan, oleik asit

2. ABSTRACT

Effects of Lycopene on the model of oleic acid-induced acute lung injury

This study was performed to investigate the changes in oxidant-antioxidant system, and the protective effect of lycopene, that it is known as an antioxidant in the oleic acid induced lung injury rat model.

Twenty eight female wistar rats (140-160 g) were enrolled into the study. Animals of control group (n=7) were fed in standard rat chow and applied SF+ethanol (9:1). A single dose of 100 mg/kg OA intravenously was administered to OA group (n=7). At the end of the 5th week, OA was administered. One ml of corn oil was given daily to corn oil+OA group (n=7) by gavage for five weeks. Lycopene in the corn oil was given by gavage to lycopene+OA group (n=7) for five weeks. Then at the end of the 5th weeks, OA were given to them. Four hour after OA administration, lung tissue and blood samples were taken from rats. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione-peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) levels were determined in blood and tissue samples.

Compared with control group, MDA levels of serum and lung tissues were increased in OA and corn oil+OA groups where as decreased to controls levels in lycopene+OA group ($p<0,05$). SOD and GSH-Px activities of serum and tissue increased moderately or they were closed with control values. There was significant increase in group lycopene+OA values. Histopathology lung injury in OA and corn oil+OA group were evident, in lycopene+OA group the injury was less than OA, corn oil+OA groups.

In conclusion, lycopene may increase oxidant-antioxidant balance to favour of antioxidants, so that addition of lycopene to diet may be useful for protecting lung injury.

Key words: Acute lung injury, lycopene, antioxidant, oleic acid

3. GİRİŞ

3.1. AKUT AKCİĞER HASARI/AKUT SIKINTILI SOLUNUM SENDROMU

Akut akciğer hasarı (ALI) ve Akut Sıkıntılı Solunum Sendromu (ARDS); akut başlangıçlı, oksijen tedavisine dirençli hipoksemi, düşük akciğer kompliansı, akciğer mikrovasküler permeabilitesinde artma, diffüz alveolar hasar ve alveolar ödem ile karakterize bir sendromdur (1,2).

1967’de Ashbaugh ve arkadaşları yoğun bakım ünitelerinde solunum yetmezliği nedeni ile takip ettikleri 272 hasta arasında fizyolojik, patolojik ve röntgen bulgularıyla ortak özellik gösteren 12 hasta tespit etmişlerdir. Bu özellikler, hızla gelişen solunum yetmezliği, dispne, takipne, hipoksemi, bilateral diffüz infiltrasyonlar, pulmoner kompliansta düşme şeklinde tanımlanarak “Adult Respiratory Distress Syndrome” diye adlandırılmıştır (3). Erişkinin Solunum Sıkıntısı Sendromu için değişik araştırmacılar tarafından “travmatik ıslak akciğer”, “şok akciğeri”, “sızıntılı pulmoner ödem”, “nonkardiojenik akciğer ödemi”, “konjestif ateletazi”, “Da Nang akciğeri”, “progresiv respiratuar distress”, “pompa akciğeri” gibi değişik isimler kullanılmıştır (4,5).

1994 yılında Kuzey Amerika-Avrupa Konsensus Konferansı’nda erişkin yerine akut tanımı konularak ARDS ve ALI için tanı kriterleri belirlenmiş ve ARDS, ALI’nin en ağır formu olarak kabul edilmiştir (6).

3.1.1. Tanım:

ALI; sol atrial veya pulmoner kapiller hipertansiyon ile açıklanamayan fakat bunlarla birlikte olabilen klinik, radyolojik ve fizyolojik bozukluklara yol açan yaygın akciğer inflamasyonu ve permeabilite artışı ile seyreden sendrom olarak tanımlanır (6).

Bu sendrom çocuklarda da oluştuğundan Amerikan ve Avrupa ARDS ortak komite konferansında adult respiratuar distress sendromu yerine akut respiratuar distress sendromu olarak tanımlanmış, ARDS ve ALI için tanı kriterleri kabul edilmiştir (Tablo 1) (6).

Tablo 1. ALI ve ARDS için tanı kriterleri

	Zaman	Oksijenizasyon	Göğüs grafisi	Pulmoner arter wedge basıncı
ALI	Akut başlangıç	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300 \text{ mmHg}$ (PEEP düzeyi ne olursa olsun)	Bilateral infiltrasyonlar	$\leq 18 \text{ mmHg}$ ölçülmesi veya sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları olmaması
ARDS	Akut başlangıç	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200 \text{ mmHg}$ (PEEP düzeyi ne olursa olsun)	Bilateral infiltrasyonlar	$\leq 18 \text{ mmHg}$ ölçülmesi veya sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları olmaması

ALI: Akut Akciğer hasarı ARDS: Akut sıkıntılı solunum sendromu PEEP: Pozitif ekspiryum sonu basınç PaO_2 : Parsiyel arteriyel oksijen basıncı FiO_2 : Fraksiyone inspire edilen oksijen

3.1.2. Epidemiyoloji

ARDS ve/veya ALI'nin gerçek insidansı bilinmemekle ve ülkelere göre değişiklik göstermekle birlikte İsveç, Danimarka, İzlanda çalışmasında ALI insidansı 17.9 vaka/100000/yıl, ARDS insidansı 13.5 vaka/100000/yıl olarak bildirilmiştir (7,8). Kuzey Amerika'da yapılan çalışmalarda ise ALI insidansı 18.9 vaka/100000/yıl, ARDS insidansı 12.6 vaka/100000/yıl gibi benzer rakamlar bildirilmiştir (9).

3.1.3. Risk Faktörleri

ALI/ARDS ile ilişkili çok çeşitli klinik risk faktörleri bildirilmiş olup, yaptıkları akciğer hasarına göre direkt ve indirekt pulmoner etkilenmeler diye iki gruba ayrılırlar (Tablo 2) (4,5,10,11). Gastrik aspirasyon veya toksik gaz inhalasyonu gibi direkt akciğer hasarı yapan sebepler doğrudan akciğer epitelinde hasara neden olurken, indirekt akciğer hasarı, akciğerde inflamatuvar mediyatörlerin akut olarak inflamatuvar cevabı aktive etmesi nedeniyle oluşur (6,10).

ALI veya ARDS' ye en fazla neden olan risk faktörü sepsistir (% 41.2). Risk faktörlerinden; majör travma (% 25.5) ve gastrik içerik aspirasyonu (% 22) ARDS' ye en sık yol açan diğer nedenlerdir (10,12).

Multiple predispozan faktörlerin bir arada bulunması ARDS riskini artırmaktadır (10). Ayrıca ileri yaş, sigara kullanımı, kronik alkol kullanımı, kronik akciğer hastalıkları ARDS riskini artıran diğer sebeplerdir (10,13).

Tablo 2. ARDS’ nin risk faktörleri

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

3.1.4. Patogenez ve Patoloji

ALI/ARDS’de ortaya çıkan histopatolojik süreç; birbiriyle ilişkili ve birbirinden tam olarak ayırlamayacak eksudatif faz, proliferatif faz ve fibrotik fazdan oluşur (14). Eksudatif veya inflamatuvar evre hasarın başlamasını takiben ilk 24 saat içinde gelişir ve semptomlar geliştikten bir hafta sonra sona erer. Histopatolojik olarak diffüz alveolar hasar tespit edilir. Alveolo-kapiller membrandaki bütünlüğün bozulmasına bağlı olarak proteinden zengin sıvı, nötrofil infiltrasyonu, koagülasyon faktörleri, inflamatuvar mediatörler interstisyuma ve alveoler alana dolar (15). Tip 1 pnömositlerin ölümü ve apoptozisi neticesi alveolün doku bütünlüğü ve sürfaktan

yapımı bozularak hiyalin membran oluşur (16). Alveoller atelektatik ve ödemli, duktus alveolarisler dilatedir. 7-10. günler proliferatif evredir. Bu evrede birikmiş olan eksuda organize olur. Tip 2 pnömositlerde proliferasyon, makrofaj ve monosit infiltrasyonu görülür. İntimal proliferasyon ve makrotrombüsler oluşarak vasküler tıkanmalar gözlenir. Alveol duvarında da fibroblast ve myofibroblastlar proliferasyon olarak eksudayı granülasyon dokusuna çevirir ve sonra ortamda kollojen birikmesi ile fibröz doku oluşur. Akciğer hasarının oluşumundan 10 gün sonra fibrotik faz başlar. Bu evrede kollojenöz fibrozis ve bazı olgularda mikrokistik balpeteği oluşur (14,17). Fibrozis ile akciğer mekaniği bozulur. Tüm evrelerde vasküler yapılarda da değişiklikler oluşur ve intimal ödemden, terminal dönemde pulmoner hipertansiyon gelişimine kadar trombotik, fibroproliferatif ve obliteratif değişiklikler görülür.

ALI/ARDS patogeneğinde inflamatuvar yanıtın abartılı olması büyük rol oynar. Bu inflamatuvar yanıt sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (sistemik inflamatuvar response sendromu: SIRS) olarak tanımlanmış olup, multiple organ disfonksiyonu sendromunun pulmoner manifestasyonu ALI/ARDS olarak kabul edilir (11,14).

ALI/ARDS' de oluşan akciğer hasarında inflamatuvar olaylarda olduğu gibi pek çok mekanizmanın aktivasyonu sorumludur. Bu mekanizmalar hücresel elemanlar (nötrofiller, makrofaj/monositler, lenfositler, plateletler) ve humoral elemanların (kompleman sistemi, sitokinler, koagülasyon/fibrinoliz sistemi, kinin sistemi, lipid mediatörler, oksidanlar, proteazlar, nitrik oksit, growth faktörler, nöropeptidler) oluşturduğu sistemlerin aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan mediatör yanıtlardır (5,18).

Primer (direkt) ALI/ARDS'de alveolar epitelde hasar oluşması alveolar makrofajları aktive ederek pulmoner inflamasyonu başlatır. Sekonder (indirekt) ALI/ARDS'de sistemik dolaşıma salınan mediatörlerin rol oynadığı mekanizmalarla akciğer hasarı oluşur (5,18).

Sistemik inflamatuvar yanıt oluşursa proinflamatuvar nitelikteki mediyatörlerin yapımı ve bunların etkilerini kompanse etmek için anti-inflamatuvar sitokinler oluşur (Tablo 3). Bu yanıt kompensatris antiinflamatuvar yanıt sendromu (CARS) olarak tanımlanmıştır (19,20). Benzer klinik risk faktörlerine maruz kalan hastalarda ALI/ARDS oluşup oluşmamasını belirleyen en önemli faktör proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtlar arasındaki dengedir. Sistemik inflamatuvar yanıtın baskın olduğu hastalarda organ hasarı gelişirken, kompensatris yanıtın baskın olduğu

hastalarda hasar gelişmeyecek veya hafif olacak, yalnız enfeksiyöz komplikasyonlar oluşacaktır (20,21). Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtlar arasındaki dengenin hastalarda farklılık göstermesi veya bazı hastalarda oluşmamasının nedeni genetik olabileceğine dair veriler mevcut olmasına rağmen tam olarak neden bilinmemektedir (22).

Tablo 3. ALI/ARDS’ de potansiyel mediyatörler (23,24)

Proinflamatuvar moleküller ve hücreler
Nötrofiller
Doku makrofajları-monositleri
Trombositler
Prostaglandinler, prostosiklin, tromboksan ve lökotrienler
PAF
“Soluble” adhezyon molekülleri
Sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-15, TNF, G-CSF)
Kininler
Endorfinler
Histamin ve serotonin
Proteolitik enzimler
Elastaz ve lizozomal enzimler
Toksik oksijen metabolitleri; Süperoksit, hidroksil radikal, hidrojen peroksit, peroksinitrit
Protein kinaz, tirozin kinaz
Endotoksin ve diğer mikrobiyal toksinler
Kompleman sistem
CD-14
Plazminojen aktivatör inhibitör-1
Monosit kemoatraktan protein-1, protein-2
Koagülasyon kaskad aktivasyonu
Neopterin
Vazoaktif nöropeptidler
Antiinflamatuvar yanıt oluşturan moleküller
IL-1 reseptör antagonist (IL-1ra)
Tip II IL-1 reseptör
IL-4
IL-10
IL-13
Lipopolisakkarid bağlayan protein
Transforming growth factor
Epinefrin
Lökotrien B4 reseptör antagonist
“Soluble” CD-14
“Soluble” TNF-alfa reseptör

ALI/ARDS'li hastalarda erken safhada alınan bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) nötrofil ve nötrofil ürünlerinin arttığı tespit edilmiştir. Nötrofiller serbest radikaller, inflammatuar mediatörler, proteazlar (elastaz, kollojenaz, reaktif oksijen türleri), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) gibi sitokinler salgılayarak endotelial ve epitelial hücre hasarına yol açarlar (5,14,25). Primer ALI/ARDS'de alveolar ve interstisyel makrofajlardan salınan TNF- α , IL-1, IL-8, adhezyon molekülleri (özellikle beta-integrinler) ve kompleman sistemin aktivasyonu nötrofillerin kemotaksisini ve aktivasyonunu stimüle eden faktörlerdir (14,26). Sekonder ALI/ARDS'de endotoksin, nötrofillerin aktivasyonunu ve akciğerde birikimini, diğer proinflammatuar sitokinlerin (özellikle TNF- α , IL-1 β , IL-8) yapımı ve salınımını stimüle eden en önemli faktörlerden birisidir (27,28). Nötrofillerin akciğer hasarındaki rolü önemli olmakla birlikte nötropenik hastalarda da ARDS gelişebilmektedir (14,29).

Sitokinler, inflammatuar hücrelerden ve akciğer epitel hücrelerinden salgılanarak nötrofillerin aktivasyonu, kemotaksisi ve endotel adezyonunu artırır, diğer proinflammatuar yanıtları tetikler ve mikrovasküler permeabilite artışına yol açarlar. TNF- α ve IL-1 erken dönemde salgılanan sitokinlerdir (29,30).

Oksidan aracılı doku hasarı ALI/ARDS patogenezinde önemli bir yere sahiptir. DNA, protein ve lipid oksidasyonuna yol açan serbest radikaller akciğer hasarı oluşumunda rol alırlar. Proteolitik enzimlerin salınımı ile toksik oksijen radikallerinin üretimi doku hasarında rol alan temel faktörlerdendir. Çeşitli inflammatuar stimülasyonlar ile akciğer endotel hücreleri, alveolar hücreler ve havayolu epitel hücreleri, aktive alveolar makrofajlar ile birlikte nitrik oksit süperoksit ve peroksinitrit üretirler. Bunlar sürfaktan protein A gibi önemli proteinleri okside ederler ve fonksiyonlarını inhibisyona uğratırlar. Proteazlar ve oksidanlar alveollere penetrasyon ile parankimal hücre hasarına yol açarak endotel ve epitel selektif permeabilitesinde kayba neden olurlar. ARDS'li hastalarda plazma antioksidan seviyeleri azalmıştır. Serbest oksijen radikalleri ile nötrofil akımının akciğerin total antioksidan kapasitesini tükettiği düşünülmektedir (31,32).

ALI/ARDS'de multiple yollarla hasarın yayılabildiği kompleks bir durum söz konusudur (18,33). Anormal koagülasyon sistemi nedeni ile küçük damarlarda platelet-fibrin trombolizisi ve distal hava yolunda fibrinolizis sık gelişir (33,34).

Ayrıca sürfaktanın anormal üretim, tertip ve fonksiyonu alveolar kollaps ve gaz değişiminde anormalliklere neden olabilir (35).

3.1.5. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Klinik tablo akut başlangıçlı ve ağır hastalık semptomları ile karakterizedir. Altta yatan hastalığa ait bulgularla birlikte akciğer hasarı ve diğer organ yetmezliği bulguları da ortaya çıkabilir. Hastalık genellikle 1-72 saatte ortaya çıkar, nadiren 1 hafta kadar geç olabilir. Klinik tablo yetmezlikte olan organ sayısına ve hastalığın şiddetine göre değişir. Erken bulgu takipnedir ve bunu dispne ve progresif hipoksemi izler. Hastaların çoğu akut solunum zorluğu içinde, ajite ve sıkıntılıdır. Fizik muayenede siyanoz, takipne belirgindir. Oskültasyon normal olabilir veya raller duyulabilir (36).

Laboratuvar bulgularında lökositoz sıklıkla saptanır. BAL'da lökositoz, IL-8, lökotrien C4, polimorfonükleer lökosit kaynaklı elastaz, kollajenaz, fibrin yıkım ürünleri, kompleman faktörleri aktivitesinde artış saptanmıştır. Erken dönem BAL sıvısında prokollajen III peptid düzeyleri pulmoner fibrozis gelişimi için prediktif bulunmuştur (37).

Arteriyel kan gazlarında hipoksemi, erken dönemde hipokapni ve geç dönemde hiperkapni saptanır. Hipokseminin inspire edilen oksijen konsantrasyonunun artırılması ile düzeltilmesi zordur.

Akciğer grafisinde konjestif kalp yetmezliğinin bulguları olmaksızın bilateral diffüz infiltrasyonlar görülür. İnfiltrasyonlar interstisyel, alveoler veya yama tarzında olabilir (36,37).

ALI/ARDS'de bilgisayarlı tomografi bulguları; erken dönemde (ilk hafta) buzlu cam, konsolidasyon ve retiküler görünüm şeklindedir. Sırt üstü yatan bir hastada dorsal (dependent) bölgelerde konsolidasyon, akciğer orta kısımlarda buzlu cam, ventral (nondependent) bölgelerde normal veya normale yakın gölgeler oluşur. Geç dönemde interstisyel ve bronkovasküler gölgelerde genişleme, subplevral büller ve kistler görülür. Uzun süre mekanik ventilatöre maruz kalan nondependent bölgelerde de retiküler ve kistik değişiklikler görülmektedir (37,38).

Pulmoner arter kateterizasyonu ve ekokardiyografi: Kardiyak ödemle ayırıcı tanısında kullanılır. ALI/ARDS'de pulmoner arter wedge basıncı ≤ 18 mmHg iken kardiyogenik ödemde pulmoner arter wedge basıncı ≥ 18 mmHg'dır.

Hastalığın tanımının yapılması, şiddetini ve prognozu değerlendirmek için Murray ve Matthy 1988 yılında Akciğer hasar skorlamasını (Lung Injury Score: LIS) tanımlamışlardır (Tablo 4) (39).

Tablo 4. Akciğer Hasarı Skorlaması

Parametreler	0 puan	1 puan	2 puan	3 puan	4 puan
Radyografi		1	2	3	4
Alveolar konsolidasyon	yok	kadranda	kadranda	kadranda	kadranda
Hipoksemi					
PaO ₂ /FiO ₂	>300	225-299	175-224	100-175	<100
PEEP(cmH₂O)					
(Ventile edilirken)	<5	6-8	9-11	12-14	>15
Kompliyans(ml/cmH₂O)					
(Ventile edilirken)	80	60-79	40-59	20-39	<19
Toplam Puan / 4: 0 puan hasar yok, 0.1-2.5 puan ALI, > 2.5 puan ARDS					

3.1.6. Tedavi

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

Standart destekleyici tedavide predispozan faktörlerin tedavisi, sıvı tedavisi, hemodinamik tedavi ve beslenme ön plana çıkmaktadır. Destek tedavisi mortalite hızının azalmasına katkıda bulunur (40).

Tedavi nonfarmakolojik ve farmakolojik olmak üzere ikiye ayrılır.

I- Nonfarmakolojik Tedavi

Ventilasyon Tedavisi: ALI/ARDS'li hastalarda mekanik ventilasyonun amacı; yeterli oksijenasyonun sağlanması, solunum işinin ve solunum kaslarının oksijen tüketiminin azaltılması, kardiyak outputu bozmadan akciğer ödeminin azaltılması, atelektatik akciğer alanlarının açılması ve havalanmanın sağlanması (recruitment) ve

yeterli PEEP düzeyleri ile bunların ekspiryumda kapanmalarının önlenmesidir (derecruitment) (36,41).

Akciğerleri koruyucu mekanik ventilasyonun mortaliteyi azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalarda hastaların 6-8 ml/kg tidal volümle, yüksek PEEP düzeyleri (15 cmH₂O üzerine çıkılmaması gerekir) ve plato basıncı 35 cmH₂O'yu geçmeyecek şekilde mekanik ventilasyon uygulamaları yararlı bulunmuştur (42,43).

Hastalarda altta yatan zedelenmeye ek olarak mekanik ventilasyon tedavisi sırasında 2 tip akciğer zedelenmesi olur. Bunlardan ilki mekanik ventilasyonla verilen akciğer volümünün daha çok sağlıklı bölgelere gitmeyi tercih etmesi, buralarda aşırı havalanma ve gerilme ile volüm veya barotravma yapmasıdır. Bu bölgelerde doku inflamasyonu, ödem, hyalen membranlar oluşur ve buradan dolaşıma inflamatuvar sitokinler salgılanır bu olay biyotravma olarak da adlandırılır. İkinci zedelenme şekli ise dorsal yani dependent bölgelerdeki atelektatik alanların her solukta tekrar tekrar açılıp kapanması ile sağlıklı ve atelektatik düşük komplianslı akciğer alanları arasında meydana gelen zedelenme veya atelektotravmadır (44). Akciğerleri koruyucu mekanik ventilasyon stratejileri ile bu sekonder zedelenme önlenmeye çalışılmıştır.

Pron pozisyon: Yapılan çalışmalarda ARDS'li hastalarda pron pozisyonun arteriyel oksijenizasyonda %65 iyileşme sağladığı görülmüştür (45).

Pron pozisyonunda göğüs duvarının ventral bölümünde komplians azalır ve dorsal bölgelerde komplians biraz daha düzelir ve tidal volüm bu bölgelere yönelir. Sonuçta oksijenizasyon düzelir ve CO₂ atılımı artar (46). Pron pozisyona cevap ARDS'nin erken dönemlerinde ve sekonder ARDS'de daha iyidir.

Hemodinamik Destek Tedavisi: Bazı deneysel çalışmalarda sıvı kısıtlaması ile pulmoner ödemin azalabileceği bildirilirken, diğer deneysel verilerde ALI/ARDS'li hastaların vasküler volüm artışına ihtiyaç duyabilecek, oksijen dağılımını artıracak hemodinamik tedaviden fayda görebileceği belirtilmektedir (47).

ARDS'li hastaların diüretik veya diyaliz ile tedavisinin oksijenizasyonu ve akciğer kompliansını artırdığı gösterilmiştir (48).

Sıvı kısıtlanması ve akciğer ödeminin azaltılarak oksijenizasyonun düzeltilmesinin ALI/ARDS'li hastalarda yararlı olduğunu gösteren çalışmalar olsa da sıvı kısıtlamasının kardiyak outputu düşürdüğü ve organların perfüzyon ve oksijenizasyonunu azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Sonuçta uluslararası

uzlaş konferansı raporunda belirtilen, zamanında sıvı resusitasyonu ve hemodinaminin normale getirilmeye çalışılması esastır (49). 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 nutrisyon verilmesi, uygulanamıyorsa parenteral nutrisyon verilmesi önerilmektedir (50).

Verilen enteral nutrisyon solüsyonunun içeriğinden (lipitten zengin solüsyonların tercih edilmesi gibi) ziyade hastaya gereksiniminden fazla miktarda kalori vermemek esastır. Bununla beraber son yıllarda yapılan bazı çalışmalar immünonutrisyonun (arginin, glutamin, ribonükleotitler ve omega-3 yağ asitlerinden zengin solüsyonlar) özellikle de argininden zengin solüsyonların yoğun bakım enfeksiyonlarını azalttığını göstermiştir (51).

Nutrisyonel içeriğin yapısı ile ilgili diğer bir çalışmada yağdan zengin, karbonhidrattan fakir diyetin solunum katsayısını ve CO₂ üretimini azaltarak ventilatörde kalma süresini azalttığı gösterilmiştir (52).

ARDS'li hastalarda yapılan bir diğer çalışmada balık yağı, gama linolenik asit ve antioksidanlardan zengin bir solüsyonun bu hastalarda oksijenizasyonu düzelttiği, mekanik ventilasyon süresini kısalttığı, diğer organ yetmezliklerini azalttığı ancak mortaliteyi etkilemediği gösterilmiştir (53).

II- Farmakolojik tedavi

Steroidler: ALI/ARDS' de steroid kullanımı tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda ALI/ARDS başlangıcından birkaç gün sonra erken dönemde steroid uygulandığında mortalitenin azalabileceği gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise ARDS'nin geç döneminde metil prednizolon alan hastaların kliniklerinde belirgin düzelme izlenmiştir (54,55).

Antioksidan Tedavi: Glutatyon gibi doğal yoldan oluşan antioksidanlar akciğer hasarında azalır (56). N-acetylcysteine (NAC) glutatyon prekürsörüdür ve ALI/ARDS'de etkileri araştırılmıştır. Bazı hayvan modellerinde antioksidan tedavinin ALI'den koruma ve tedavisinde faydalı olduğu gösterilmiştir (57).

ALI/ARDS'li hastalarda nötrofil aktivasyonu ve yüksek seviyede oksijen inhalasyonu nedeni ile oksidatif stres ortaya çıkar. Bazı deneysel çalışmalarda NAC ve prosistein etkili bulunmuştur. Faz II klinik çalışmalarda bu ajanları alan hastalardaki klinik düzeltilmeler umut verici olarak yorumlanmıştır (58).

Yapılan çalışmalarda antioksidan kullanan hastalardaki klinik düzeltilmeler umut vericidir (57,59).

Surfaktan Replasman Tedavisi: Endojen surfaktanın temel fonksiyonu alveolar yüzey gerilimi azaltarak atelektazi oluşumunu önlemektir. Surfaktan ayrıca antiinflatuar olup, serbest oksijen radikallerini tutar, makrofajların endotoksin nedeniyle sitokin salınımı yapmasını inhibe eder (60). 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 ödemi artırır. ALI'de ekzojen sürfaktan uygulaması ile akciğer kompliansı ve oksijenasyonun düzeldiğini bildiren deneysel çalışmalar mevcuttur (35,61).

Nitrik Oksit (NO) İnhalasyonu: NO pulmoner vazodilatasyon yaparak iyi ventile olan akciğer bölgelerinde şanti azaltır, oksijenizasyonu artırır ve pulmoner ödemi azaltır (62). İnhal NO ALI/ARDS'nin rutin tedavisinde önerilmez, ancak refrakter hipoksemili hastaların tedavisinde faydalı olabilir.

ALI/ARDS tedavisinde sodyum nitroprusside, hidralazine, prostaglandin E₁, prostasiklin gibi selektif vazodilatörlerin faydası gösterilememiştir.

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 (58).

3.2. OLEİK ASİT

Oleik asit (OA) ile oluşturulan akciğer hasarı modeli, ALI ve ARDS'de yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında sık kullanılan patolojik bir modeldir (63).

OA, 18 karbonlu tek çift bağa sahip doymamış yağ asidi olup eikosatrienoik asit gibi diğer yağ asitlerinin sentezinde rol oynayan bir moleküldür. Saf OA oda sıcaklığında yağ formundadır ve bunun 1-2 ml'si 25 kg'lık bir hayvanda pulmoner dolaşıma verilirse belirgin bir akciğer hasarı oluşturur. Enjeksiyonlar fraksiyonlar halinde, salin veya etanolde çözöldükten sonra ya da her birkaç dakikada bir sürekli infüzyon halinde verilebilir. Bu değişik veriş şekilleri hasarın şiddetini ve yoğunluğunu değiştirir ve farklı patofizyolojik sonuçlar doğurur (63). İntravenöz

yolla verilen OA'nın akciğerlerde oluşturduğu patolojik değişiklikler ALI ve ARDS de gözlenen değişikliklere benzerdir (64,65). OA ile oluşturulan akciğer hasarı modelinde, intravenöz OA uygulanmasından sonra pulmoner vasküler endotel hücrelerde hasar ve akciğerde inflamasyon oluşur. Bu oksido-inflamatuar sürece katkısı olan pek çok faktör vardır; 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(ROS) üretim artışları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (66,67). OA süperoksit ve hidroksil radikali gibi ROS'ların salınımını, aktive olan nötrofillerin endotel hücrelerine bağlanmasını ve nötrofil aktivasyonunu içeren kaskadı tetikler. Akciğer hasarında aşırı nitrik oksit salınımı mevcuttur (68). Fazla miktarda oluşan NO, süperoksit radikali (O_2^-) ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşumunda artışa yol açar (69). Peroksinitrit proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler üzerine oksidan etki göstererek ARDS gibi hastalıklarda inflamasyon ve doku hasarında artışa yol açar (70).

OA uygulanmasından sonra oluşan akut akciğer hasarında serum total antioksidan kapasitesinde azalma saptanmıştır (65). 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 lipidler, malondialdehit (MDA) gibi sekonder veya son ürünlerin ölçümü veya süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidanlardaki değişiklikler ile ALI/ARDS'deki oksidan-antioksidan denge çözümlenmeye çalışılmıştır (68,71).

3.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest radikaller ALI/ARDS patogenezinde rol oynayan önemli proinflamatuvar mediatörlerdendir.

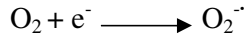
Serbest radikaller son orbitalinde eşlenmemiş bir oksijen atomu taşıyan moleküllerdir. Bu eşlenmemiş elektron bu molekülleri oldukça reaktif hale getirerek protein, lipid ve nükleik asitlerde yıkıcı peroksidasyon reaksiyonlarını başlatabilir. Serbest radikaller tek elektronunu bir başka moleküle verebileceği (redüksiyon) gibi bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Biyolojik sistemlerde oksijenden oluşan radikaller en önemli serbest radikalleri oluşturur. Mitokondrial elektron transport sisteminde oksijenin (O_2) dört elektronunun su (H_2O) oluşturmak üzere indirgenmesi ile ATP üretilir. Fakat bu

süreçte oksijenin % 1-3'ü suya dönüşmeyerek serbest oksijen radikalleri ve bunlarında çeşitli reaksiyonları ile ROS meydana gelir (72-74).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), hidroperoksil radikali ($HO_2^{\cdot}$), alkosil radikali ($LO^{\cdot}$), peroksil radikali ($LOO^{\cdot}$), tiyl radikali ($LS^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), lipid hidroperoksit ($LOOH$), hipokloröz asit ($HOCL$), singlet oksijen, ozon (O_3), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) reaktif oksijen türleridir.

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

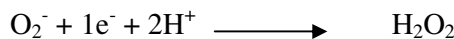
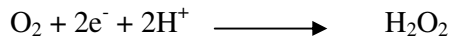
Süperoksit anyon radikali doğal oksijen molekülününün bir elektron indirgenmiş kısa ömürlü formudur ve konsantrasyonu canlı sistemdeki antioksidan seviyesini aştığında potansiyel zararlı bir moleküldür (75).



SOD enzimi, süperoksit radikalini inaktive ederek H_2O_2 'ye dönüştürür. Normal koşullarda SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimi oluşmaz. Ancak patolojik durumlarda süperoksit yapımının artmasıyla süperoksitide özgü birtakım tepkimeler oluşur. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olur ve metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da indirgenmiş nükleotidler, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikler oksitler. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit bir proton alarak hidroperoksit radikalini oluşturur. Bu radikal çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatarak, antioksidanları oksitleyebilir (72,76).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Oksijen çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Bu molekül iki hidrojen atomu ile birleşirse H_2O_2 meydana gelir.



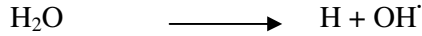
H_2O_2 yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden direkt radikal olmamakla birlikte demir, bakır gibi metal iyonların varlığında hidroksil radikalini oluşturarak zararlı olabilen, membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde süperoksit dismütasyonu ile de üretim oluşur.

Dismutasyon işlemi, SOD enzimi katalizörlüğü ile süperoksiti H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürür (72,76).

H_2O_2 hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz ve katalaz katalizörlüğündeki reaksiyonla indirgenerek ortamdan uzaklaştırılmış olur (77). ARDS'li hastalarda yüksek H_2O_2 saptanmıştır (68).

Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)

Su yüksek enerjili iyonize edici radyasyonun etkisi ile hidroksil radikaline dönüşür.



Hidrojen peroksit ve süperoksit molekülleri demir iyonu varlığında Fenton reaksiyonu ve/veya Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla indirekt olarak $OH^\cdot$ üreterek biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olur (77). Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksijen radikalidir ve yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı ortamda büyük hasara neden olur. Hücredeki hemen her molekülle reaksiyona girerek harabiyet oluşturabilir (78). Hidroksil radikali en zararlı serbest oksijen radikalidir ve bu radikalin sonrasında ortaya çıkan radikaller esas olarak biyomoleküllerin oksidatif hasarından sorumludur. Okside moleküller, genellikle radikal zincir reaksiyonu ile yeni radikallerin şekillenmesine yol açarlar veya antioksidanlarla nötralize edilirler (79). $OH^\cdot$ zincir kırılmaları ve nükleobaz modifikasyonları oluşturarak, kimyasal değişikliğe sebep olurlar (80).

Singlet Oksijen ($O^\cdot$)

Singlet oksijen molekülü ($O^\cdot$), oksijenin yüksek enerji orbitalinden bir elektron yükseltgenmesiyle oluşur. Memeli hücrelerinde normal ve fizyopatolojik şartlar altında üretilir. $O^\cdot$ moleküler oksijenin yüksek reaktif formudur. Lipid, nükleik asit ve protein gibi önemli hücresel makromolekülleri okside ederek, membran hasarı, lipid peroksidasyon ve hücre ölümünü hızlandırır (81).

Nitrik Oksit (NO)

NO tek sayıda elektron içeren, renksiz gaz halinde bulunan inorganik bir serbest radikaldir. NO vertebralılarda sitokrom P-450 redüktaz homologu olan ve Nitrik Oksit Sentaz olarak bilinen enzimlerce L-argininin L-sitrüline dönüşümü esnasında üretilir.

NO düşük konsantrasyonlarda önemli fizyolojik işlevlere sahiptir, ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma ömrüne sahip olup 2-30 saniye içinde daha stabil

bir yapı olan nitrata oksitlenir (82). Kardiyovasküler sistemde, sinir sisteminde ve immun sistemde biyolojik etkileri vardır. NO nörotransmitter ve nöromodulator bir etkiye sahiptir (83). Aşırı NO üretimi, septik şok, nörodejeneratif hastalıklar, astım, kronik infeksiyon gibi durumlarda ortaya çıkmaktadır (84). NO, oksijen bağımlı sistemlerde O_2 'yi uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve hücreleri korur. Bundan dolayı NO serbest radikaller ve metal aracılı süreçler üzerinde güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir (85).

3.3.1. Serbest Radikal Kaynakları

3.3.1.1. Biyolojik Kaynaklar

Serbest radikallerin ana kaynağı aerobik organizmalar için moleküler oksijendir. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sonucu süperoksit radikali, bu radikalden H_2O_2 (spontan veya enzimatik dismutasyon ile) ve bir dizi reaksiyon sonucu $OH^\cdot$ meydana gelir.

Elektromanyetik veya partiküllü radyasyona maruziyet, alkol veya uyuşturucular, çevresel ajanlar ve hava kirliliği yapan maddeler, sigara dumanı, özellikle antineoplastik ajanlar olmak üzere bazı farmakolojik ajanlar (adriamycin, doksorubisin, bleomisin, nitrofurantoin gibi) serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olurken, doğal antioksidanların tüketimini artırır (72,76).

İnflamasyon nedeni ile aktive olmuş nötrofil, monosit ve eozinofiller lezyon bölgesinde birikerek serbest radikal salınımına neden olurlar (76).

3.3.1.2. Hücre İçi Kaynaklar

Mitokondri ROS'u endojen olarak üreten bir organeldir. Başta süperoksit radikali olmak üzere $OH^\cdot$ ve H_2O_2 mitokondri içinde meydana gelir. Mitokondriyel serbest radikallerin kaynağı mitokondri iç zarında yer alan elektron taşıma sistemidir. Hatalı elektron taşınması ile artan serbest radikaller mitokondrial DNA'da mutasyonlara neden olur. GSH-Px ve SOD gibi enzimler bu organelin etrafında oksidatif stresin azaltılmasında rol oynamaktadırlar (86). İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite veya allerjik durumlarda da mitokondrilerdeki elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları olur ve serbest radikallerin düzeyi artar (72,76).

Katekolaminler, flavinler, hidrokinonlar ve tiyoller gibi çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen maddeler intrasellüler olarak serbest radikalleri açığa çıkarırlar (87).

Ksantin oksidaz, triptofan dehidrogenaz ve flavoprotein dehidrogenaz gibi bazı enzimlerde serbest radikallerin açığa çıkmasını sağlarlar (87).

Endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı sitokrom P450 gibi aynı elementleri içerdiklerinden doymamış yağ asitlerini ve ksenobiyotikleri okside edebilir ve oksijeni indirgeyebilirler (76,87).

Peroksizomlar D-amino asit oksidaz, ürat oksidaz ve L- α hidroksi asit oksidazdan zengin olduğundan H_2O_2 açığa çıkarabilirler (87).

Plazma zarında bulunan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler gibi doymamış yağ asitleri ve transmembran proteinleri ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikallerin zararlı etkilerine ilk olarak maruz kalabilirler. Lipid peroksidasyonu veya yapısal öneme sahip proteinlerin oksidasyonu transmembran iyon gradientinin bozulmasına yol açabilir (87).

Siklooksijenaz ve lipoksijenaz gibi mikrozomal ve plazma zarına bağlı enzimlerin katalize ettiği araşidonik asit metabolizması sırasında $OH^\cdot$ meydana gelir (88).

Fagositoz sırasında oksijen kullanımı arttığından dolayı $O_2^\cdot$ ve H_2O_2 açığa çıkışı da artmış olur (76).

3.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Oksidatif strese dolaylı olarak ROS birikimi ilerleyerek hücre ölümüne sebep olur. Serbest oksijen radikalleri lipid, protein ve DNA gibi hücresel moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girip, okside edebilir (80). Fizyolojik koşullarda az miktarda serbestleşen oksijen radikallerini fizyolojik anti-oksidan savunma, ciddi bir hasar oluşmadan nötralize edebilmektedir (79).

Proteinlere Etkisi

Proteinlerin aminoasit yapıları serbest radikal harabiyet derecesini belirler. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler doymamış bağ ve sülfür içerdikleri için serbest radikallerden kolayca etkilenirler (76).

Nükleik asitler ve DNA'ya etkisi

Radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açabilir. $OH^\cdot$ deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek DNA'da mutasyona neden olurken, $O_2^\cdot$ mitokondrial DNA'da hasar oluşturur (80).

Karbonhidratlara etkisi

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu; H_2O_2 ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (76).

Membran Lipidlerine Etkisi

Serbest radikaller membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin en sık görülen hasar şeklidir. Lipid peroksidasyonu direkt olarak zarın yapısını ve fonksiyonunu bozar, indirekt olarak reaktif aldehyitlerle diğer hücre bileşenlerine zarar verir.

Serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi bir hidrojen atomu kaybeder ve dayanıksız bir bileşik olan lipid radikali oluşur. Lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali, bu da açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak hidroperoksitlere dönüşür ve diğer yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikalleri oluşturur. Böylece olay kendiliğinden katalizlenerek devam eder. Lipid peroksidasyonu antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılmazsa devam ederek daha ileri gider (89).

Lipid hidroperoksitleri yıkılarak aldehyitler ve diğer karbonil bileşikler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülebilen MDA meydana gelir. MDA lipid peroksidasyonun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterdiğinden, lipid peroksit düzeylerinin tespitinde sıklıkla kullanılır. MDA zar bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonuna neden olur. MDA mutajenik, genotoksik ve karsinogeniktir (89). Birçok deneysel ve epidemiyolojik çalışma serbest radikallerin karsinogenezin başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu gösterdiğinden, tedavi protokollerinde doku serbest oksijen radikallerin içeriğinin azaltılması amaçlanmıştır (88).

Oksijen radikalleri canlılığın devamı için zorunlu olan sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlarda rol alır. Serbest radikaller vücuda giren mikroorganizmaları yok ederek savunma sistemine katkıda bulunurlar. Ancak radikallerin yapısı ve etkili olduğu yerlerde hücresel hedefler risk altındadır. Fizyolojik olarak oksijen oluşumunun oranı ve miktarı oksidan eliminasyon hızı ile dengelenir. Ancak pro-oksidan ve antioksidanlar arasındaki bir dengesizlik oksidatif stres ile sonuçlanır.

3.3.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma

Antioksidanlar zararlı serbest oksijen radikallerini nötralize ederek organizmanın onlardan etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan

moleküllerdir. Organizmada çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Tablo 5-6) (90).

Süperoksit Dismutaz (SOD): Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan ve süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. Bu şekilde lipid peroksidasyonu inhibe edilebilir. Normal koşullarda mitokondrilerde bulunan sitokrom sistemi, hücre içi yapıları oksidanların zararlı etkilerinden sürekli korur, yetersiz kalırsa SOD ve diğer doğal enzimler devreye girer Ökaryotik hücrelerde Cu/Zn-SOD ve Mn-SOD olmak üzere iki şekilde bulunur. En bol bulunan ve siyanür ile inhibe olan izomer Cu/Zn-SOD'dur (72).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): Sitozolik bir enzim olup tetramerik 4 selenyum atomu ihtiva eder. Glutasyon bağımlı enzimler tiyol (SH) grubu içerirler. H_2O_2 ve lipid hidroperoksitlerin yıkılımını katalizleyerek membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur. Bu etkisini glutasyonun yükseltgenmesi ile gerçekleştirir. GSH-Px aktivitesindeki azalma H_2O_2 'nin artmasına ve hücre hasarının oluşmasına yol açar (91).

Katalaz (CAT): Dört hem grubu bulunan tetramerik bir proteindir. H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalar. Peroksizomlarda lokalizedir. Katalaz özellikle karaciğer ve böbrek hücrelerinde metabolizma sırasında glukoz molekülünün oksidasyonu ile oluşan H_2O_2 'i kullanarak fenol, formaldehit, alkol gibi organik bileşikler oksitler. Böylece kan akımıyla gelen toksik maddeler detoksifiye edilir. Katalazın indirgeyici aktivitesi H_2O_2 , metil ve etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllerdir. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerini ise etkilemez (91,92).

Tablo 5. Bilinen farmakolojik (ekzojen) antioksidanlar

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Allopurinol, Oksipurinol, Pterin aldehit, Tungsten	Süperoksit üretimini inhibe eder.
Proteaz inhibitörleri	Soya tripsin inhibitör Serin proteaz inhibitör	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder.
NADPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin Lokal anestezikler Kalsiyum kanal blokerleri Nonsteroid antiinflamatuvarlar Cetiedil Fenilmetilsülfonil	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu
Süperoksit Dismutaz (SOD)	IgA bağımlı SOD Polietilen glikol SOD Ginko Biloba (Egb 761) Doğal SOD	Süperoksitten hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler
Katalazlar	Polietilen glikol katalaz Lipozom kapsüllü katalaz Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol Albumin Dimetil sülfoksit 17-aminosteroidlazeroitler Glutasyon Ürik asit Spin tuzakları Biluribin	Hidroksil radikal giderici Geniş çaplı oksidan toplayıcı Fe, Süperoksit ve hidroksil toplayıcı H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici Süperoksit giderici Süperoksit ve hidroksil giderici Tüm radikalleri toplar Peroksidasyon zincirini bozar
Demir redoks zinciri inhibitörü	Desferoksamin Apotransferin Seruloplazmin	Serbest Fe+3 atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonunu önler
Endojen savunma artırıcı ajan	Antinötrofil serumu Monoklonal antibodiler Platelet aktive edici faktör	Hücrel glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır Nötrofillerin endotele adezyonunu inhibe eder Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder

Tablo 6. Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar

Antioksidanlar	Yapısı	Yeleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizanı
SOD	Cu/Zn, Mn SOD	Mitokondri, serum	Süperoksiti H_2O_2 'ye çevirir
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GPx	Selenoprotein	Sitosol, mitokondri	Lipit peroksidasyon ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfiteri indirger
α - tokoferol	Yağda çözünen vitamin	Membranlar, ekstrasellüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
β - karoten	Vitamin A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptit	İntrasellüler ortam, alveoller	Redoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vitamin C'yi korur
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikal giderici
Bilirubin	Hemoprotein ürün	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H_2O_2 'ye çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı
Askorbik asit	Suda çözünen vitamin	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vitamin E'yi rejenere eder

3.3.4. Serbest Radikallere Bağlı Klinik Durumlar

Fizyolojik koşullarda oksidan düzeyi ile antioksidanların bunları etkisiz hale getirme gücü bir denge içindedir. Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarı ile seyreden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar (Tablo 7) (90,93).

Tablo 7. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Düşünülen Bazı Klinik Durumlar

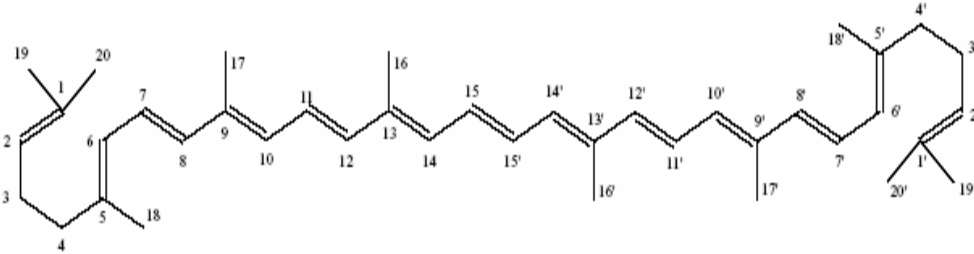
Olgu Grubu	Olgu Adı
Yaşlanma	Prematür yaşlanma hastalıkları
İyonize edici radyasyon	Nükleer patlamalar, Radyoterapi seansları Hipoksik hücre aktivatörleri, Solar radyasyon hasarı
Alkolizm	Alkol indüksiyonuna ilişkin aşırı demir yüklemesi Alkolik miyopati
Kan elemanları patolojileri	Fenilhidrazin primakin vb. ilaç toksikasyonları Kurşun zehirlenmesi, Favizm, Protoporfirin fotooksidasyonu Malarya, Orak hücre anemisi, Fanconi anemisi
İnflamatuvar immun hasar	İdiyopatik ve membranöz glomerulonefrit 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, Adriyamin toksisitesi
Ürogenital patolojiler	Otoimmun nefrotik olgular ve Metal nefrotoksisitesi
Sinir sistemi bozuklukları	Hiperbarik oksijen, Nörotoksinler, Vit. E yetmezliği Alzheimer, Parkinson, steroid lipofusinozis, Alerjik ensefalomiyelit Demiyelizan hastalıklar Multipl skleroz, Musküler distrofi
Gastrointestinal patolojiler	Endotoksik karaciğer hasarı, Diabetes mellitus, Pankreatit Oral demir zehirlenmesi, Ülserler Gastrointestinal kanserler, İnflamatuvar barsak hastalıkları
Diğer patolojiler	Sistemik kanserler, Malnutrisyonlar Kontakt dermatit, Porfiriya, Termal haraplanma, Katarakt, Oküler kanamalar, Retrolental fibroplazi Multipl kan transfüzyonları gerektiren anemiler

3.4. LİKOPEN

Karotenoidler çoğu meyve, sebze, bitkiler ve bazı hayvanlardaki kırmızı, sarı ve turuncu renklerden sorumlu doğal pigmentlerdir. Sebze ve meyvelerde bulunan karotenoidler oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkinin yanı sıra oksidanların zararlı etkisini önleyen enzimlerin aktivasyonu, immün sistemin uyarılması, hücre çoğalması ve apoptozuna ilişkin gen ekspresyonunu, hormon metabolizması ve anti bakteriyel ve antiviral etkileri düzenleyerek etkili olur (94).

Altıyüz'ün üzerinde karotenoid çeşidi tanımlanmıştır. Karoten gurubunun en önemli üyesi; sadece karbon ve hidrojen atomlarından oluşan karotenoidleri içeren sebze ve meyvelerde bulunan likopendir. Likopen insan vücudunda sentezi mümkün olmayan, ancak depo edilebilen bir karotenoiddir (95).

Likopenin kırmızı rengi konjuge polien yapısına sahip olmasından ileri gelir (94,96). Likopen lipofilik, 40 karbonlu ($C_{40}H_{56}$), alifatik, çoklu doymamış hidrokarbon düz zincirinde 11 konjuge ve 2 non-konjuge olmak üzere toplam 13 çift bağ bulunduran, siklik olmayan açık polien zincirine sahip ve β iyonon halkası içermediği için A vitamini aktivitesinden yoksun bir karotenoiddir (Şekil 1) (97).



Şekil 1. Likopenin kimyasal yapısı

Yapısındaki konjuge çift bağların likopeni güçlü bir antioksidan yaptığı görüşüne inanılmaktadır. Likopenin antioksidan aktivitesi, tekli oksijen grupları yok etme özelliği ve peroksit radikallerini yakalama özellikleriyle belirlenir (95).

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre yüksek oranda karotenoidden zengin sebze ve meyve alımı insanları en yaygın görülen, kolon, mide ve prostat kanserine karşı korur (98-100).

Likopen miktarı özellikle kırmızı meyve ve sebzelerin türüne, olgunluğuna ve yetiştirildiği çevrenin koşullarına göre farklılık gösterir. İşlenmiş domates

ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (Tablo 8) (101,102).

Tablo 8. Çeşitli Gıdalarda Bulunan Likopen Miktarları

Gıda maddeleri	Likopen miktarı (mg/100 g)
Taze Domates	0.72–20
Domates Salçası	85
Domates Ketçabı	15.9
Domates Suyu	9.5
Domates Sosu	14.1
Havuç	0.65–0.78
Karpuz	2.3–7.2
Pembe Greyfurt	0.35–3.36
Guava	5.23–5.50
Papaya	0.11–5.3
Kuşburnu	12.9–35.2
Bal kabağı	0.38–0.46
Elma	0.11–0.18
Tatlı patates	0.02–0.11
Kayısı	0.01–0.05

Likopen organizmada yaygın bir şekilde dağılım gösterir. Likopen insan vücudunda en çok böbrek, testisler, karaciğer ve prostat bezi gibi özellikle yağdan zengin dokularda bulunur. Ayrıca pankreas, deri, dalak, meme, adrenal bezler ve yumurtalıklarda da bulunur. Likopen prostatta en çok bulunan karotenoiddir (103).

Likopen vücutta düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ile taşınmakta ve plazma seviyesi yaş, cinsiyet, hormonal durum, vücut kompozisyonu, kan lipit seviyesi,

sigara, alkol ve diğer karotenoidlerin varlığı gibi faktörlerden etkilenmektedir (103). İnsan serumunda toplam karotenoidlerin %21-43'ünü likopen oluşturur. Gıda kaynaklı likopenin aşırı tüketimi sonucu dokuların, deri ve karaciğerin renklenmesiyle karakterize serum likopeninin artışıyla “likopenemi” denilen durum ortaya çıkar (101,104).

Bazı çalışmalarda ratlarda tek doz likopen uygulamasından sonra likopenin birikim yerinin öncelikle karaciğer olduğu, bunun dışında akciğer, prostat, meme bezi ve serumda da önemli miktarlarda biriktiği görülmüştür (95).

Likopen, karotenoidler arasında en güçlü antioksidandır. Yüksek düzeyde domates tüketimi sonucunda yüksek antioksidan düzeye ulaşmakta ve böylece yağ, DNA ve proteinlerin oksidasyonunda azalmaya yol açmaktadır (97,103). Karotenoidlerin radikaller için çekici bir halde olması, radikal hasarına karşı hücrenin diğer unsurlarının korunmasını sağlar (102). Likopen singlet oksijen, süperoksitler, hidroksil radikaller, hipoklorit ve peroksinitrit gibi çok çeşitli serbest radikallerin etkilerini önleme kapasitesine sahiptir. Bu antioksidan aktiviteden dolayı oksidatif hasarlar, toksisite ve bazı hastalıklardan korunmada likopen dikkat çekmiştir (105-108). Vücutta metabolik olaylar sonucunda meydana gelen ROS oksidan molekül olup biyomoleküllere etki ederek oksidatif hasar oluşturur. ROS'un kronik hastalık, kanser, aterosklerozla ilişkili kardiyovasküler hastalıklarda önemli rolü vardır (95,104,109). Likopen in vivo ve in vitro şartlarda ROS'un etkisini nötralize ederek lipid, protein ve DNA'yı oksidatif hasarlara karşı korur, hücrelerin ve dokuların korunmasına ve iyileşmesine yardımcı olur (107,108).

Likopenin de dahil olduğu diyetle ilgili antioksidanların ROS'u inaktive ettiği ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayarak, prostat kanserinin önlenmesinde potansiyel moleküller olabilecekleri düşünülmektedir (110). Yine domates ve domates ürünlerinin, bazı kanser tiplerinin ve plazma lipit peroksidasyonunun gelişimi ile ters bir ilişki göstermesi de likopenin antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (111).

Bir çalışmada domates ürünlerinden sağlanan günlük 40 mg'lık likopen tüketiminin koroner kalp hastalıkları ve atherosklerozis'in gelişiminde önemli rolü olan LDL seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir (112).

Likopen ve β -karotenin makrofajlarda, kolesterol metabolizması üzerine etkisi ile ilgili çalışmada hücrel kolesterol sentezinin engellendiği ve LDL reseptör aktivitesinin yükseldiği tespit edilmiştir (113).

Yapılan bazı çalışmalarda günlük düzenli tüketilen likopenin akciğer kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (114).

Deneyssel olarak oluşturulan gastrik kanserlerde likopenin antioksidan kapasiteyi artırarak, lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (115).

3.5. AMAÇ

ARDS ve ARDS'nin başlangıç formu olarak kabul edilen ALI; yüksek morbidite ve mortaliteye sahip, oksidatif stresin arttığı ve aşırı ROS'un salındığı patolojik olaylardır. Likopen ise çeşitli oksidatif stres modellerinde kullanılan önemli bir antioksidandır. Yapılan çalışmalarda likopenin birçok ROS'u nötralize ettiği ve bunların zararlı etkisini önleyen enzimlerin aktivasyonunu, immün sistemin uyarılmasını, hücre apoptozuna ilişkin gen ekspresyonunu etkilediği ve birçok oksidatif stres modelinde ve bazı kronik hastalıklarda faydalı olduğu belirtilmiştir.

ARDS tedavisinde çok sayıda farmakolojik ajan denenmesine rağmen yine de mortalite oranı yüksektir. ARDS'nin başlangıç formu kabul edilen ALI oluşumu engellenebilir veya ALI tedavi edilirse mortalite oranı düşecektir. 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. Likopen sebze ve meyvelerde yeterli miktarda bulunabilen doğal antioksidandır.

Bu çalışmada deneyssel olarak oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarında oksidan-antioksidan sistemlerdeki değişiklikler ile antioksidan özelliği bilinen likopen uygulanmasının bu sistemler üzerine etkileri ve akciğer hasarı oluşumunda koruyucu etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney grupları ve uygulama dozları

Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen, 140-160 gr. ağırlığında Wistar cinsi 28 adet dişi rat kullanıldı. Farklı uygulamalar için ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Her 4 gruptaki ortalama ratların ağırlığının yaklaşık aynı olması sağlandı.

Grup I: (Kontrol grubu, n=7) Kontrol grubu 5 hafta süre ile standart pellet yemi ile normal beslendi. Deneyin son günü serum fizyolojik:etanol (9:1) infüzyonu uygulandı.

Grup II: (OA grubu, n=7) 5 hafta süre ile normal beslenen ratlara son gün OA, akciğer hasarı oluşturulması amacıyla (serum fizyolojik+etanol+OA) uygulandı.

Grup III: (Mısır yağı+OA grubu, n=7) 5 hafta süre ile normal beslenmeye ek olarak ratlara günlük 1 ml mısır yağı verildi ve 5. haftanın sonunda OA verildi (Mısır yağı+OA+serum fizyolojik+etanol). Bu grup likopen mısır yağı içerisinde çözülerek verileceğinden mısır yağının oluşacak akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla oluşturuldu.

Grup IV: (Likopen+OA grubu, n=7) 5 hafta süre ile normal beslenmeye ek olarak 1 ml mısır yağı içinde 20mg/kg/gün likopen verildi ve 5. haftanın sonunda OA verilerek (Likopen+OA+mısır yağı+serum fizyolojik+etanol), likopenin oluşacak akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

Uygulamalar süresince ratlar oda sıcaklığında (22°C $\pm$ 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 5 hafta taze çeşme suyu ve ad libitum standart pellet yem verildi. Ratların günlük fizik muayeneleri yapıldı, vücut ağırlıkları deney öncesi ve sonrasında kaydedildi. Gruplardaki ağırlık değişimleri orantılı artış gösterdi (170-190 gr).

Akut akciğer hasarı intravenöz yolla, 100 mg/kg dozunda OA (cis-9-octadecenoic acid; Sigma-Aldrich Germany) verilerek oluşturuldu. OA; etanol içerisinde çözüldükten sonra çözeltiye % 0.9 NaCl ilave edilerek konsantrasyonu 25 mg/ml olacak şekilde seyreltilti (etanol/serum fizyolojik oranı:1/9). Hazırlanan

Çözelti kuyruk veninden 24G branül yerleştirilerek intravenöz yolla 5 dakikada infüze edildi (65,116). III. grupta, mısır yağı 1 ml/gün olacak şekilde haftada 3 kez mide gavajı ile 5 hafta süreyle uygulandı. IV. grupta, likopen (Lycopene 10 % FS; Roche redivivo) 1 ml mısır yağı içinde 20 mg/kg/gün olacak şekilde haftada 3 kez mide gavajı ile 5 hafta süreyle uygulandı (117).

4.2. Biyokimyasal Analizler

OA infüzyonundan 4 saat sonra etik kurallara uygun olarak intramusküler 80 mg/kg ketamin anestezisi altında biyokimyasal analiz için kan örnekleri alınarak, ratlar dekapite edildi. Kanlardan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumlar ependorf tüplere aktarıldı ve analiz yapılıncaya kadar -80 °C'de saklandı. Ayrıca sağı akciğer alüminyum folyoya sarılarak kuru buzda dondurulup MDA düzeyi, katalaz, GSH-Px ve SOD aktivitesi ölçümünde gerekli olan homojenat örneklerinin hazırlanması için çalışılınca kadar -80 °C'de saklandı.

Çalışma esnasında dondurulmuş akciğer dokusu çözümlenerek izotonik NaCl ile yıkandı ve kurutma kağıdına serilerek kendi halinde kurumaya bırakıldı ve dokuların yaş ağırlıkları tartılarak not edildi. Soğukluğu muhafaza edilen dokular bir bisturi yardımıyla küçük parçalara ayrıldı ve cam tüplere aktarıldı. Dokuların üzerine soğuk 2 ml Tris-HCl tamponu eklendi (pH 7.4, 0.2 M Tris-HCl tamponu). Tüm çalışmalarda bu tampon kullanıldı. Daha sonra dokular soğukluğu muhafaza edilerek Ultra Turrax T25 Basic (Almanya) homojenizatöründe 16.000 devir/dakika hızda 2 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenat üzerine 4 ml daha tampon ilave edildi ve 1 dakika süreyle tekrar homojenize edilerek süre 3 dakikaya tamamlandı. Elde edilen homojenatların bir kısmı vortekslendikten sonra ependorf tüplere aktarıldı ve bu homojenatlar; 45 dakika süreyle 3500 g'de + 4 °C soğutmalı santrifüjde, santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

Serum MDA düzeyi ölçümü:

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tayini Yagi'den modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak Shimadzu UV-1201 spektrofotometresi kullanılarak yapıldı (118).

Plazmada bulunan lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA, aerobik şartlarda, pH' nın 3.5 olduğı bir ortamda TBA ile 95 °C de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturur. Bu pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile MDA miktarı saptanır. Sonuçlar nmol/ml olarak verildi.

Akciğer doku MDA düzeyi ölçümü:

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tayini Ohkawa tarafından belirlenen yöntem ile spektrofotometrik olarak yapıldı. Dokuda lipid peroksidasyonunun tayini pH'nın 3.5 olduğu ve aerobik şartlar altında, TBA ile doku homojenatının kaynar su banyosunda 1 saat inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır. Sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi (119).

Serum ve akciğer doku SOD aktivitesinin ölçümü:

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metodu ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre tayin edildi. Ortamda bulunan SOD enzimi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikallerini etkisizleştirerek, Nitroblue tetrazolium'un (NBT) redüksiyonunu önlemekte ve NBT'nin redüksiyonu ile ortaya çıkan, 560 nm'de maksimum absorbens veren renkli formazon oluşumunu inhibe etmektedir. Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak verildi (120,121).

Serum ve akciğer doku GSH-Px aktivitesinin ölçümü:

GSH-Px aktivitesi; GSH-Px aktivitesinin, glutatyon redüktaz tarafından Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrogenaz'ın (NADPH) oksidasyonu ile birleştirildiği Paglia Valentine metodu kullanılarak ölçüldü. Redükte NADP (NADPH), 340 nm'de maksimal absorbens gösteren bir maddedir. NADP glutatyon redüktaz katalizi devam ettikçe, ortamdaki NADPH miktarı giderek azalacak ve buna paralel olarak 340 nm'de absorbens azalması meydana gelecektir. Absorbanstaki bu azalma hızı, ortamdaki glutatyon peroksidaz aktivitesi ile doğru orantılıdır. Sonuçlar U/mg protein olarak verildi (122).

Akciğer doku CAT aktivitesinin ölçümü:

CAT aktivitesi Aebi metoduna göre çalışıldı. H₂O₂ 240 nm'de maksimum absorbens verir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂ katalaz tarafından su ve oksijene parçalanarak kendini ultraviyole spektrumda absorbens azalması şeklinde göstermektedir. Absorbanstaki azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Sonuçlar U/mg protein olarak verildi (123).

Total Protein miktarının tayini:

Doku örneklerinden elde edilen numunelerde protein miktarı Lowry metoduna göre tayin edildi. Bu yöntemde, alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşarak

fösfomolibdat-fösfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Fenol reaktifi) redükler ve koyu mavi bir renk oluşur. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Oluşan mavi renk spektrofotometrik olarak 650-700 nm köre karşı okunarak değeriendirildi (124).

4.3. Histopatolojik İnceleme

Histolojik değeriendirme için ratlardan alınan sol akciğerler tespit için % 10 tamponlanmış nötral formaline konuldu. Bu örnekler rutin histopatolojik takip serilerinden geçirilerek parafin blok haline getirildi ve mikrotom yardımı ile 3 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopta (Olympus BX-50, Japan) incelendi.

İşık mikroskopta pulmoner yapı, perivasküler ödem oluşumu, doku ödem formasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu körleme gözlem şeklinde incelenerek sonuçları 1-4 arasında derecelendirildi (116);

Grade 1: Normal histopatoloji

Grade 2: Hafif nötrofil infiltrasyonu

Grade 3: Orta derecede nötrofil infiltrasyonu, perivasküler ödem, alveolar ödem, pulmoner yapıda kısmi destrüksiyon

Grade 4: Yoğun nötrofil infiltrasyonu, abse oluşumu, pulmoner yapıda tam bozulma

4.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 11.5 paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların değerieleri ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD) şeklinde ifade edildi. Grupların değerielerinin karşılaştırılmasında nonparametrik Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. İki grubun birbiriyle karşılaştırılmasında ise Mann-Witney U Testi kullanıldı. $p<0.05$ olan değerieler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Deney gruplarına ait serum ve doku MDA, serum ve doku SOD, serum ve doku GSH-Px ve doku CAT ortalama $\pm$ SD değerleri Tablo 9’da, gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar da Tablo 10’da sunulmuştur.

Tablo 9. Deney gruplarının ortalama $\pm$ SD değerleri

	I. grup (Kontrol)	II. grup (OA)	III. grup (Mısıryağı+OA)	IV. grup (Likopen+OA)
Serum MDA nmol/ml	5.59 $\pm$ 2.11	9.01 $\pm$ 1.62	7.12 $\pm$ 1.47	5.13 $\pm$ 1.96
Doku MDA nmol/mg protein	41.62 $\pm$ 6.34	51.48 $\pm$ 13.07	66.62 $\pm$ 15.28	41.11 $\pm$ 3.75
Serum SOD U/mg protein	10.60 $\pm$ 1.46	10.83 $\pm$ 2.54	15.52 $\pm$ 5.88	18.51 $\pm$ 4.26
Doku SOD U/mg protein	7.09 $\pm$ 0.50	8.71 $\pm$ 1.17	8.25 $\pm$ 1.63	11.46 $\pm$ 2.71
Serum GSH-Px U/mg protein	1.90 $\pm$ 0.25	1.95 $\pm$ 0.33	3.07 $\pm$ 1.07	3.02 $\pm$ 1.35
Doku GSH-Px U/mg protein	2.04 $\pm$ 0.30	1.98 $\pm$ 0.32	2.10 $\pm$ 0.76	3.29 $\pm$ 0.74
Doku CAT U/mg protein	0.08 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.05

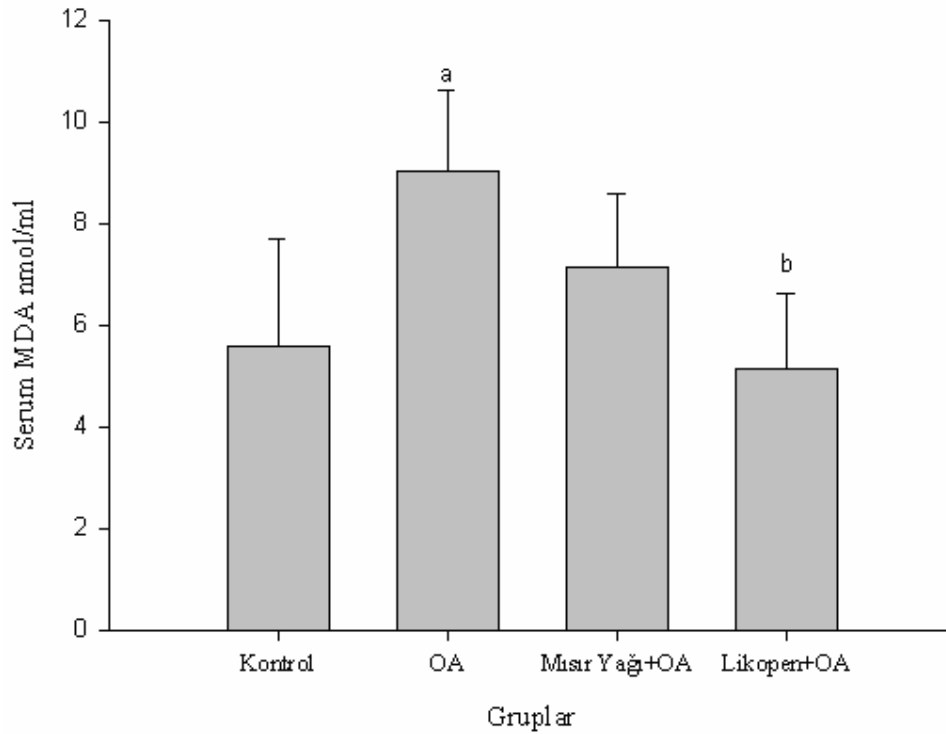
Tablo 10. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar

	I-II. grup	I-III. grup	I-IV. grup	II-III. grup	II-IV. grup	III-IV. grup
SerumMDA	p< 0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p<0.01	p>0.05
Doku MDA	p>0.05	p<0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p<0.05
Serum SOD	p>0.05	p>0.05	p<0.01	p>0.05	p<0.01	p>0.05
Doku SOD	p<0.01	p>0.05	p<0.01	p>0.05	p<0.05	p<0.01
Serum GSH-Px	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
Doku GSH-Px	p>0.05	p>0.05	p<0.01	p>0.05	p<0.01	p<0.05
Doku CAT	p<0.01	p<0.05	p<0.01	p>0.05	p<0.01	p<0.05

5.1. MDA düzeyi

5.1.1. Serum MDA düzeyi

Serum MDA düzeyi kontrole göre, OA grubunda istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Mısır yağı+OA grubunun değerleri kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel açıdan farklı bulunmadı. Likopen+OA grubunun değerleri kontrole göre hafif azalmıştı ancak istatistiksel açıdan farklı bulunmadı. OA grubu ile mısır yağı+OA grubu arasında istatistiksel açıdan fark bulunmadı. MDA düzeyi OA grubunda, likopen+OA grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.01$). Mısır yağı+OA grubuna göre, likopen+OA grubunda düşüktü, ancak istatistiksel açıdan farklı bulunmadı ($p > 0.05$). Grupların serum MDA değerleri şekil 2’de sunulmuştur.



Şekil 2. Deney gruplarına ait serum MDA düzeyleri

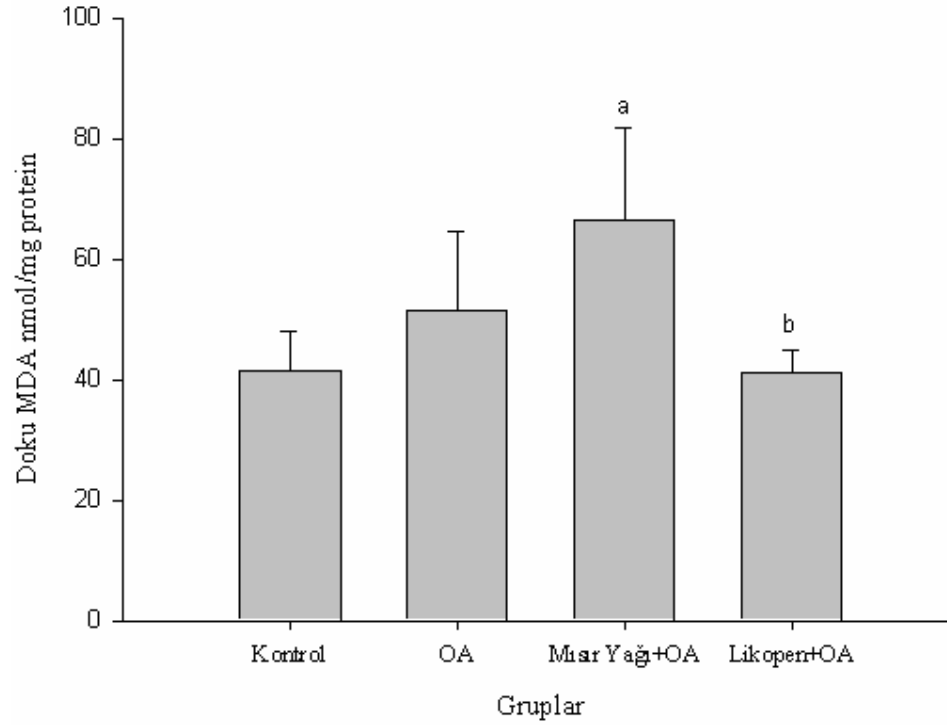
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b: OA grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.01$

5.1.2. Doku MDA düzeyi

Doku MDA düzeyi, kontrol ve likopen+OA gruplarında benzerdi. OA grubunda, kontrol ve likopen+OA gruplarına göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi. Kontrol ve likopen+OA gruplarına göre, mısır yağı+OA grubunda anlamlı artış vardı ($p<0.05$). OA grubu ile mısır yağı+OA grupları arasında istatistiksel açıdan fark yoktu.

Grupların doku MDA değerleri şekil 3'te sunulmuştur.



Şekil 3. Deney gruplarına ait doku MDA düzeyleri

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

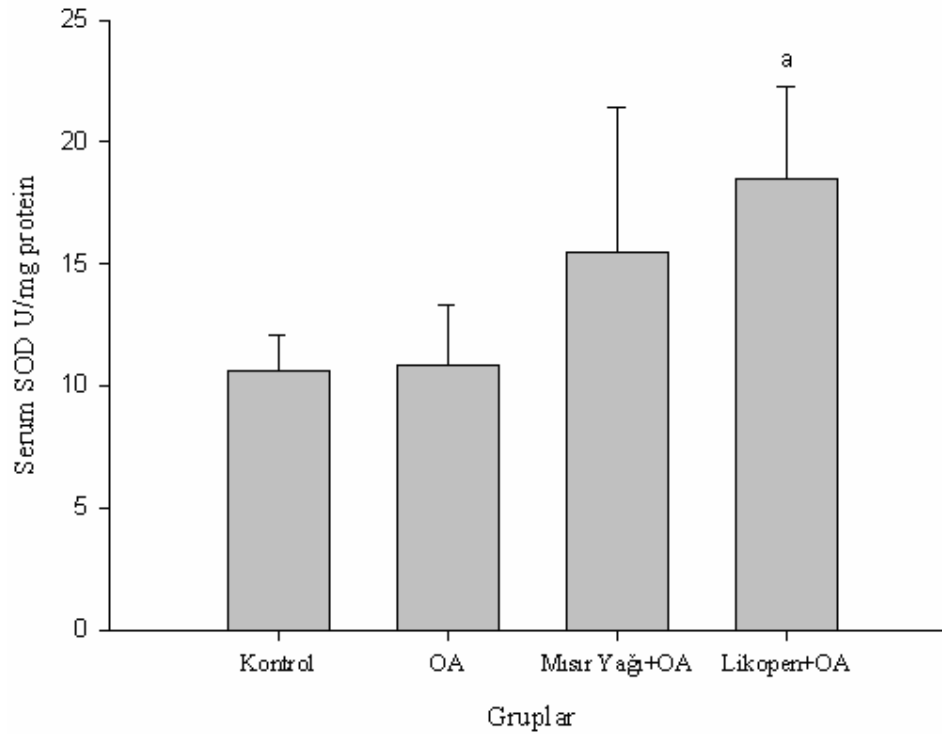
b: Mısır yağı+OA grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

5.2. SOD Enzim Aktivitesi Bulguları

5.2.1. Serum SOD değerleri

Serum SOD değerleri kontrol ve OA gruplarında benzerdi. Kontrole göre, mısır yağı+OA grupta artmış olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı. Kontrol ile karşılaştırıldığında likopen+OA grubunda anlamlı artış tespit edildi ($p<0.01$). OA grubu ile mısır yağı+OA grubu arasında istatistiksel açıdan fark yoktu. SOD değeri likopen+OA grubunda oldukça artmış olup, OA grubuyla istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0.01$), ancak mısır yağı+OA grubu ile karşılaştırıldığında fark bulunamadı.

Grupların serum SOD değerleri şekil 4'te sunulmuştur.



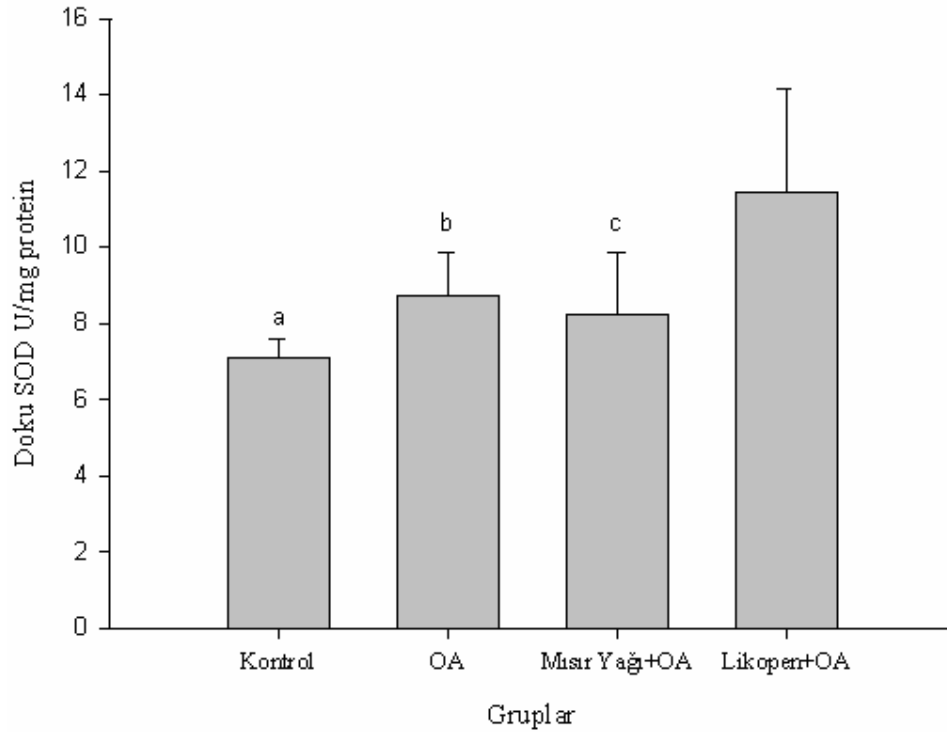
Şekil 4. Deney gruplarına ait serum SOD değerleri

a: Kontrol ve OA grupları ile karşılaştırıldığında $p<0.01$

5.2.2. Doku SOD değerleri

Doku SOD değerleri kontrole göre OA grubunda istatistiksel açıdan anlamlı artış gösterdi ($p<0.01$). Kontrol ile mısıır yağı+OA grubu ve OA grubu ile mısıır yağı+OA grubu arasında istatistiksel açıdan fark bulunmadı. SOD değeri likopen+OA grubunda oldukça artmış olup kontrol, OA ve mısıır yağı+OA gruplarından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$).

Grupların doku SOD değerleri şekil 5'te sunulmuştur.



şekil 5. Deney gruplarına ait doku SOD değerleri

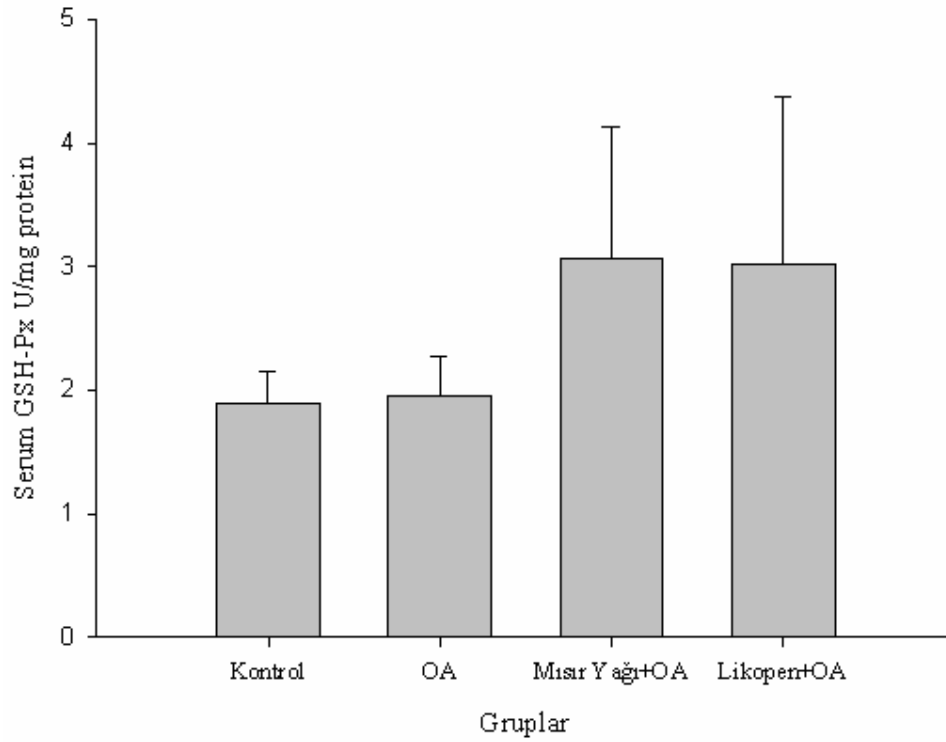
- a: OA ve Likopen+OA grupları ile karşılaştırıldığında $p<0.01$
- b: Likopen+OA grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$
- c: Likopen+OA grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.01$

5.3. GSH-Px Enzim Aktivitesi Bulguları

5.3.1. Serum GSH-Px değerleri

Serum GSH-Px değerleri kontrol ve OA grupları arasında benzerdi. Kontrol ile karşılaştırıldığında, mısır yağı+OA grubunda yükseklik tespit edildi. Benzer olarak, likopen+OA grubunun değerleri de kontrolden yüksek bulundu. Ancak tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu.

Grupların serum GSH-Px değerleri şekil 6’da sunulmuştur.

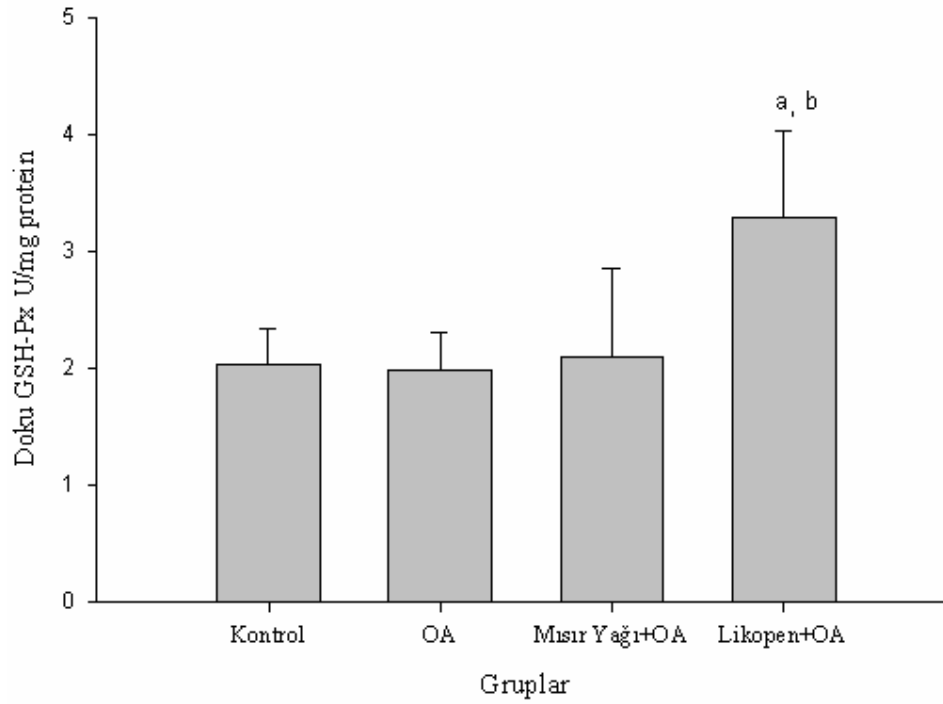


şekil 6. Deney gruplarına ait serum GSH-Px değerleri

5.3.2. Doku GSH-Px Aktivitesi

Doku GSH-Px değerleri kontrol, OA ve mısıır yağı+OA gruplarında benzerdi. Likopen+OA grubunda kontrol, OA ve mısıır yağı+OA gruplarına göre anlamlı derecede yükseklik tespit edildi (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$).

Grupların doku GSH-Px değerleri şekil 7’de sunulmuştur.

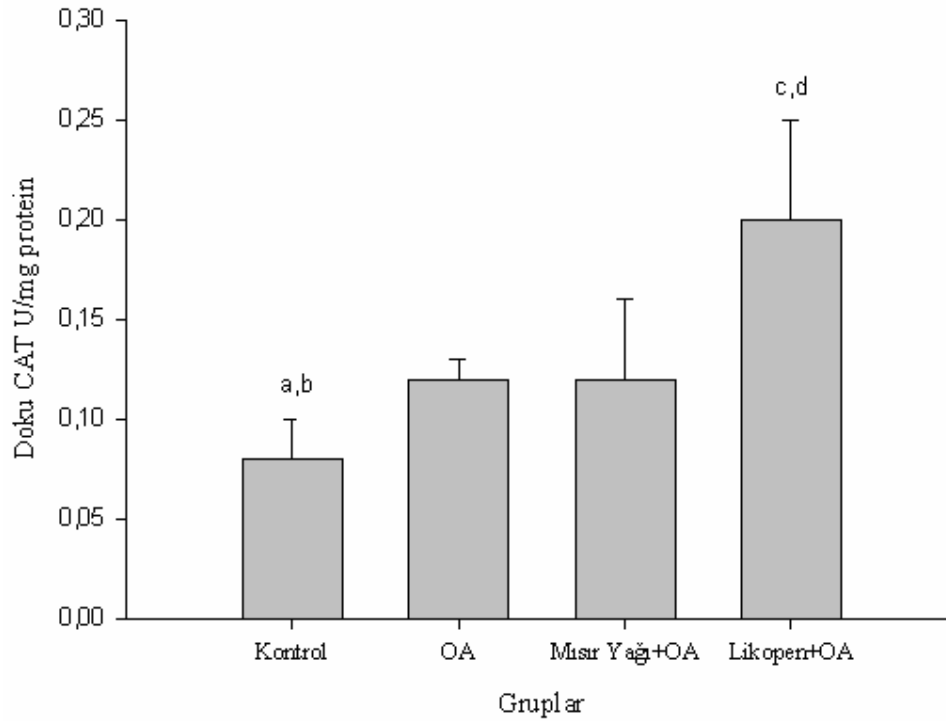


Şekil 7. Deney gruplarına ait doku GSH-Px değerleri
a: Kontrol ve OA grupları ile karşılaştırıldığında $p<0.01$
b: Mısıır yağı+OA grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

5.4. Doku CAT Aktivitesi Bulguları

Doku CAT değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında, OA, mısır yağı+OA likopen+OA gruplarında anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$). CAT değerleri OA grubu ile mısır yağı+OA grupları arasında benzerdi. CAT değerleri OA, mısır yağı+OA grupları ile karşılaştırıldığında likopen+OA grubunda belirgin olarak yüksek saptandı ($p<0.01$ ve $p<0.05$).

Grupların doku CAT değerleri şekil 8’de sunulmuştur.



Şekil 8. Deney gruplarına ait doku CAT değerleri

a: OA ile Likopen+OA grupları karşılaştırıldığında $p<0.01$

b: Mısıryağı+OA grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

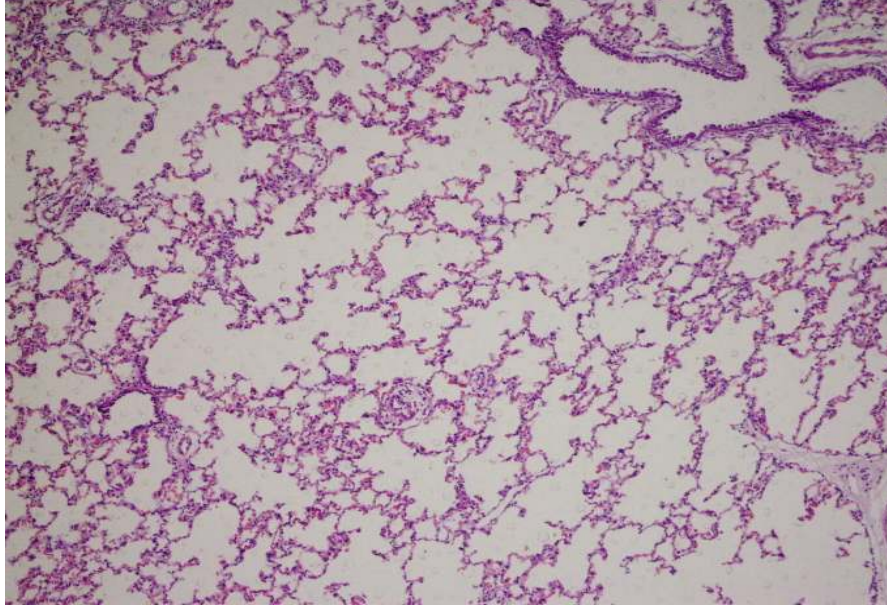
c: OA ile karşılaştırıldığında $p<0.01$

d: Mısıryağı+OA ile karşılaştırıldığında $p<0.05$

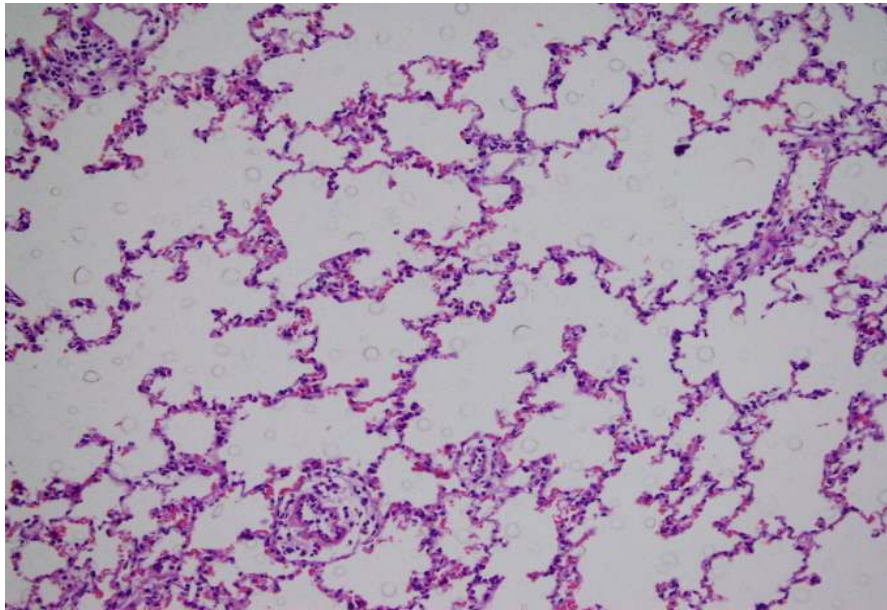
5.5. Histopatolojik bulgular

Kontrol grubunun akciğer dokusu normal histopatolojik görünümüne sahipti (Grade- 1) (şekil 9,10). OA ve mısır yağı+OA gruplarında perivasküler ödem, alveolar ödem, hemoraji, yoğun nötrofil infiltrasyonu ve alveolar yapıda

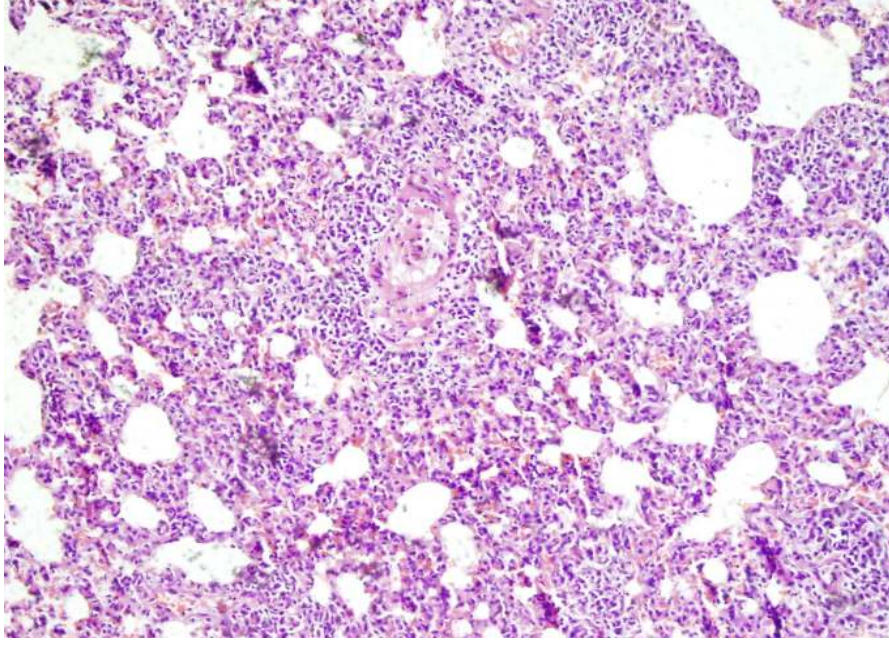
destrüksiyon paternleri mevcuttu (Grade-3 ve 4) (şekil 11,12,13,14). Likopen+OA grubunda ise nötrofil infiltrasyonunun, perivasküler ve alveolar ödemin sınırlandığı, alveolar yapının korunduğu gözlemlendi (Grade-2 ve 3) (Şekil 15,16).



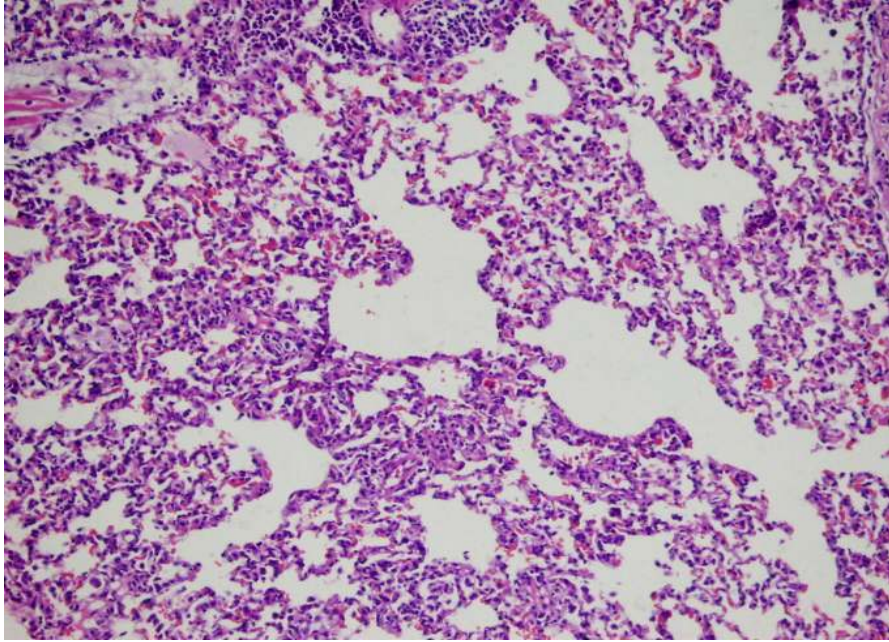
Şekil 9. Kontrol grubunda normal akciğer histopatolojik görüntüsü (HE x100)



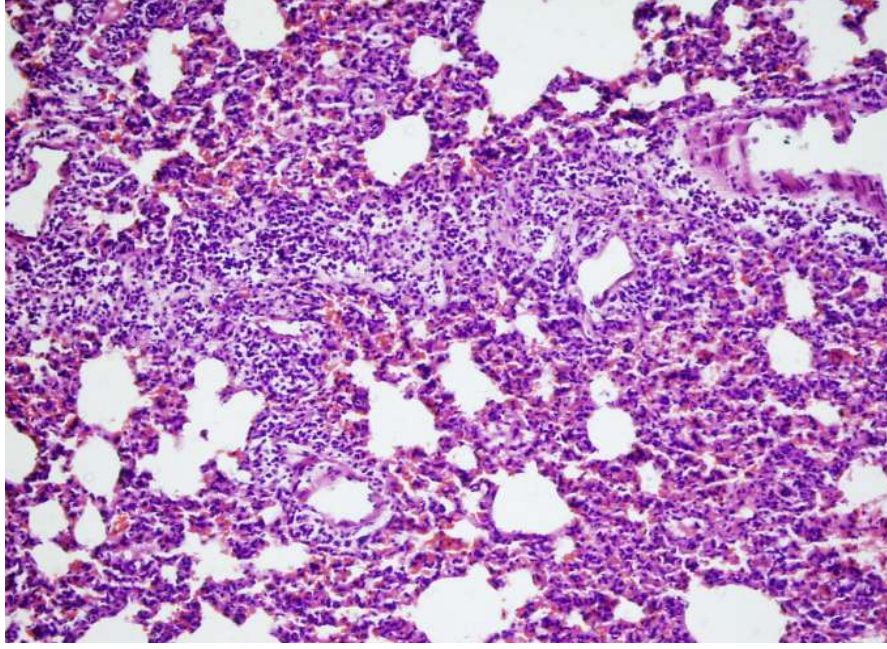
Şekil 10. Kontrol grubunda normal akciğer histopatolojik görüntüsü (HE x200)



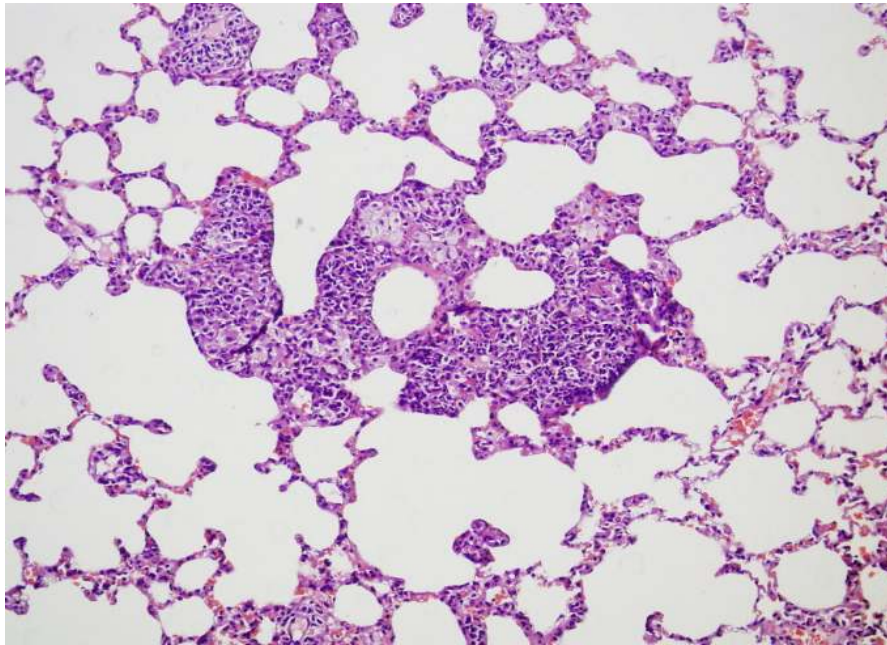
Şekil 11. OA grubunda yoğun infiltrasyon, alveolar yapıda destrüksiyon (HE x200)



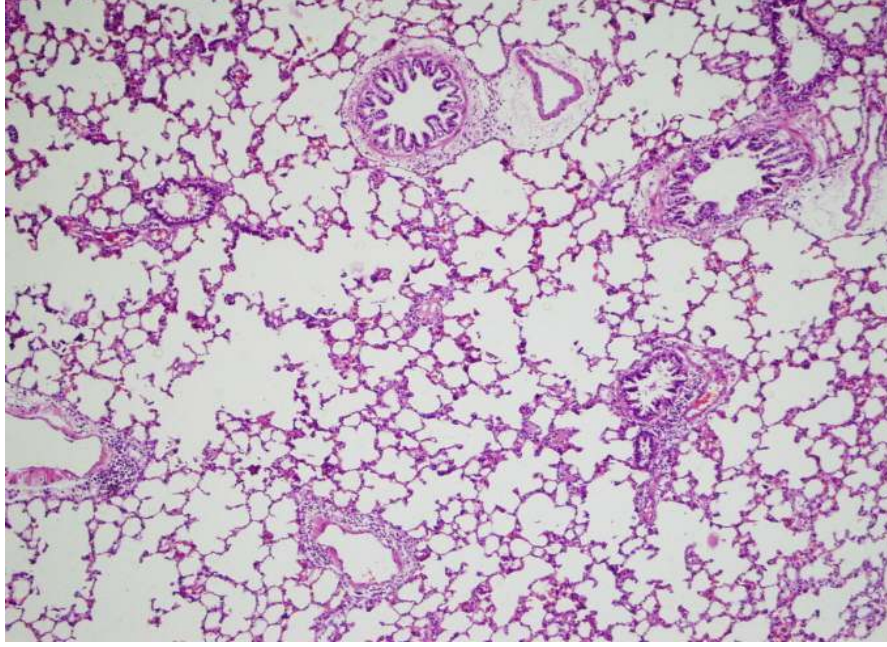
Şekil 12. OA grubunda yoğun infiltrasyon, alveolar yapıda destrüksiyon,
perivasküler ödem (HE x200)



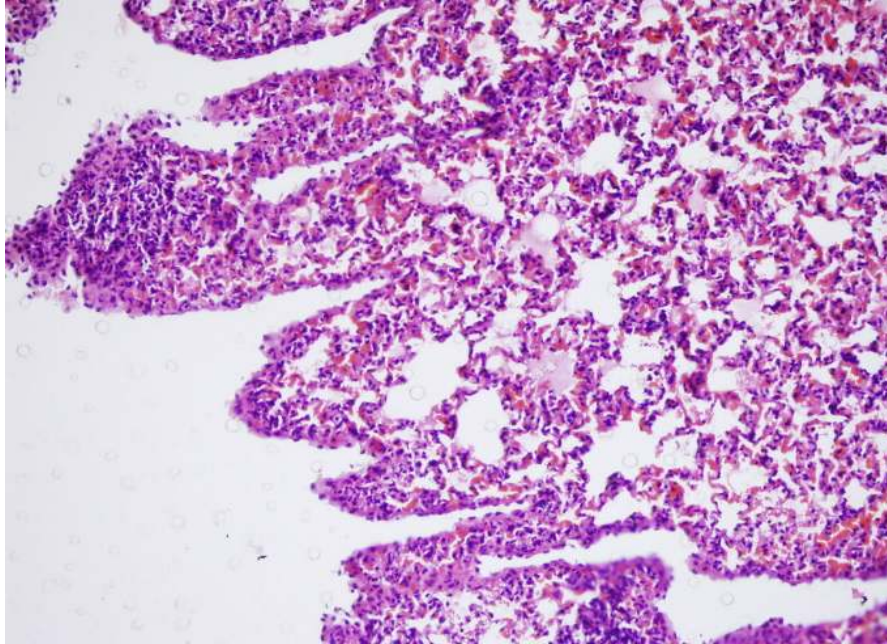
Şekil 13. Mısır yağı+ OA grubunda yoğun infiltrasyon, alveolar yapıda destrüksiyon (HE x200)



Şekil 14. Mısır yağı+OA grubunda yoğun infiltrasyon odağı, hemoraji ve alveollerde amfizematöz alanlar (HE x200)



Şekil 15. Likopen+OA grubunda hafif perivasküler ödem, daha az infiltrasyon ve bütünlüğü korunmuş alveolar yapı (HE x100).



Şekil 16. Likopen+OA grubunda periferde fokal alveolar ödem, infiltrasyon ve konjesyon (HE x200).

6. TARTIŞMA

Araştırmacılar; oleik asit indüksiyonlu akut akciğer hasarı modelinin ARDS'nin klinik, patofizyolojik ve patolojik özelliklerini gösteren iyi bir model olduğu sonucuna varmışlardır. Bu nedenle oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarı modeli, ALI/ARDS'nin mekanizmalarının anlaşılmasında ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır (63). Akut akciğer hasarında histopatolojik değişiklikler nötrofillerin artması, aktifleşmesi ve akciğer hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin oluşmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin hücre ve dokularda yol açtığı hasarlardan başlıcasıdır. Lipid peroksidasyonu ile hücre zarının yapısı ve fonksiyonu değişir. Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerin aktif aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona erer. MDA, alkoller, etan, pentan oluşan son ürünlerden bazılarıdır (125,126). Bu yüzden MDA lipid peroksidasyonunun indirekt göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Karotenoidler içinde likopenin serbest oksijen radikallerinin etkilerini önleme yönünden yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu, bu güçlü antioksidan aktivite ile hücresel yapıların, lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın in vivo olarak oksidasyonuna karşı koruyucu etki ve bazı hastalıkların önlenmesine katkı sağladığı bildirilmektedir (102,105-107).

Çalışmamızda OA ile oluşturulan akciğer hasarı sonucu serum ve akciğer dokusundaki MDA düzeyleri, SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerindeki değişiklikler ile likopenin bu parametreler üzerine etkisi araştırıldı.

Sayman ve arkadaşları, deneysel olarak hidroklorik asidin intratrakeal uygulanmasıyla akut akciğer hasarı oluşturup, plazma ve BAL MDA düzeyinin anlamlı düzeyde yükseldiğini göstermişlerdir (127). Benzer bir çalışmada Meyancı ve arkadaşları, tavşanlara intratrakeal hidroklorik asidin verilmesiyle oluşan akciğer hasarında, plazma ve BAL MDA düzeyinin anlamlı düzeyde yükseldiğini bildirmişlerdir (128). Yine aynı araştırmacının PG E1'in lipid peroksidasyonu üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmasında da benzer veriler bildirilmiştir (129).

Septik ratlarda oluşan akciğer hasarı ile ilgili bazı çalışmalarda akciğer doku MDA düzeyinde artış saptanmıştır (116,130). Bu MDA düzeyinin antioksidan özellikleri bilinen N-asetilsistein'in (116) etkisi ve metilen mavisi (130) ile azaldığı bildirilmiştir.

Karahan ve arkadaşları, ratlarda cisplatin ve gentamisinle oluşturdıkları oksidatif strese plazmada ve karaciğerde MDA seviyesindeki artışın likopenle normale indiğini göstermişlerdir (131).

Sıçanlarda N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin'in neden olduğu gastrik karsinogenezde oksidan-antioksidan denge üzerine likopenin etkisinin bakıldığı bir çalışmada kanda artan lipit peroksidasyonunun likopenle azaldığı bildirilmiştir (132).

Sıçanlarda karbontetraklorit ile oluşturulan bazı çalışmalarda oksidatif strese lipit peroksidasyon sonucu artan MDA düzeyi tespit edilmiştir (133,134) ve bu artışın verilen likopenle normale yakın değere indiği bildirilmiştir (134).

Tahıllarda bulunan bir mikotoksin olan ve oksidatif stres oluşturan T-2 toksininin tavuklarda neden olduğu lipit peroksidasyona likopenin etkisi ile ilgili bir çalışmada T-2 ile birlikte likopen verilmesi MDA düzeyinde azalmaya yol açmıştır (135).

Köksel ve arkadaşları, ratlarda oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarı modeli ile ilgili bir çalışmada akciğer doku, plazma ve BAL da MDA düzeylerinin arttığı, antioksidan olan kafeik asit fenil esterinin (CAPE) verilmesi ile önemli oranda düştüğünü bildirmişlerdir (136). Yine aynı araştırmacının benzer bir çalışmasında artan akciğer doku MDA düzeyinin N-asetilsistein'in etkisi ile kontrol değerine yaklaştığı gösterilmiştir (65).

Matos ve arkadaşları, ferriknitriлотriasetat'ın (Fe-NTA) sıçanlarda neden olduğu oksidatif strese karşı, likopenin koruyucu etkisine baktıkları bir çalışmada, kontrole göre sadece Fe-NTA verilen hayvanlarda MDA düzeyi %75 artarken, Fe-NTA uygulamadan 5 gün önce likopen verilen grupta MDA düzeyinin önemli derecede düştüğünü belirlemişlerdir (137). Histolojik olarak da yine likopenli grupta oksidatif hasarın engellendiği gösterilmiştir.

Polidori ve arkadaşları, normal sağlıklı kişiler ile orta derecede konjestif kalp hastalığı olan (sınıf II) ve ileri derecede kalp hastalığı olan (sınıf III) kişilere Vit-A ve çeşitli antioksidan maddeler (likopen, Vit-E, lutein, β -kriptoksantin, α -karoten, β -karoten) vererek bu bileşiklerin hasta plazmasındaki düzeyleri ile MDA düzeylerini karşılaştırmışlardır. Kontrollere göre hasta gruplarında, verilen bu maddelerin hepsinin plazmadaki seviyeleri önemli derecede düşük, MDA düzeyleri ise yüksek bulunmuştur. Yine bu çalışmada sınıf III hastaların MDA düzeyinin sınıf II hastalara göre önemli derecede yüksek, Vit-A, Vit-E, lutein ve likopen seviyelerinin önemli

derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara dayanarak bu tip bileşiklerin tüketilmesinin kardiyovasküler hastalıklarda yararlı olacağı bildirilmiştir (138).

Rao ve arkadaşları, sigara içimi ve diyetin, serum likopen seviyesi ve lipit peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, likopenden eksik diyet uygulanan örneklerde lipit peroksidasyon seviyesinin %25 arttığı, likopen seviyesinin de %50 azaldığını tespit etmişlerdir. Serum likopen seviyesi bakımından sigara tiryakileri ile sigara kullanmayanlar karşılaştırıldığında önemli bir farklılık bulunmazken, sigara içenlerde ardı sıra içilen 3 sigaradan önce ve son sigaradan hemen sonra alınan kan örnekleri karşılaştırıldığında, sigara sonrası serum likopen seviyesinin %40 azaldığı, lipit peroksidasyon seviyesinin ise %40 arttığı bildirilmiştir (139).

Çalışmamızda da OA verilen II. ve III. gruplarda kontrol grubuna göre serum ve doku MDA düzeylerinin yükselmesi akciğer hasarının oluştuğunu gösterirken, 5 hafta öncesinden likopen verilen IV. grupta serum ve doku MDA düzeylerinin kontrol grubu düzeylerinin bile altında bulunması ve bunun yukarıda sayılan literatürlerle uyumlu olması likopenin, lipid peroksidasyonunu engellediğinin göstergesi olarak değerlendirildi.

Sıçanlarda karbontetraklorit'in oluşturduğu oksidatif strese GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitesindeki düşüşlerin verilen likopenle düzeltildiği bildirilmiştir (134).

Breinholt ve arkadaşları, sıçanlarda, PhIP (2-amino-1-metil-6-fenilimidazol piridin)'in neden olduğu plazma lipit peroksidasyonuna ve likopenin antioksidan enzim aktivitelere etkisi konulu bir çalışmada, likopenin GSH-Px ve SOD aktivitesini artırdığını, katalaz aktivitesinde herhangi bir değişiklik yapmadığını saptamışlardır (117).

Velmurugan ve arkadaşları, sıçanlarda sodyum klorit varlığında N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin'in neden olduğu gastrik karsinogenezinde serumda GSH-Px enzim aktivitesinin düştüğünü, likopen verilmesinden sonra GSH-Px enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (132,140).

ARDS'li hastalarda lipid peroksidasyonunu engellemek için total antioksidan kapasitede artma ve glutatyon spesifik antioksidan aktivitesinde ise azalma olduğu, bunda akciğerin antioksidan savunmasında spesifik bir azalma oluşturduğu bildirilmişdir (141).

Leff ve arkadaşları, sepsisli hastalardan ARDS gelişenlerde, gelişmeyenlere göre SOD ve CAT aktivitesinde yükselme, GSH-Px aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir (142).

Liu ve arkadaşları oleik asit ile indüklenen ARDS'de erken dönemde SOD enzim aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir (71).

Metnitz ve arkadaşları, ARDS'de mikronutrientlerin rutin desteğinin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, nonenzimatik antioksidan olan α - tokoferol, β karoten, askorbat, selenyumun plazma seviyesindeki azalmayla birlikte lipid peroksidasyon ürünlerinde ilerleyici artış tespit etmişler ve bunun artan oksidatif stresi ve antioksidatif ürünlerin artan tüketimini gösterdiğini bildirmişlerdir (32). Aynı çalışmada SOD, GSH-Px enzim aktivitelerinde belirgin değişiklik oluşmamış, CAT enzim aktivitesinde hafif artış görülmüştür.

ARDS ve sepsisli hastalarda yapılan bazı çalışmalarda serumda CAT, SOD artmış, glutatyon ise azalmış olarak bulunmuştur (143-145).

Çalışmamızda serum ve doku SOD ile GSH-Px enzim aktivitesi ve doku CAT aktivitesinde OA ve mısır yağı+OA. gruplarında kontrole yakın değerler veya hafif artışlar bulunurken, likopen+OA grubunda ise diğer gruplara göre belirgin artış saptandı.

Oksidatif hasarlarda oluşan GSH-Px seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler halen tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda hastalık oluşan gruplarda GSH-Px düzeyinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde kontrole göre düşüşler gözlenmiştir (146,147). Bu çalışmamızda olduğu gibi bazı çalışmalarda ise GSH-Px seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitelerinde kontrole göre değişiklik görülmemiş veya artışlar tespit edilmiştir (32,143,148-150).

Bu çalışmada akut akciğer hasarında likopenin antioksidan aktiviteyi diğer gruplara göre artırdığı, lipid peroksidasyonunu ise engellediği tespit edildi. Akut akciğer hasarlı OA ve mısır yağı+OA gruplarında; değerlerin birbirine yakın olduğu, lipid peroksidasyonunda belirgin artış olduğu, ancak antioksidan enzim aktivitelerinde de hafif artışlar olduğu gözlemlendi.

Çalışmalardaki likopen alım dozu göz önüne alınması gereken bir heterojenite gösterir. Likopenin antioksidan olarak kullanım dozları değişkendir. Sigara içmeyen bayanlarda 6.5 mg/gün likopen, akciğer kanseri riskini azaltırken, sigara içmeyen erkeklerde 12 mg/gün ile akciğer kanseri riski azaldığı belirtilmiştir (114). Günlük 30 mg likopen egzersizin indüklediği astımda önleyici etki

göstermiştir. (151). Likopen ve diğer karotenoidlerin akciğerdeki yüksek seviyeleri oksidatif ve ozon hasarına karşı korumada ek katkılar sağlamasına rağmen, artan domates tüketimi ile akciğer kanseri riski azalması arasında doza bağımlı bir ilişki saptanmamıştır (152). Akciğer kanserinden ölen hastalarda serum karotenoid değerlerinin daha düşük olduğu ve akciğer kanserli hastalara karotenoid desteği yapılarak hastalığın seyrinin yavaşlamasına katkıda bulunulduğu da bildirilmektedir. (106). Çalışmamızda günlük 20 mg/kg dozunda verilen likopen miktarı antioksidan olarak etkin doz kabul edilebilir ve bu dozda herhangi bir yan etki bildirilmemiştir.

Köksel ve arkadaşları, oleik asit ile oluşturdukları akciğer hasarında histopatolojik olarak alveolar ödem, konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve pulmoner yapıda bozulma tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, OA uygulamasından önce antioksidan özellikleri bilinen CAPE ve NAC verilmesi ile akciğer hasarının azaldığını bildirmişlerdir (65,136). Özdülger ve arkadaşları, sepsis oluşturdukları ratların akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde interstisyel ödem, yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve pulmoner yapıda belirgin bozulma tespit etmişler ve NAC ile ödem, infiltrasyon ve pulmoner yapıdaki bozulmanın azaldığını bildirmişlerdir (116). Septik ratlarda yapılan diğer bir çalışmada ise interstisyel alanda belirgin iltihabi infiltrasyon artışı ve alveolar septalarda kalınlaşma bildirilmiştir (130). Lü ve arkadaşları ratlarda OA ile oluşturdukları ARDS'de pulmoner interstisyel ödem ve pulmoner hemorajinin, OA'dan önce SOD verilen grupta azaldığını bildirmişlerdir (71). Gültekin ve arkadaşları deneysel olarak akut pankreatit oluşturdukları ratlarda gelişen akciğer hasarında, nötrofil infiltrasyonunun, alveollerde ödem, genişleme ve duvar kalınlaşmasının, Leptin verilmesi ile azaldığını bildirmişlerdir (153).

Çalışmamızda OA ve mısır yağı+OA gruplarında yoğun nötrofil infiltrasyonu, belirgin perivasküler ve alveolar ödem, hemoraji ve alveolar yapıda bozulmanın olması yukarıdaki literatürlerle uyumlu olarak değerlendirildi. Likopen+OA grubunda ise nötrofil infiltrasyonunun, perivasküler ve alveolar ödemin hafif olması, alveolar yapının korunması, önceden verilen likopenin akciğer hasarının ilerlemesini engellediğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda gıdaya bağlı antioksidan desteğinin akciğer hasarını azaltıcı veya önleyici varsayımından yola çıkarak, antioksidan özelliği bilinen likopenin OA ile deneysel olarak oluşturulan akciğer hasarına etkisi incelendi. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan akciğer hasarında MDA düzeyinin arttığı, antioksidan enzim

aktivitelerinde ise hafif artışlar olduğu gözlemlendi. OA ve mısır yağı+OA gruplarının istatistiksel karşılaştırılmasında anlamlı fark olmaması, mısır yağının lipit peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerine katkısının olmadığını düşündürmüştür. Oysa önceden likopen verilen ratlarda MDA düzeyi artmadığı gibi enzimatik antioksidanların (SOD, CAT, GSH-Px) aktivitelerinde artış olduğu gözlemlendi. Ayrıca histopatolojik olarakta likopenle beslenen ratlarda likopen verilmeyenlere nazaran çok daha az akciğer hasarı olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, oksidatif strese karşı açık ve hassas olan akciğerlerde meydana gelebilecek hasarların önlenmesinde likopenin dolayısı ile diyetin önemli bir yeri olduğunu ve diyetle dayalı olarak yapılacak kapsamlı klinik çalışmaların bu konuyu daha iyi aydınlatacağını söyleyebiliriz.

7. KAYNAKLAR

- 1- Repine JE. Scientific perspectives on adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1992; 339: 466-469.
- 2- Artigas A, Bernard GR, Carlet J, Dreyfuss D, Gattinoni L, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS, part 2: Ventilatory, pharmacologic, supportive therapy, study design strategies, and issues related to recovery and remodeling. Acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(4 Pt 1): 1332-1347.
- 3- Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Lewine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 1967; 2: 319-323.
- 4- Petty TL, Ashbaugh DG. The adult respiratory distress syndrome. Clinical features, factors influencing prognosis and principles of management. *Chest* 1971; 60: 233-239.
- 5- Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342: 1334-1349.
- 6- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(3 Pt 1): 818-824.
- 7- Luhr OR, Antonsen K, Karlsson M, Aardal S, Thorsteinsson A, Frostel CG, Bonde J. Incidence and mortality after acute respiratory failure and acute respiratory distress syndrome in Sweden, Denmark, and Iceland. The ARF Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1849-1861.
- 8- Atabai K, Matthay MA. The pulmonary physician in critical care. 5: Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: definitions and epidemiology. *Thorax* 2002; 57: 452-458.
- 9- McHugh LG, Milberg JA, Whithcomb ME, Schoene RB, Maunder RJ, Hudson LD. Recovery of function in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 90-94.

- 10- Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, Maunder RJ. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151(2 Pt 1): 293-301.
- 11- Özdemir Ö. Pulmoner Ödem ve ARDS. Numanoglu N. (editör). *Klinik Solunum sistemi ve hastalıkları*. 2.baskı, Ankara Antıp A.Ş 2001: 477-485.
- 12- Pepe PE, Potkin RT, Reus DH, Hudson LD, Carrico CJ. Clinical predictors of the adult respiratory distress syndrome. *Am J Surg* 1982; 144: 124-130.
- 13- Moss M, Bucher B, Moore FA, Moore EE, Parsons PE. The role of chronic alcohol abuse in the development of acute respiratory distress syndrome in adults. *JAMA* 1996; 275: 50-54.
- 14- Bellingan GJ. The pulmonary physician in critical care * 6: The pathogenesis of ALI/ARDS. *Thorax* 2002; 57: 540-546.
- 15- Pugin J, Verghese G, Widmer MC, Matthay MA. The alveolar space is the site of intense inflammatory and profibrotic reactions in the early phase of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1999; 27: 304-312.
- 16- Grene KE, Wright JR, Steinberg KP, Ruzinski JT, Caldwell E, Wong WB, et al. Serial changes in surfactant-associated proteins in lung and serum before and after onset of ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1843-1850.
- 17- Tomashefski JF Jr. Pulmonary pathology of the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 1990; 11: 593-619.
- 18- Matthay MA. Conference summary: acute lung injury. *Chest* 1999; 116(Suppl.1): 119S-126S.
- 19- Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS) *Ann Intern Med* 1996; 125: 680-687.
- 20- Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996; 24: 1125-1128.
- 21- Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 1996; 24: 163-172.

- 22- Marshall RP, Webb S, Hill MR, Humphries SE, Laurent GJ. Genetic polymorphisms associated with susceptibility and outcome in ARDS. *Chest* 2002; 121(Suppl.3): 68-69.
- 23- Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; 112: 235-243.
- 24- Aslan AT, Doğru D, Özçelik U. Akut respiratuar distres sendromu. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004; 47: 209-221.
- 25- Günther A, Walmrath D, Grimminger F, Seeger W. Pathophysiology of acute lung injury. *Semin Respir Crit Care Med* 2001; 22: 247-258.
- 26- Folkesson HG, Matthay MA. Inhibition of CD18 or CD11b attenuates acute lung injury after acid instillation in rabbits. *J Appl Physiol* 1997; 82: 1743-1750.
- 27- Round table conference. Acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 675-679.
- 28- Parsey MV, Tudor RM, Abraham E. Neutrophils are major contributors to intraparenchymal lung IL-1 beta expression after hemorrhage and endotoxemia. *J Immunol* 1998; 160: 1007-1013.
- 29- Parsons PE. Mediators and mechanisms of acute lung injury. *Clin Chest Med* 2000; 21: 467-476.
- 30- Welty-Wolf KE, Carraway MS, Ortel TL, Piantadosi CA. Coagulation and inflammation in acute lung injury. *Thromb Haemost* 2002; 88: 17-25.
- 31- Zhang H, Slutsky AS, Vincent JL. Oxygen free radicals in ARDS, septic shock and organ dysfunction. *Intensive Care Med* 2000; 26: 474-476.
- 32- Metnitz PG, Bartens C, Fischer M, Fridrich P, Steltzer H, Druml W. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1999; 25: 180-185.
- 33- Pittet JF, Mackersie RC, Martin TR, Matthay MA. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1187-1205.

- 34- Günther A, Mosavi P, Heinemann S, Ruppert C, Muth H, Markart P, et al. Alveolar fibrin formation caused by enhanced procoagulant and depressed fibrinolytic capacities in severe pneumonia. Comparison with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(2 Pt 1): 454-462.
- 35- Lewis JF, Jobe AH. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 218-233
- 36- Gürsel G. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu. Ekim N, Türktas H (eds). *Göğüs Hastalıkları Acilleri*. Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi 2000; 197-210.
- 37- Dakin J, Griffiths M. The pulmonary physician in critical care 1: pulmonary investigations for acute respiratory failure. *Thorax* 2002; 57: 79-85.
- 38- Gattinoni L, Caironi P, Pelosi P, Goodman LR. What has computed tomography taught us about the acute respiratory distress syndrome? *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1701-1711.
- 39- Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138:720-723.
- 40- Abel SJ, Finney SJ, Brett SJ, Keogh BF, Morgan CJ, Evans TW. Reduced mortality in association with the acute respiratory distress syndrome (ARDS) *Thorax* 1998; 53: 292-294.
- 41- Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344: 699-709.
- 42- Amato MB, Barbas CS, 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. *N Engl J Med* 1998; 338: 347-354.
- 43- The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342: 1301-1308.
- 44- Tremblay LN, Slutsky AS. Pathogenesis of ventilator-induced lung injury: trials and tribulations. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L596-598.

- 45- Nakos G, Tsangaris I, Kostanti E, Nathanail C, Lachana A, Koulouras V, Kastani D. Effect of the prone position on patients with hydrostatic pulmonary edema compared with patients with acute respiratory distress syndrome and pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(2 Pt 1): 360-368.
- 46- Guerin C, Badet M, Rosselli S, Heyer L, Sab JM, Langevin B, et al. Effects of prone position on alveolar recruitment and oxygenation in acute lung injury. *Intensive Care Med* 1999; 25: 1222-1230.
- 47- Schuster DP The case for and against fluid restriction and occlusion pressure reduction in adult respiratory distress syndrome. *New Horiz.* 1993;1: 478-88.
- 48- Bone RC. Treatment of ARDS with diuretics, dialysis and PEEP. *Crit Care Med* 1978; 6: 136-9.
- 49- Tissue hypoxia: how to detect, how to correct, how to prevent; consensus conference: *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154: 1573-1578.
- 50- 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* 1997; 111: 769-778.
- 51- 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. *Ann Surg* 1999; 229: 467-477.
- 52- al-Saady NM, Blackmore CM, Bennett ED. High fat, low carbohydrate, enteral feeding lowers PaCO₂ and reduces the period of ventilation in artificially ventilated patients. *Intensive Care Med* 1989; 15: 290-295.
- 53- 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. *Crit Care Med* 2003; 31: 491-500.
- 54- Meduri GU, Headley AS, Golden E, Carson SJ, Umberger RA, Kelso T, Tolley EA. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280: 159-165.

- 55- Meduri GU, Chinn AJ, Leeper KV. Corticosteroid rescue treatment of progressive fibroproliferation in late ARDS: patterns of response and outcome. *Chest* 1994; 105: 1516-1527.
- 56- 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. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. *Crit Care Med* 1998; 26: 15-23.
- 57- Bernard GR, Lucht WD, Niedermeyer ME, Snapper JR, Oqletree ML, Brigham KL. Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function. *J Clin Invest* 1984; 73:1772-1784.
- 58- Brower RG, Ware LB, Berthiaume Y, Matthay MA. Treatment of ARDS. *Chest* 2001; 120: 1347-1367.
- 59- Spies CD, Reinhart K, Witt I, Meier-Hellmann A, Hannemann L, Bredle DL, Schaffartzik W. Influence of N- acetylsistein on indirect indicators of tissue oxygenation in septic shock patients: results from a prospective, randomized, double-blind study. *Crit Care Med* 1994; 22: 1738-1746.
- 60- Hudson LD, Steinberg KP. Epidemiology of acute lung injury and ARDS. *Chest* 1999; 116 (Suppl.1): 74S-82S.
- 61-Anzueto A, Baughman RP, Guntupalli KK, Weg JG, Wiedemann HP, Raventos AA, et al. Aerosolized surfactant in adults with sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1996; 334: 1417-1421.
- 62- Ogura H, Cioffi WG, Offner PJ, Jordan BS, Johnson AA, Pruitt BA Jr. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary function after sepsis in a swine model. *Surgery* 1994; 116: 313-321.
- 63- Schuster DP. ARDS: clinical lessons from oleic acid model of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 245-260.
- 64- Syrbu S, Thrall RS, Smilowitz HM. Sequential appearance of inflammatory mediators in rat bronchoalveolar lavage fluid after oleic acid-induced lung injury. *Exp Lung Res* 1996; 22: 33-49.

- 65- Koksel O, Cinel I, Tamer L, Cinel L, Ozdulger A, Kanik A, et al. N-acetylcysteine inhibits peroxynitrite-mediated damage in oleic acid-induced lung injury. *Pulm Pharmacol Ther* 2004; 17: 263-270.
- 66- 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. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 424-428.
- 67- Weiner RE, Sasso DE, Gionfriddo MA, Thrall RS, Syrbu S, Smilowitz HM, Vento J. Early detection of oleic acid-induced lung injury in rats using (111) In-labeled anti-rat intercellular adhesion molecule-1. *J Nucl Med* 2001; 42: 1109-1115.
- 68- John D, Lang MD, Philip J, Mcardle MD. Oxidant-Antioxidant Balance in Acute Lung Injury. *Chest* 2002; 122: 314S-320S.
- 69- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271: 1424-1437.
- 70- Butler AR, Flitney FW, Williams DL. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: a chemist's perspective. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 18-22.
- 71- 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 Radic Res* 2004; 38: 1281-1287.
- 72- Özdemir G. Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller). *Roche Bilimsel Eserler Serisi İstanbul* 1993: 20-26.
- 73- McCord JM, Gao B, Leff J, Flores SC. Neutrophil-generated free radicals: possible mechanisms of injury in adult respiratory distress syndrome. *Environ Health Perspect* 1994 ; 102 (Suppl 10): 57-60.
- 74- Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
- 75- Shipovskov S, Ferapontova EE, Gazaryan I, Ruzgas T. Recombinant horseradish peroxidase and cytochrome c-based two electrode system for detection of superoxide radicals. *Bioelectrochemistry* 2004; 63: 277-280.

- 76- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 40-54
- 77- DüNDAR Y, Aslan R. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılmasında ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller-Antioksidanlar. Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi İnsizyon 1999; 2: 134-142.
- 78- Aydın A, Sayal A, Işimer A. Oksijen Radikalleri ve biyolojik sistemlerdeki rolü. Gata Bülteni 1997; 39: 270-274.
- 79- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clinical Biochemistry 2004; 37: 112-119.
- 80- Chatgililoglu C, O'Neill P. Free radicals associated with DNA damage. Experimental Gerontology 2001; 36: 1459-1471.
- 81- Kim SY, Kwon OJ, Park JW. Inactivation of catalase and superoxide dismutase by single oxygen derived from photoactivated dye. Biochimie 2001; 83: 437-444.
- 82- Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksitin rolleri ve patolojik halleri. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1997; 4: 453-461.
- 83- Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. Annu Rev Biochem 1994; 63: 175-195.
- 84- Blanchard B, Dendane M, Gallard JF, Houee-Levin C, Karim A, Payen D, et al. Oxidation, nitrosation and nitration of serotonin by nitric oxide-derived nitrogen oxides: biological implications in the rat vascular system. Nitric Oxide Biol Chem 1997; 16: 442-452.
- 85- Radi R, Peluff G, Alvarez MN, Naviliat M, Cayota A. Unraveling peroxynitrite formation in biological systems. Free Rad Biol Med 2001; 30: 463-488.
- 86- Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I, Utsumi K. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. Curr Med Chem 2003; 10: 2495-2505.
- 87- Kavas Özelçi G. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri 1989; 1: 1-6.

- 88- Chiarugi P. Reactive oxygen species as mediators of cell adhesion. *Ital J Biochem* 2003; 52: 28-32.
- 89- Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(Suppl.5): 715-724.
- 90- Aslan R. Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımında antioksidanlar. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 1999; 8: 475-480.
- 91- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med* 1991; 91: 2S-13S.
- 92- Mathers J, Fraser JA, McMahon M, Saunders RD, Hayes JD, McLellan LI. Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem Soc Symp* 2004; 71: 157-176.
- 93- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-879.
- 94- Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1740: 101-107.
- 95- Bramley PM. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J Exp Bot* 2002; 53: 2107-2113.
- 96- Agarwal A, Shen H, Agarwal S, Rao AV. Lycopene Content of Tomato Products: Its Stability, Bioavailability and In Vivo Antioxidant Properties. *J Med Food* 2001; 4: 9-15.
- 97- Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 2000; 54: 233-236.
- 98- Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 563-569.
- 99- Giovannucci E. Tomato products, lycopene, and prostate cancer: a review of the epidemiological literature. *J Nutr* 2005; 135: 2030S-2031S.
- 100- Erhardt JG, Meisner C, Bode JC, Bode C. Lycopene, beta-carotene, and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1219-1224.

- 101- Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 1992; 122: 2161-2166.
- 102- Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Biotechnol* 2000; 20:293-334.
- 103- Anonymous Lycopene. Monograph. *Altern Med Rev* 2003; 8: 336- 342.
- 104- Bhuvaneswari V, Nagini S. Lycopene: a review of its potential as an anticancer agent. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2005; 5: 627-635.
- 105- Reifen R, Nissenkorn A, Matas Z, Bujanover Y. 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J Gastroenterol* 2004; 39: 514-519.
- 106- Heber D, Lu QY. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002; 227: 920-923.
- 107- Matos HR, Di Mascio P, Medeiros MH. Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys* 2000; 383: 56-59.
- 108- Matos HR, Marques SA, Gomes OF, Silva AA, Heimann JC, Di Mascio P, Medeiros MH. Lycopene and beta-carotene protect in vivo iron-induced oxidative stress damage in rat prostate. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 203-210.
- 109- Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ* 2000; 163: 739-744.
- 110- Rao AV, Fleshner N, Agarwal S. Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer* 1999; 33: 159-164.
- 111- Pellegrini N, Riso P, Porrini M. Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition* 2000; 16: 268-271.
- 112- Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 1998; 33: 981-984.
- 113- Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation

- of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233: 658-662.
- 114- Michaud DS, Feskanich D, Rimm EB, Colditz GA, Spezier FE, Willett WC, Giovannucci E. Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 990-997.
 - 115- Velmurugan B, Bhuvaneswari V, Nagini S. Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis. *Fitoterapia* 2002; 73: 604-611.
 - 116- Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, Cinel L, Avlan D, Unlu A, et al. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock* 2003; 19: 366-372.
 - 117- Breinholt V, Lauridsen ST, Daneshvar B, Jakobsen J. Dose response effects of lycopene on selected drug- metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Letters* 2000; 154: 201-210.
 - 118- Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods in Enzymology* 1984; 105: 328-331.
 - 119- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979; 95: 351-358.
 - 120- Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
 - 121- Durak I, Yurtarslan Z, Canpolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium reduction. *Clin Chim Acta* 1993; 214: 103-104.
 - 122- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.
 - 123- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
 - 124- Lowry OH, Rosgrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.

- 125- Bunnell E, Pacht ER. Oxidized glutathione is increased in the alveolar fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1174-1178.
- 126- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-340.
- 127- Sayman S, Meyancı Köksal G, Erdamar S, Uzan S, Öz H. Tavşanlarda Akut Akciğer Hasarında Nedokromil Sodyumun Tedavideki Yerin Araştırılması. *GKD Anestezi Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2003; 9: 52-55.
- 128- Meyancı G, Arıcıoğlu F, Oz H, Aydemir A. The effects of intratracheal dexamethasone on lipid peroxidation in acute lung injury. *Cerrahpaşa J Med* 2001; 32: 20-24.
- 129- Meyancı Köksal G, Sayılğan C, Finci A, Uzan S, Oz H. Akut akciğer hasarının tedavisinde erken dönemde intratrakeal PG E1'in lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. *GKD Anestezi Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2004; 10: 108-110.
- 130- Demirbilek S, Sızanlı EE, Karaman A, Karadağ N, Bayraktar N, Türkmen E, Ersoy MÖ. Septik ratlarda metilen mavisinin akciğer hasarı üzerine etkileri. *İnönü Ün Tıp Fak Dergisi* 2004; 11: 207-211.
- 131- Karahan İ, Yılmaz S, Ateşşahin A. Ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006; 20: 39-43.
- 132- Velmurugan B, Nagini S. Combination chemoprevention of experimental gastric carcinogenesis by s-allylcysteine and lycopene: modulatory effects on glutathione redox cycle antioxidants. *J Med Food* 2005; 8: 494-501.
- 133- Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G, Dede S, Oto G, Alkan M. Karbontetrachlorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda Vitamin E+ Selenyum ve Nigella sativa (Çörekotu)'nun karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. *Türk J Vet Anim Sci* 2003; 27: 141-152.
- 134- Kurt H. Sıçanlarda Karbon Tetraklorit'in (CCl₄) Oluşturduğu Oksidatif Stresin Kateşin ve Likopen ile Önlenmesi. Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AD. 2003.

- 135- Leal M, Shimada A, Ruíz F, González de Mejía E. Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. *Toxicol Lett* 1999; 109:1-10.
- 136- Koksel O, Kaplan MB, Ozdulger A, Tamer L, Degirmenci U, Cinel L, et al. Oleic acid-induced lung injury in rats and effects of caffeic acid phenethyl ester. *Exp Lung Res.* 2005; 31: 483-96.
- 137- Matos HR, Capelozzi VL, Gomes OF, Mascio PD, Medeiros MH. Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys* 200; 396: 171-177.
- 138- Polidori MC, Savino K, Alunni G, Freddio M, Senin U, Sies H, et al. Plasma lipophilic antioxidants and malondialdehyde in congestive heart failure patients: relationship to disease severity. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 148-152.
- 139- Rao AV, Agarwal S. Effect of diet and smoking on serum lycopene and lipid peroxidation. *Nutr Res* 1998; 18: 713-721.
- 140- Velmurugan B, Bhuvaneswari V, Burra UK, Nagini S. Prevention of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and saturated sodium chloride-induced gastric carcinogenesis in Wistar rats by lycopene. *Eur J Cancer Prev* 2002; 11: 19-26.
- 141- Gadek JE, Pacht ER. The interdependence of lung antioxidants and antiprotease defense in ARDS. *Chest* 1996; 110(Suppl.6): 273S-277S.
- 142- Leff JA, Parsons PE, Day CE, Taniguchi N, Jochum M, Fritz H, et al. Serum antioxidants as predictors of adult respiratory distress syndrome in patients with sepsis. *Lancet* 1993; 341: 777-780.
- 143- Leff JA, Parsons PE, Day CE, Moore EE, Moore FA, Oppegard M, Repine J. Increased serum catalase activity in septic patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 985-989.
- 144- Pacht ER, Timerman AP, Lykens MG, Merola AJ. Deficiency of alveolar fluid glutathione in patients with sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1991; 100: 1397-1403.
- 145- Brigham KL. Role of free radicals in lung injury. *Chest* 1986; 9: 59-63.

- 146- Silva CR, Greggi Antunes LM, Bianchi ML. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43: 561-566.
- 147- Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 2005; 212: 116-123.
- 148- Schmidt R, Luboeinski T, Markart P, Ruppert C, Daum C, Grimminger F, et al. Alveolar antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J* 2004; 24: 994-999.
- 149- Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43: 145-150.
- 150- Naziroglu M, Karaoglu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 2004; 195: 221-230.
- 151- Neuman I, Nahum H, Ben-Amotz A. Reduction of exercise-induced asthma oxidative stress by lycopene a natural antioxidant. *Allergy* 2000; 55: 1184-1189.
- 152- Arab L, Steck-Scott S, Fleishauer AT. Lycopene and the lung. *Exp Biol Med* (Maywood) 2002; 227: 894-899.
- 153- Gultekin FA, Kerem M, Tatlicioglu E, Aricioglu A, Unsal C, Bukan N. Leptin treatment ameliorates acute lung injury in rats with cerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2932-2938.

8. ÖZGEÇMİŞ

04.09.1972 tarihinde Elazığ’ da doğdum. İlkokulu Namık Kemal ilkokulunda, ortaokulu Mezre ortaokulunda okudum. Lise öğrenimimi Mehmet Akif Ersoy Lisesinde tamamlayarak 1988 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 1994 yılında mezun olarak Isparta ili Yalvaç ilçesine bağlı Kumdanlı Sağlık Ocağında mecburi hizmetimi yaptım. Askerlik hizmetimi Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kan Merkezi Biriminde yaptım. Elazığ’da sırası ile Cumhuriyet Sağlık Ocağı, İzzetpaşa Sağlık Ocağı Adli Tıp Birimi, Rüstempaşa Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak görev yaptım. Eylül 2002 tarihinde TUS’u kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.