

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BİLATERAL İZOLE AKCİĞER KONTÜZYONU YAPILAN
RATLARDA VİTAMİN C VE VİTAMİN E ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. SEDAT GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. RASİH YAZKAN

II. DANIŞMAN (PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ)
Doç. Dr. EFKAN UZ

2013 – ISPARTA

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BİLATERAL İZOLE AKCİĞER KONTÜZYONU YAPILAN
RATLARDA VİTAMİN C VE VİTAMİN E ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. SEDAT GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. RASİH YAZKAN

II. DANIŞMAN (PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ)
Doç. Dr. EFKAN UZ

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi Tarafından 2185-TU-10 Proje numarası ile desteklenmiştir.

2013 – ISPARTA

ÖNSÖZ

Asistanlığım sürecince bilgi ve tecrübeleriyle eğitimimde büyük katkıları olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm, hekimlik ve cerrahi sanatını öğrenmem ve geliştirmemde büyük bir sabır ve hoşgörülüyle her zaman yanımda olan çok kıymetli hocalarım Doç. Dr. Mehmet SIRMALI, Yrd. Doç. Dr. Rasih YAZKAN, Yrd. Doç. Dr. İsa DÖNGEL'e,

Bu çalışmanın yapılandırılmasında, cerrahi sanatını öğrenmemde benden tecrübe ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet SIRMALI, Yrd. Doç. Dr. Rasih YAZKAN, çalışmanın yürütülmesinde ve tamamlanmasında destekleri ile sürekli yanımda olan hocam Doç. Dr. Efkân UZ'a,

Çalışmamızı finansal olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Deney düzeneğinin hazırlanmasında ve oluşturulmasında bilgi ve tecrübelerini büyük bir özveri ile paylaşan Afyon Kocatepe Üniversitesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Okan SOLAK hocama,

Çalışmanın deneysel aşamasında tüm imkânları ile destek olan Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı yönetimi ve çalışanlarına ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım hocalarım, asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

“Ömrümü, hayat yapan” sevgili eşim Ecz. Tuba Atakul GÜNEŞ'e teşekkürlerimi sunarım

Dr. Sedat GÜNEŞ

İÇİNDEKİLER

İç Kapak.....	I
Önsöz	II
İçindekiler.....	III
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	VI
Şekiller Dizini	VII
Tablolar Dizini	VIII
Grafikler Dizini	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Akciğer	2
2.1.1 Toraksın Anatomik Yapısı.....	2
2.1.2 Akciğer Embriyolojisi ve Fizyolojisi.....	3
2.1.3 Akciğer Histolojisi.....	4
2.2 Toraks Travması.....	7
2.2.1 Künt Toraks Travması.....	7
2.2.2 Akciğer Kontüzyonu.....	8
2.2.2.1 Akciğer Kontüzyonunda Klinik.....	10
2.2.2.2 Akciğer Kontüzyonunda Radyoloji.....	11
2.2.2.3 Akciğer Kontüzyonunda Tedavi Yaklaşımı.....	12
2.2.2.4 Akciğer Kontüzyonunda Hücresel ve Moleküler Yanıt	13
2.3 Serbest Oksijen Radikalleri	14
2.3.1 Hücredeki Serbest Radikal Kaynakları.....	16
2.3.2 Serbest Radikallerin Hücreler Üzerine Etkileri.....	16
2.3.2.1 Lipid Peroksidasyonu ve R-OOH	16
2.3.2.2 Protein Oksidasyonu.....	17
2.3.2.3 NO	17
2.4 Antioksidan Savunma Sistemleri.....	19
2.4.1 Endojen Antioksidanlar	20
2.4.1.1 Süperoksid Dismutaz	20

IV

2.4.1.2	Myeloperoksidaz.....	20
2.4.1.3	Glutasyonperoksidaz.....	21
2.4.1.4	Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar	22
2.4.2	Eksojen Antioksidanlar.....	22
2.4.2.1	İlaç Eksojen Antioksidanlar.....	22
2.4.2.2	Vitamin Eksojen Antioksidanlar.....	22
2.4.2.2.1	Vitamin C.....	22
2.4.2.2.2	Vitamin E.....	24
3.	MATERYAL METOD.....	25
3.1.	Materyal.....	25
3.1.1.	Deney Hayvanları.....	25
3.1.2.	Kullanılan Malzemeler ve Aletler.....	25
3.1.3.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	26
3.2.	Metod.....	27
3.2.1.	Deney Model.....	28
3.2.2.	Anestezi ve Doku Örnekleri.....	29
3.2.3.	Numunelerin Korunması, Homojenizasyonu ve Deney İçin Hazırlanması.....	31
3.2.4.	Dokularda Biyokimyasal Analizler.....	31
3.2.4.1.	Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Tayini	31
3.2.4.2.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Tayini	32
3.2.4.3.	Nitrik Oksit Miktarının Tayini.....	32
3.2.4.4.	Myeloperoksidaz Aktivite Tayini.....	33
3.2.4.5.	Numunelerde Protein Tayini	33
3.2.5.	Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi	33
3.2.6.	İstatistiksel Analizler.....	36
4.	BULGULAR.....	37
4.1.	Rat Ağırlıkları.....	39
4.2.	pH.....	40
4.3.	pCO ₂	41
4.4.	pO ₂	42
4.5.	SO ₂	43

4.6. Nitrik Oksit.....	44
4.7. Glutasyon Peroksidaz.....	45
4.8. Süperoksit Dismutaz.....	46
4.9. Myeloperoksidaz.....	47
4.10. Patoloji skoru gruplar arası karşılaştırılması.....	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	49
6. ÖZET.....	53
7. SUMMARY.....	55
8. KAYNAKÇA.....	57

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ALI: Acute Lung Injury (Akut akciğer hasarı)

ARDS: Akut respratuvar distres sendromu

ATP: Adenozintrifosfat

BTT: Bilgisayarlı toraks tomografisi

DNA: Deoksiribo nükleik asid

GSH-Px : Glutasyonperoksidaz

H₂O₂: Hidrojen peroksit

HOCl: Hipoklorik asit

IgG: İmmunglobulin G

MPO: Miyeloperoksidaz

NO: Nitrik oksitten

O₂: Oksijen

O₂⁻ : Süperoksit anyonu

OH⁻ : Hidroksil anyonu

ONOO⁻ : Deriveperoksinitrit

pCO₂: Parsiyel karbondioksit basıncı

PMNL: Polimorfonüveli lökosit

pO₂: Parsiyel oksijen basıncı

SOD: Süperoksitdismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

Vit C: Vitamin C

Vit E: Vitamin E

Şekiller ve Resimler Dizini

Şekil 1: Akciğer gelişiminin şematik gösterimi	3
Şekil 2: Akciğer gelişim sürecinde değişen yapısının demonstrasyonu	4
Şekil 3: Akciğer alveol yapısının elektron mikroskopik görünümü.....	6
Şekil 4: Alveolokapiller membran hasarı ve solunum yetmezliği.....	10
Şekil 5: NO'nun akut akciğer travmasındaki rolü.....	18
Şekil 6: Lexon platformu.....	27
Şekil 7: Travma deney düzeneği.....	28
Resim 1: Akciğer makroskopik görünümü.....	34
Resim 2: Kontüzyon oluşturulan akciğerin mikroskopik görüntüsü.....	35
Resim 3: Kontüzyon oluşturulan akciğerin mikroskopik görüntüsü(Skor 4)	35

Tablolar Dizini

Tablo 1: Akciğer parankiminin mevcut hücrelerin oranı ve yüzey alan ilişkisi.....	6
Tablo 2: Zaman ve gruplara yapılan işlemlerin şematik özeti	30
Tablo 3: Çalışmada yapılan tüm deneysel verilerin özeti.....	38
Tablo 4: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Rat Ağırlıkları	39
Tablo 5: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre pH Düzeyleri	40
Tablo 6: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre PCO ₂ Düzeyleri	41
Tablo 7: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre PO ₂ Düzeyleri	42
Tablo 8: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre SO ₂ Düzeyleri	43
Tablo 9: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre NO Düzeyleri	44
Tablo 10: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre GSH-Px Düzeyleri	45
Tablo 11: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre SOD Düzeyleri	46
Tablo 12: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre MPO Düzeyleri	47
Tablo 13: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Patoloji Skorları	48

Grafikler Dizini

Grafik1 : Rat ağırlıklarının gruplara ve günlere göre dağılımı	39
Grafik 2 : pH değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi	40
Grafik 3 : pCO ₂ değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi	41
Grafik 4 : pO ₂ değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi	42
Grafik 5 : SO ₂ değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi	43
Grafik 6 : NO enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri	44
Grafik 7 : GSH-Px enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri	45
Grafik 8 : SOD enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri	46
Grafik 9 : MPO enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri	47
Grafik 10 : Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Patoloji Skorları.....	48

1. GİRİŞ

Toraks travmaları hızlanan yaşam koşulları nedeniyle artmakta, sıklık açısından kafa ve ekstremitte travmalarından sonra üçüncü sırada yer almaktadır (1). Akciğer kontüzyonu künt toraks travmalarında en sık görülen intratorasik yaralanmadır (2-5). Toraks travmalarında, doğru tanı ve uygun tedavi yaklaşımı bu tür yaralanmalarda morbidite ve mortalitenin azaltılmasının temelini oluşturur. Künt toraks travmasının, akut akciğer hasarı, pnömoni ve akut solunum yetmezliği sendromu gibi bağımsız komorbid durumların gelişimi ile mortalitesi %10-25 arasında değişmektedir (4, 6-8).

İlk radyografik objektif değerlendirmede akciğer kontüzyonu, sınırları keskin olmayan, difüz, yamalı tarzda ve birleşme gösteren gölgelenmeler şeklinde saptanabilir (9). Bilgisayarlı toraks tomografisi (BTT) diğer modalitelere üstünlüğü ve kolay ulaşımı nedeniyle parankim yaralanmasının değerlendirilmesinde öncelikli tanı aracıdır (9).

Akciğer kontüzyonunun patofizyolojisinde esas olan ventilasyon-perfüzyon kaçağıdır, ödem artması, komplians kaybı ve intrapulmoner şant artması bu kısır döngünün basamaklarıdır. Klinikte hipoksemi ve hiperkarbi solunum sayısındaki artışa eşlik eder (10).

Bilimsel olarak serbest oksijen radikallerinin (SOR) hücrelerin iletişim sisteminde önemli rol aldığı bilinmektedir (11). SOR'lar bölgesel ve sistemik mediyatörler vasıtası ile deoksiribonükleik asit (DNA) mutasyonundan apoptozise kadar birtakım kaskadları başlatabilir.

Vitamin C (Vit C) adenozin trifosfat (ATP) üretiminde ortaya çıkan SOR için güçlü bir antioksidandır (11, 12). Vitamin E (Vit E) vücutta oluşan serbest radikallerin neden olduğu hücresel hasarı nötralize eden bir antioksidandır (12).

Çalışmamızın amacı akciğer kontüzyonunda mortalite ve morbiditenin azalması için erken dönemde uygulanan vitamin C ve vitamin E etkinliğinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akciğer

2.1.1 Toraksın Anatomik Yapısı

Toraks, akciğer ve kalbi içeren, üst ekstremiteye ve kafaya destek sağlayan vücudun üst kısmıdır. Toraks esnekliğiyle akciğerin kompliyansına yardımcı olmaktadır. Toraks içi organları koruyan bilateral on iki adet kaburga akciğer kompliyansı için kova sapı hareketi yaparak toraks çapını genişletmektedir.

Toraksın iç yüzeyi endotorasik fasya ve pariyatel plevra ile örtülü iken hiler bölgeden mediastene tutunan akciğerler visseral plevra ile kaplıdır. Pariyatel ve visseral plevra hilus bölgesinde birleşir (13).

Topografik olarak anatomide belli başlı noktalar toraks organlarının lokalizasyonlarını tariflemek için kullanılır. Bunlar; angulus sterni (Luis açısı), meme başı, skapula medial kenarı ve alt ucu, ksifoit çıkıntısıdır (14).

Kaburgalar arka tarafta vertebraların korpus ve transvers prosesleri ile baş ve boyun kısımları aracılığı ile sıkı bir bağlantı halindeyken ön tarafta korpus sterni ile kostakondral ve sternokondral bileşkeleri oluşturarak daha esnek ve yumuşak birleşim göstermektedir.

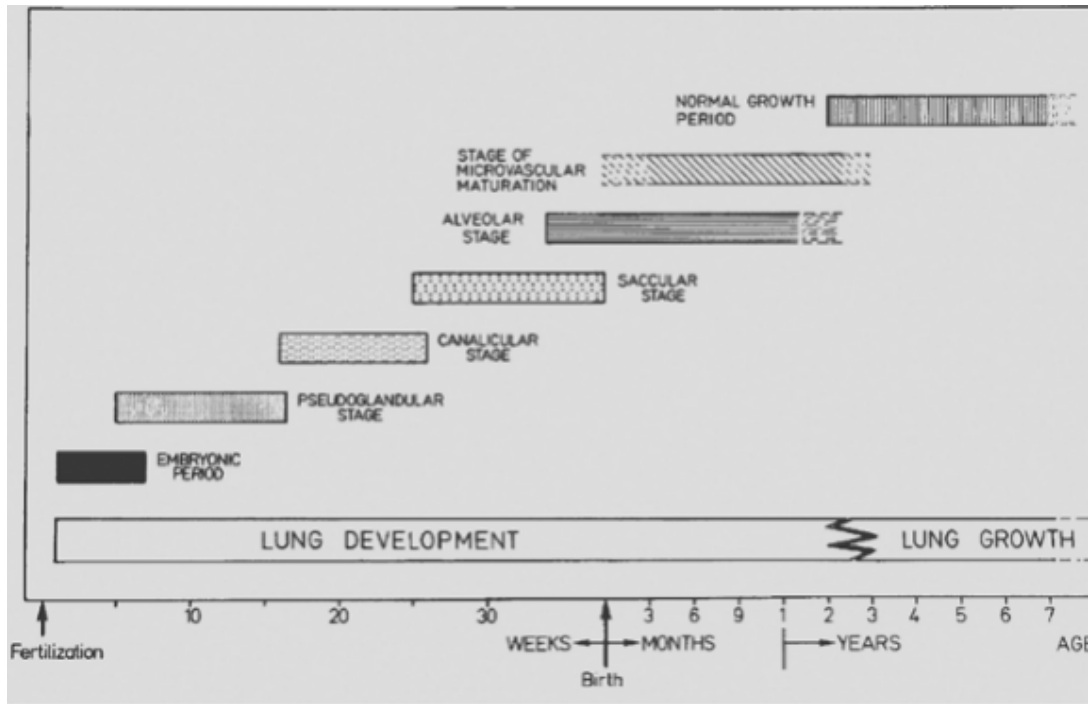
Birinci kaburga skapula ve klavikula altında korunaklı bir halde kontrolateral birinci kaburga ile torasik inletini oluşturmaktadır. Torasik outlet ise 6, 7, 8, 9 ve 10. kaburgaların anteriorda kırkırdak yapılarının birleşmesi ile oluşan angulus kosta, posteriordan 11, 12. Kosta, torakal 12. vertebra hizasında diyaframın oluşturduğu yapıdır (15).

2.1.2 Akciğer Embriyolojisi Ve Fizyolojisi

Pulmoner embriyolojinin tarihinde araştırmacılar uzun yıllar çok bilinmeyenli bir denklemi çözmek için uğraşmışlardır. 1904 yılında Krogh ve 1967 yılında Hıgues balıklar, kuşlar ve anfibik canlılar için çalışma yapmışlardır. 1956 yılında Witschi

memeli ve primatlar üzerinde odaklanmıştır. 1972 yılında Hislop akciğer gelişiminin özelliklerini tanımlarken 1988 yılında Thurlback diğer yapılarla önemli ilişkilerini tanımlamıştır (13).

Akciğer parankiminin embriyogenezi 5 önemli safhada (Şekil 1) incelenirken bu safhalar birbirlerinden zaman olarak keskin sınırlarla tam olarak ayrılamazlar. Bunlar embriyonik faz, psödoglandular faz, kanalikular faz ve sakküler-alveolar olarak ayrılan terminal sac fazdır.



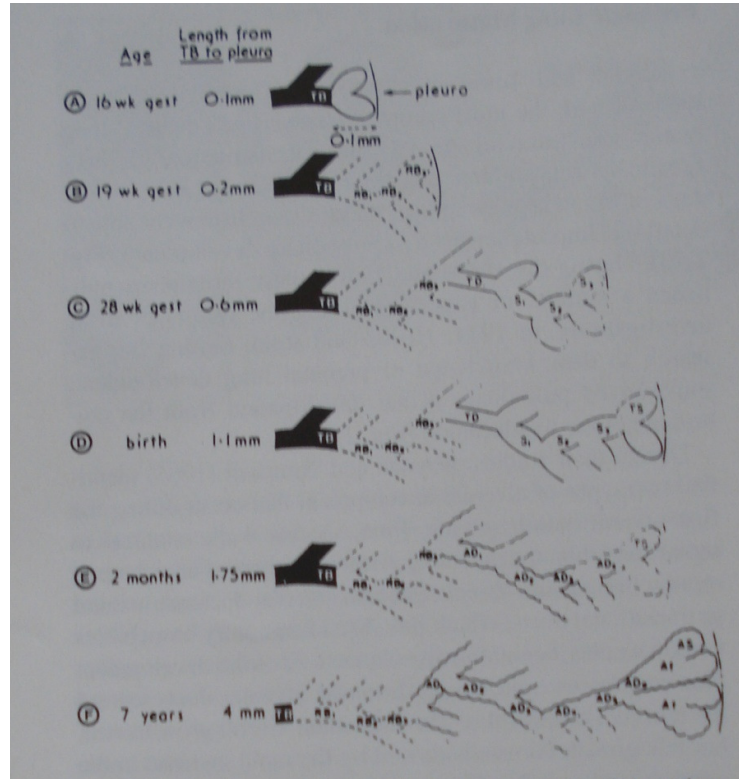
Şekil 1: Akciğer gelişiminin şematik gösterimi (13).

Dunnill ve arkadaşları 1962 yılında 3 ay-1 yıl yaş aralığındaki akciğer doku değerlendirmelerinde 127 milyon alveol rapor etmişlerdir. Sekiz yaşından sonra alveol gelişimi denovo yöntemi ile gelişir ama çok daha yavaştır (Şekil 2). Dunnill 9 yaşında bir akciğer için 280 milyon alveol olduğunu bildirmiştir, bu yaştan sonra alveol sayısı artmaz fakat yüzey alanı genişler (13).

2.1.3 Akciğer Histolojisi

Akciğerde hava, doku ve kan gibi 3 önemli kompartıman uyumlu olarak çalışmaktadır. Doku, hava ve kan arasında yapısal bir bariyer olmakta ve daimi ilişki sağlamaktadır. Trakeadan bronşa ve bronşiole kadar hava yolunun yapısı basamaklı olarak değişir. Mukoza, müsküler tabaka ve konnektif doku genel bir şema olarak havayolunun ortak elemanıdır.

Havayolunun epitelyum yapısına bakıldığında; respiratuar epitelyum yalnızca çok katlı silli kolumnar özelliktedir ve çok sayıda goblet hücreleri bulunur. Silli hücreler distale doğru uzanan bronşiolerde de bulunur fakat havayolunun çapından dolayı yükseklik kaybı vardır. Bronşial seviyesinde goblet hücresi azalırken Clara hücreleri (CH) boy gösterir. Araştırmacılar, solunum epitelyumunda nöroendokrin hücreler olan Feyrter, Kulchitsky, amine precursor uptake and decarboxylation (APUD) ve küçük granüler hücreler tanımlamışlardır (13).



Şekil 2: Akciğer gelişim sürecinde değişen yapısının demonstrasyonu (13).

Trakea ve bronş duvar yapısı kartilaj ve fibröz tabaka içermesi ile karakterizedir. Trakea ve ana bronşta kartilajlar inkomplet halkalar ventral yüzü oluştururken arka duvarı güçlü transfers düz kaslar sarmaktadır. Bronş ve sonrasında düzgün yuvarlak kartilajlar yerini daha çok düzensiz kartilajlara bırakırken kartilajlar arasında düz kaslar devam eder. Bütün iletilici havayolu olan trakea ve bronşun dış çevresi gevşek bağ sarıdır. Bu bağ dokusunda lenfatikler ve kılcak damarlar bulunur (13).

Kartilaj ve seromüköz bezlerden yoksun bir hava yolu olan bronşiolde goblet hücreleri nadiren bulunmaktadır. Bronşioler 1 mm veya daha küçük çaplarda havayollarıdır. Bronşioler mukoza basit kuboidal epitelyum ile örtülüdür. Bunlar silli kuboidal epitelyum ve CH içerirler. İmmünojenik cevap ve enflamatuar modülasyon için egzokrin salgılarına sahiptirler (13).

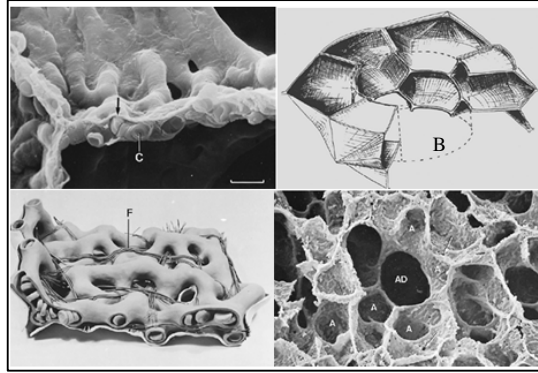
Büyük ve küçük havayollarının hava akımına direnci hastalıkta ve normal durumlarda zıtlık göstermektedir. Sağlıklı bir kimsede havayolu direncinin %80'i büyük havayollarında oluşur. Trakeada hava akımı türbülant, bronşiolde laminal olarak izlenir (13).

Respiratuar bronşioler, trakeabronşial ağacın 15-16. dallanmasından (Şekil 2) sonra başlayıp gaz değişiminin başladığı ilk bölgedir. Kuboidal kısa silli hücreler ile örtülüdür. Alveol kanalları ve keseleri havayolunun memelilerde kör sonlanmalarıdır. Bu yapılar duvarlarının olmaması ile bronşiollerden ayrılır. Alveolar sistem mikrovasküler yapısı alveolar skuamöz epitelyum ile örtülüdür, kanallar iki adet alveol kesesi ile sonlanır (13).

Akciğerde gaz değişimi yukarıda da bahsettiğimiz gibi respiratuar bronşiol, alveol kanalları ve alveol keseleri zemininde olmaktadır. Bu yapılar içerisinde polihedral (Şekil 3) olarak tanımlanan bal peteği görünümünde bir yapı arz eder. Bu polihedral şekil aynı alanda daha çok alveol kesesi bulunması için en ekonomik yapı şeklindedir. Haefeli Bleuer (1988) akciğer alveol asinisini incelerken alveoller arasında birkaç adet geçiş poru tanımlamıştır (13).

Alveoler yapının duvarı bitişik iki alveolün ortak yapısıdır. Buna alveolar veya interalveolar septum denir. Kapiler ağ yapısı bu septumların bir elemanıdır. Bu septalar aynı zamanda alveol etrafında bir iskelet oluşturan bağ dokusu içerir. Poligonallı alveol ağızları düz kas lifleri içermektedir. Kollajenöz ve elastik

fibröz elementler 3 boyutlu olarak hilustan plevraya doğru ilişki içerisinde. Bu akciğerin elastik yapısı için en önemlidir. Alveol epitel kalınlığı 0,1 ve 0,3 μm kalınlığında devamlılık gösteren bir epitelyumdur. Krapo (1982) yapmış olduğu bir çalışmada alveol epitelyumunun içermiş olduğu hücreleri ve birbirlerine olan oranlarını (Tablo 1) tanımlamıştır (13).



Şekil 3: Akciğer alveol yapısının elektron mikroskopik görünümü.
(A: Alveol, B: Poligonal şekil, C: Kan elemanları, F: Elastik fibriller,
AD: Alveoler kanal, Siyah ok: Alveoler endotel) (13).

Tablo 1: Akciğer parankiminin mevcut hücrelerin miktarı, oranı ve yüzey alan ilişkisi(13).

	Hücre Sayısı		Ortalama Hücre	
	Sayı (n X 10 ⁹)	Yüzde (%)	Hacim (μm^3)	Yüzey Alanı (μm^3)
Tip I pnömosit	19	8.3	1,763	5,098
Tip II Pnömosit	37	15.9	889	183
Endotel Hücresi	68	30.2	632	1,353
İntersitisyal Hücre	84	36.1	637	--
Makrofaj Hücresi	23	9.4	2,491	--

Alveolar intersitisyum, alveolar epitelyum ve kapiller endotelin bazal laminalarının arasında kalan alandır. Yani bir üzüm salkımını bal içerisine daldırıp çıkarttığımızda üzüm tanelerinin arasında kalan bal intersitisyuma benzer. İntersitisyum; intersitisyal sıvı, lifler ve amorföz maddeler içeren proteoglikan jel matriksten oluşan bağ dokusudur. Akciğer ödemi gibi durumlarda intersitisyal sıvı patolojik olarak artar ve gaz değişim bariyeri kalınlaşır. İntersitisyal fibroblastlar kasılabilir filamentler içerir. Alveol septumunda kan akımına yardımcı olur. Alveolar septalarda lenfatik drenaj yoktur. İntersitisyal sıvı peribronşial ve perivasküler konnektif tabakalara dökülür (13).

2.2 Toraks Travması

Modern dünyada önemli sağlık problemlerinden biri olan travmalar özellikle genç nüfusta önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (2, 8). Travma 40 yaş altı popülasyonda en önemli ölün nedenidir (1). Toraks travmaları, basit izole kot fraktürlerinden yaşamı tehdit eden yaralanmalara kadar geniş bir yelpaze oluşturur. Oluşan hasarın yaygınlığı, kalp ve akciğer fizyolojisinin bozulması ile doğrudan orantılıdır (2, 7, 8).

Travma nedeniyle hastaneye yatırılan olguların 1/3'ünü ağır toraks travmalarının oluşturduğu ve ölümlerin %20-25'inin toraks travmalarına bağlı olduğu bilinmektedir (2). Toraks travmaları gerek giderek artan trafik ve iş kazaları gerekse toplumsal ve bireysel şiddet olaylarıyla günümüzde de önemini korumaktadır (4).

Arzulanan nitelikteki ilk yardımın tam yapılamadığı, kısa sürede etkin hasta transportunun sağlanamadığı ülkemizde, toraks travmasına bağlı ölümlerin hastane dışı ilk müdahale ve transportun hızlı ve uygun şartlarda sağlanması ile %30 oranında önlenebileceği tahmin edilmektedir (14).

2.2.1 Künt Toraks Travması

Yaşamın ilk 4 dekatında 1. ölüm nedeni travmadır ve bu ölümlerin yaklaşık %20-25'i toraks travmalarına bağlıdır (14). Amerika Birleşik Devletleri'nde travma 40 yaş ve üzerindekilerde kanser ve kalp hastalıklarından sonra 3. sıklıkla izlenen ölüm nedenidir. Bu ülkedeki 100 000 travmatik ölümün %35'inin nedeni göğüs travmasıdır. Hastaneye kabul edilen göğüs travmalarında mortalite oranı %4-12'dir (6, 9). Bu oran ek bir organ sistemi yaralanmışsa %12-15, multiple organ yaralanması varsa %30-35'e kadar yükselmektedir. Künt toraks travması ile birlikte bulunan yaralanmalar sıklık sırasına göre: Ekstremitte kırıkları(%54), kafa travması(%44), batın yaralanmaları(%21), pelvis kırıkları(%12) ve spinal yaralanmalardır(%6) (2, 3, 6, 16, 17).

Trafik kazası, düşme ve ezilme sonucu meydana gelen künt toraks travmaları penetre olan yaralanmalardan daha sıktır. Günümüzde en sık göğüs travması nedeni, giderek artan yüksek hızlı trafik kazaları olup, bunların %15'inde göğüs travmasının bulunduğu saptanmıştır. Ölümle sonuçlanan trafik kazalarının %50'sinde ciddi göğüs travması vardır (2-5, 7, 8).

Çocukluk çağı yaralanmalarının çoğu künt travmalar sonucu oluşur, bu künt travmalarının %10-30'unu toraks travmaları oluşturmaktadır. Çocuklarda toraks travmaları kafa travmalarından sonra ölüme en çok yol açan travma sebebidir. Diğer travmalarla birlikte toraks travması olması ölüm oranını 3-4 kat arttırmaktadır (1).

2.2.2 Akciğer Kontüzyonu

Travmada oluşan kinetik enerji göğüs duvarının direnci ile toraks içi organlara aktarılır. Bunun sonucu olarak, akciğer parankiminde meydana gelen aşırı gerilme ve yırtılma, alveollerin bronşiolardan ayrılması, intraalveolar kanama, intestisyel ödem ve sonuçta meydana gelen alveolokapiller hasar akciğer kontüzyonu olarak tanımlanır. Akciğer kontüzyonu toraks travması sonrası kosta fraktürlerinden sonra en sık görülen yaralanma şeklidir (18). Travmanın gelişimi için araç içinde sıkışma, yüksekte düşme, göçük altında kalma, blast etkili yaralanmalar örnek olarak verilebilir. Akciğer kontüzyonu solid organlara komşu akciğer parankiminde daha sık görülür ve bu bölgedeki kontüzyonlarda daha ağırdır. Akciğer kontüzyonundaki bulgular travmanın ağırlığına ve alveolokapiller hasarın derecesine bağlıdır. Akciğer kontüzyonu izole yaralanma olmaktan daha çok multi travma ile birlikte görülürler ve gözden kaçabilirler (2, 8).

Göğüs travmaları klasik olarak künt, penetran ve blast olarak üçe ayrılırlar. Künt ve blast yaralanmalarda, penetran olanın aksine, göğüs içi organları dış ortamla ilişki halinde olmayıp yaralanma direkt ve endirekt etkilerle meydana gelmektedir. Direkt etki ile oluşan hasarın şiddeti, uygulanan kuvvetin yönü ve büyüklüğü, uygulama sahasının genişliği ve etki süresi ile ilişkilidir. Endirekt etki ise toraks içinde meydana gelen hasardan sorumlu olanıdır ve oluşan hasar kuvvetin akselerasyon-deselerasyonu, kompresyon-dekompresyonu, torsiyon ve makaslama mekanizmaları ile ilişkilidir (9, 19).

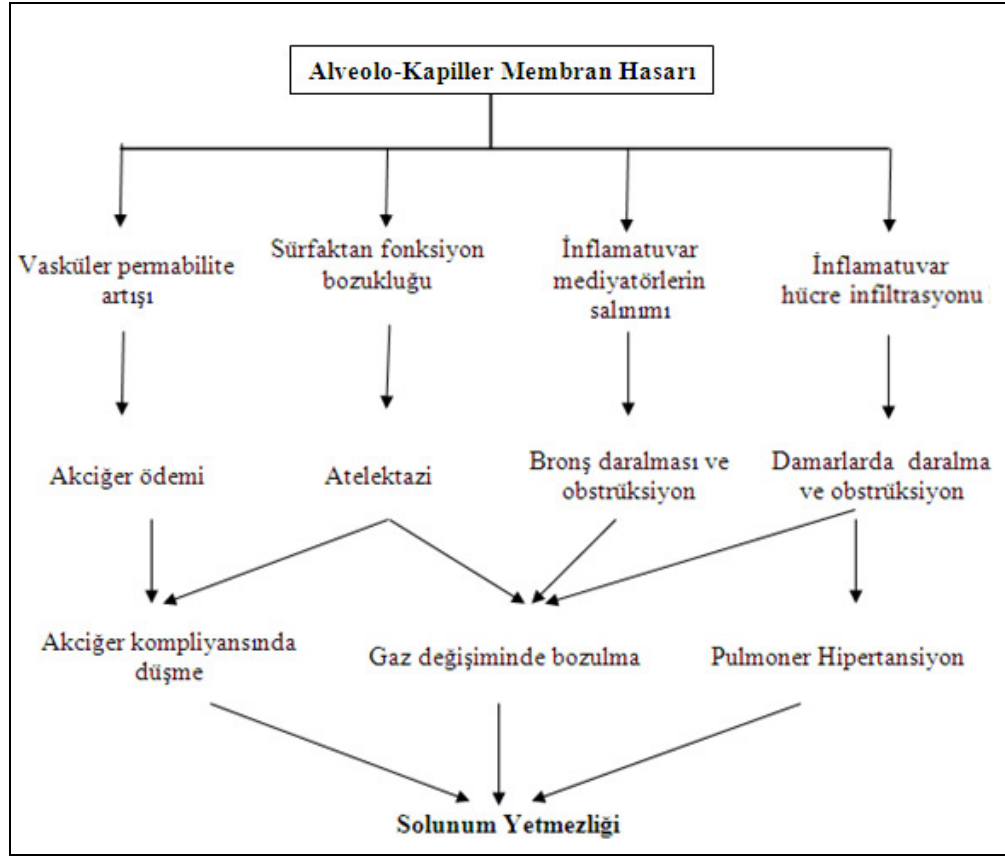
Akciğer kontüzyonunun oluşum mekanizması hakkında üç görüş vardır (15).

- 1-)Çarpan enerji dalgasının pozitif basıncı nedeniyle alveollerin gerilmesi ve yırtılması.
- 2-)Enerji dalgasının yoğunluğu farklı olan alveol ve bronşları farklı hızlarda hareket ettirmesi sonucu alveol ve bronşların ayrılması.
- 3-)Enerji dalgasının alveol yüzeyindeki sıvı-gaz temas yüzeyine çarparak ortak yüzeyini ayırması.

Travmanın ilk anında merkezi bir kanama odağını takiben birkaç saat sonra kanamanın etrafında ödem oluşmaya başlar. İlk günün sonunda alveollerin normal yapısı tamamen bozularak yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür (şekil 4). Bu nedenle kontüzyona maruz kalmış akciğer parankiminin oksijenasyonu normal bölgelere göre daha fazla bozulmuş durumdadır (15).

Akciğer kontüzyonunda ortaya çıkan patolojik bulguların alveolokapiller duvardaki hasardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu fizyopatolojik bozulma sonucu parsiyel oksijen basıncı ilk 24 saatte kötüleşir. Kontüzyona uğramamış bölgelerde de artmış mukus üretimi, bronş ağacının kan ve sıvı ile dolması nedeni ile gelişen atelektazi ve konsolidasyon da klinik tablonun ağırlaşmasına katkıda bulunur. Akciğer kompliyansı, sürfaktan içeriği ve kan akımı azalır. Pulmoner vasküler direnç ile alveoler–arteriyal oksijen basınç farkı artar. Sonuçta akciğerdeki dolaşım bozulur, mikrosirküler şok meydana gelir. Tüm bu olaylar SOR oluşumuna neden olur. Buna bağlı olarak lipid peroksidasyonu ve membran hasarı gelişir (20).

Majör toraks travması geçiren bütün hastalarda alveolokapiller gaz değişimi azalması ile arteriyal hipoksi oluşur. Pulmoner kapiller basınç, vasküler basıncı aşarsa intrapulmoner şant gelişir. Buna bağlı olarak gaz değişim mekanizması bozukluğu sonucu hipoksemi daha belirgin hale gelir. Yaralanan alanda solunum yaklaşık %44 oranında azalır ve ciddi hipokseminin asıl sebebi bu mekanizmadır. Hipoksemiye bağlı pulmoner vazokonstriksiyon gelişir. Gelişen vazokonstriksiyon hasara uğramış akciğer alanı ile doğru orantılıdır. Yaralanmadan 24–48 saat sonra atelektazi ve inflamasyonun da katılmasıyla hipoksemi daha belirgin hale gelir (21).



Şekil 4: Alveolokapiller membran hasarı ve solunum yetmezliği (22)

2.2.2.1 Akciğer Kontüzyonunda Klinik

Göğüs kafesi görevleri; solunum yapabilmesi için gerekli hareketler ile inspiriyum ve ekspiriyum için gerekli basınçları sağlamak, üst ekstremiteye destek olmak ve kafes içi organları korumaktır. Travmada toraks etkilenmiş ise solunum ve dolaşım sistemlerinin resüsitasyonu gerekebilir. İlk iş solunum yeterliliğinin tespiti olmalıdır. Solunum sayısı, dispne varlığı, hava yolu açıklığının olması, sekresyon kontrolü ve siyanoz hemen değerlendirilmelidir. Arteriyal tansiyon, nabız sayısı ve cilt rengi yol gösterici olabilir. Her toraks travmalı hastada hayatı tehdit edici durumlar akılda bulundurulmalı ve aranmalıdır (15).

Fizik muayenede solunum seslerinin alınmaması pnömotoraks ve hemotoraksı akla getirmelidir. Toraks travması sonrası akciğer kontüzyonu geçiren

hastalarda genellikle dispne, taşikardi, hemoptizi ve hipotansiyon görülür. Oskultasyonda patolojik bulgu saptanmamakla beraber ciddi kontüzyonlarda inspratuvar raller alınırken ağrıya bağlı solunum sesleri azalmış bulunabilir (14).

Akciğer kontüzyonu olan hastalarda hasar gören bölgede ödem, hemoraji, kanın interselüler ve alveolar alanlara sızması ile gelişen akut akciğer hasarı (acute lung injury: ALI) sonucunda arteriyovenöz şantlar artar, hipoksi ve solunum yetmezliği oluşur. ALI tanımlamasında göz önüne alınan ölçüler şunlardır:

- 1-) Başlangıç: Ani
- 2-) Oksijenizasyon: $PaO_2 / FiO_2 < 300$ mmHg
- 3-) Direkt akciğer grafisi: Bilateral yaygın infiltrasyon
- 4-) Pulmoner kapiller kama basıncı 18 mmHg altında veya klinik olarak sol atrial hipertansiyon bulguları olmaması (23).

Künt toraks travması sonrası akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) gelişen hastalarda ALI mevcuttur. Ancak her ALI gelişen hastalarda ARDS görülmeyebilir. Yapılan bir çalışmada ALI nedeni ile takip edilen hastaların %38'inde ARDS geliştiği görülmüştür. İzole toraks yaralanmalarının %17'sinde ARDS görülür bu gruptaki ölüm oranı %11'dir, diğer sistem yaralanmalarının eklenmesi ile ARDS oranı %78'e, ölüm oranı %25'e yükselir. Akciğer kontüzyonu ayrıca pulmoner emboli ve pnömoni içinde predispozan etken olmaktadır (24).

2.2.2.2 Akciğer Kontüzyonunda Radyoloji

Travma hastasının klinik değerlendirilmesi ve hemodinamik olarak stabil hale gelmesinin ardından yapılan radyolojik incelemeler yapılacak tedaviye karar vermekte anahtar role sahiptir. Toraks patolojisi düşünülen veya varsayılan hastalardaki ilk görüntüleme yöntemi direkt akciğer grafisidir. Daha ileri incelemeler şüphelenilen yaralanma tipine ve hastanın hemodinamik stabilitesine bağlıdır (4).

Lezyonlar ya yaygın ve iki taraflı, ya da sınırlı lokal olurlar. Yama biçimindeki lezyonlar flu ve kenarları siliktir. Lezyonun çevresindeki kanın zamanla absorbe olması ile görüntü daha keskin kenarlı olur (9). Akciğer kontüzyonu oluşan hastalarda, Direkt akciğer grafisinde radyolojik bulgular ilk 4 saat içinde görülürler, ancak radyolojik bulguların görülmesi 24 saate kadar gecikebilir. Başlangıç lezyonu

ilk gün içinde biraz ilerleyebilir. Tam rezolüsyon kontüzyonun büyüklüğüne göre birkaç gün ile birkaç hafta arasında oluşur. Lezyonda rezolüsyon gecikmesi hematom, yırtılma ve enfeksiyon gibi komplikasyonların varlığını düşündürür.

Toraks travmalarında ilk tanı aracı olan direkt akciğer grafisinin, acil travma hastalarında genellikle yatarak alınması nedeniyle, patolojilerin gösterilmesinde duyarlı olsalarda özgüllükleri oldukça düşüktür. BTT'nin travma hastalarında akciğer patolojisi tespitinde %30-60 oranında daha üstün olduğu gösterilmiştir. Direkt akciğer grafisi, eş zamanlı çekilen BTT ile karşılaştırıldığında olguların %60'ında akciğer kontüzyonunu göstermeyebilir. BTT ile görünen akciğer kontüzyonu alanı direkt akciğer grafisinde görülebilen alanın sıklıkla iki ile üç katı büyüklüğündedir (8-9).

2.2.3.3 Akciğer Kontüzyonunda Tedavi Yaklaşımı

Akciğer kontüzyonu olan hastalar hızlı bir şekilde kötüleşebilir bu nedenle tam olarak monitörize edilmelidir. Parsiyel oksijen basıncı (PaO₂) 60 mmHg'nın üzerinde olacak şekilde oksijen (O₂) verilmelidir. Travma sonucu metabolik yanıtlar ve ağrı hastanın genel durumunu kötüleştirebilir, solunum fonksiyonlarını bozabilir, bu nedenle tam ağrı kontrolü sağlanmalıdır. Hava yollarını açık tutan ve atelektazi gelişimini önleyen sekresyon temizliği ve fizyoterapi desteği verilmelidir. Ciddi akciğer kontüzyonlarında mekanik ventilasyon ihtiyacı doğabilir. Bu durumda barotravma riskini en aza indirmek için 5-7 ml/kg/dak gibi küçük tidal volümler uygulanmalıdır (5-8).

Hızlı volüm replasmanı konusunda tartışmalar devam etmektedir. Sodyum içerikli sıvıların hızlı verilmesi ile kanama odakları etrafındaki ödemli alanların büyüdüğü gözlemlenmiştir. Bu gözleme inanan gruplar, hızlı sıvı replasmanının akciğer kontüzyonunu daha da kötüleştirdiğini iddia etmektedir. Aksine sıvı replasman miktarı ve hızı ile akciğer kontüzyonunun kötüleşmesi arasında bir ilişki olmadığına inananlar da vardır (15). Bu konu tam çözüme kavuşmamasına rağmen, kontüzyona uğrayan akciğerin, beyin dokusu gibi tuzlu solüsyonlarla aşırı yüklenmeye duyarlı olduğu bilinmektedir.

Buna göre kristaloit sıvıların yanında kapiller permabilitenin azaltılması için onkotik basıncın desteklenmesi açısından koloit sıvıların verilmesi ve aynı zamanda hemoglobinin 10 mg/dl'nin üzerinde tutulması için tam kan verilmesi, büyük volüm replasmanlarında pulmoner arter basıncının takibi için kateterizasyonunun ve idrar çıkışının sürdürülmesi gerekir. Profilaktik antibiyotik kullanımı önerilmemekle birlikte enfeksiyon belirtileri yakından izlenmeli ve bu durumda trakeal örneklemelerle uygun tedaviye başlanmalıdır.

Akciğer kontüzyonu sırasında oluşabilecek ARDS tedavisinde kortikosteroidlerin kullanımı yıllardır pek çok çalışmaya ve tartışmaya konu olmuştur. Etki mekanizması tam olarak henüz kesinlik kazanmasa da yapılan deneysel çalışmalarda kortikosteroidlerin konağın inflamatuvar mediyatörlerini inhibe ettiği böylece morbidite ve mortaliteyi iyileştirdiği yönünde bilgiler mevcuttur (25). Ama genel görüş teorik avantajının, makrofaj fonksiyonlarını bozucu etkisi yanında çok az olması nedeni ile sınırlı endikasyonda kullanılmaktadır (18).

2.2.3.4 Akciğer Kontüzyonunda Hücresel ve Moleküler Yanıt

İnflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Akut yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arteriyel vazodilatasyon oluşması vasküler permabilite artışına sebep olur (Şekil 5). Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesi ile başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. PMNL'ler granüler içeriklerini ortama salarak litik enzimlerin etkisi ile vasküler ve parankimal yaralanmayı daha da arttırabilmektedir (26).

Travma sonrası araşidonik asid siklooksijenaz ve lipooksijenaz olmak üzere iki ana yoldan okside olur. Siklooksijenaz yolu ile prostoglandinler ve tromboksanlar, lipooksijenaz yolu ile lökotrienler ve hidroksieikozatetranoik asitler oluşur, bunların hepsine birden eikozoid denir. Eikozoidler doku hasar gördüğünde hızlıca sentezlenirler. Böylece hasar gören dokularda vazodilatasyon, vasküler geçirgenlikte artış, lökosit göçü ve yığılması ile karakterize inflamatuvar

yanıtı oluştururlar. şayet inflamatuvar yanıt abartılı ise oksidan–antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulabilir ve oksidanlar, inflamasyonun daha uzun ve şiddetli olmasına yol açabilir (20).

Vücuttaki savunma mekanizmaları sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitleri genellikle dış yörüngelerinde serbest oksijen içerirler. Serbest radikallerde stabilite, çevredeki moleküllerden bir elektron kopararak elektron çifti oluşturmasıyla yani oksidayonla sağlanır. Elektronu koparılmış olan bu moleköl eşenmemiş elektron içerdiğinden serbest radikale dönüşür ve böylece tek bir radikal varlığı bile elektron transfer zincir reaksiyonlarını başlatabilir. Başlayan bu reaksiyon membrandaki yağ asitleri tükeninceye kadar devam eder. Sonuç olarak membran, selektif geçirgenliğini kaybeder ve hücre yıkılır. Genellikle hücreler kendi ürettikleri radikallerin oluşturacağı hasara karşı katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon gibi endojen antioksidanlar tarafından korunurlar. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (27).

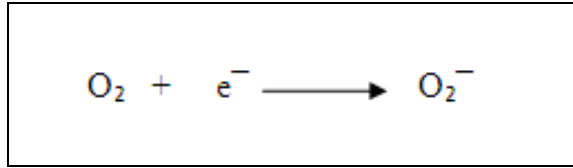
2.3 Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest Oksijen Radikalleri, enflamasyon sırasında makrofajlar, PMNL'ler ve mitokondri katalizli elektron taşıyıcı reaksiyonlar, metal katalizli reaksiyonlar, X-ray, ultraviyole, gamma ışınlarına maruziyet, atmosfer kirliliği ve diğer mekanizmaların ürünü olarak üretilirler. SOR, biyolojik sistemlerde hem yararlı hem de zararlı etki göstermektedir. Hücresel cevaplar SOR'un yararlı etkileri arasında yer alır. Örneğin, enflamasyon oluşturan ajanlara karşı savunmada ve hücresel sinyal iletiminde önemli bir fonksiyonu vardır. Çoğunlukla SOR düşük konsantrasyonlarda mitojenik özelliğin uyarılması gibi yararlı etkiler gösterirken yüksek düzeylerde protein, nükleik asit ve lipidleri içeren hücresel yapıların bozulduğu önemli reaksiyonlarda rol alır. SOR'un oluşturacağı zararlı etkiler antioksidan enzimlerle ve bunlara destek olarak enzimatik olmayan antioksidanlarla engellenmeye çalışılır. SOR'un etkisi ile oluşan oksidatif zararını önlemek için antioksidatif savunma sistemlerinin bulunmasına rağmen, reaktif oksidanlar yaşam süresince organizmada birikim gösteren ve serbest radikallerin neden olduğu deoksiribonükleik asit (DNA), lipid ve protein hasarları,

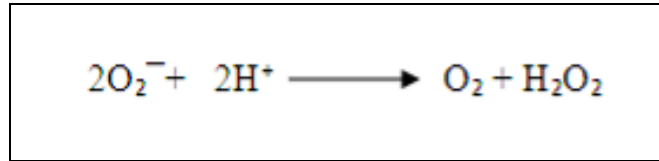
yaşlanmadan kaynaklanan nörodejeneratif bozukluklar, artrit, ateroskleroz ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (28-30).

İskemik dokuların reperfüzyonu toksik SOR oluşumuna yol açar. Bunlar süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil anyonu (OH^-), hipoklorik asit ($HOCl$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik oksitten (NO) derive peroksinitrittir ($ONOO^-$) (30).

O_2 'nin bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşur (30).



O_2^- bir elektron eklenirse (O_2^- dismutasyonu) veya O_2 'nin doğrudan indirgenmesiyle H_2O_2 oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzim aracılığı ile katalize edilebilir (30).



Fenton reaksiyonu: H_2O_2 'nin, demir ve diğer geçiş elementleri (bakır, çinko, mangan, krom, cobalt, nikel, molibden) varlığında indirgenerek OH^- radikali oluşur. Haber-Weiss reaksiyonu: H_2O_2 , O_2^- ile reaksiyona girerek OH^- radikalini oluşturur. Bu reaksiyon bakır ve demir tarafından katalizlenir. Suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz kalmasıyla da OH^- oluşur. $HOCl$ radikal olmadığı halde SOR arasında yer almaktadır. Fagositik hücreler tarafından bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar (31).

Aktive olan PMNL'ler, monositler, makrofajlar ve eozinofiller O_2^- radikali üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem taşır. Özellikle PMNL'ler içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O_2^- nin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 'yi klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir anti bakteriyel ajan olan $HOCl$ 'ye dönüştürür. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle $^{\circ}O_2$ serbest radikal olmadığı halde SOR grubunda yer alır. $^{\circ}O_2$ serbest radikal reaksiyonların başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır (31, 32).

2.3.1 Hücredeki Serbest Radikal Kaynakları

Endojen ve eksojen olmak üzere iki başlık altında özetlenmiştir (33).

A- Endojen Kaynaklar

1. Mitokondrial elektron transportu;
2. Plazma membranı lipid peroksidasyonu;
3. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri;
4. Peroksizomlar;
5. Oto oksidasyon reaksiyonları;
6. Yaşlanma.

B-) Eksojen Kaynaklar

1. Stres;
2. Alışkanlık yapıcı maddeler;
3. Çevresel faktörler;
4. Aşırı oksijen konsantrasyonu
5. Antineoplastik ilaçlar.

2.3.2 Serbest Radikallerin Hücreler Üzerine Etkileri

2.3.2.1 Lipid Peroksidasyonu ve R-OOH

Hücre içi organeller, biyomembranlar ve membran fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitleri oksidatif ataklara aşırı derecede duyarlıdır. Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu, poliansatüre yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve üç aşamadan oluşur (12, 34, 35). Bunlar;

1. Başlangıç evresi: OH^- radikali, bir yağ asidinin (LH) metilen molekülünden bir hidrojen atomu (H^+) kopararak bir lipid radikali (L^-) oluşturur.

2. İlerleme ve yıkım evresi: Zincirleme reaksiyona uğrayan L^{\cdot} 'ne O_2 ilavesi ile devam eder ve lipid peroksit radikali (LOO^{\cdot}) ile lipid ROOH oluşur. Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanır.

3. Sonlanma safhası: Zincir reaksiyonu antioksidanlar (likopen gibi) tarafından sonlandırılabilir.

Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışı neticesinde hücrenin hasarına ve içeriğinin serbestleşmesine neden olur. Ek olarak lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına yol açar. Bu da, hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini, iyon transportunu etkileyebilir (22, 36).

2.3.2.2 Protein Oksidasyonu

Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonunun sonucunda metionin sülfokside, histidin, oksihistidine veya asparagine, tirozin, ditirozine ve sistein disüflitlere dönüşür. Bu değişiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir (37-39).

Serbest radikal reaksiyonları direkt olarak polipeptid parçalanmasına da yol açabilir. Proteinler serbest radikallere daha az hassas olup başlayan zararlı zincir reaksiyonunda hızlı ilerleme olasılığı daha azdır. Proteinler serbest radikal harabiyetinden aminoasit içeriğine bağlı olarak etkilenirler. Bu reaksiyonlar sonucu immunglobulin G ve albümin gibi fazla sayıda disüflit içerenlerin yapısı bozulur. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda etkilenir (40, 41).

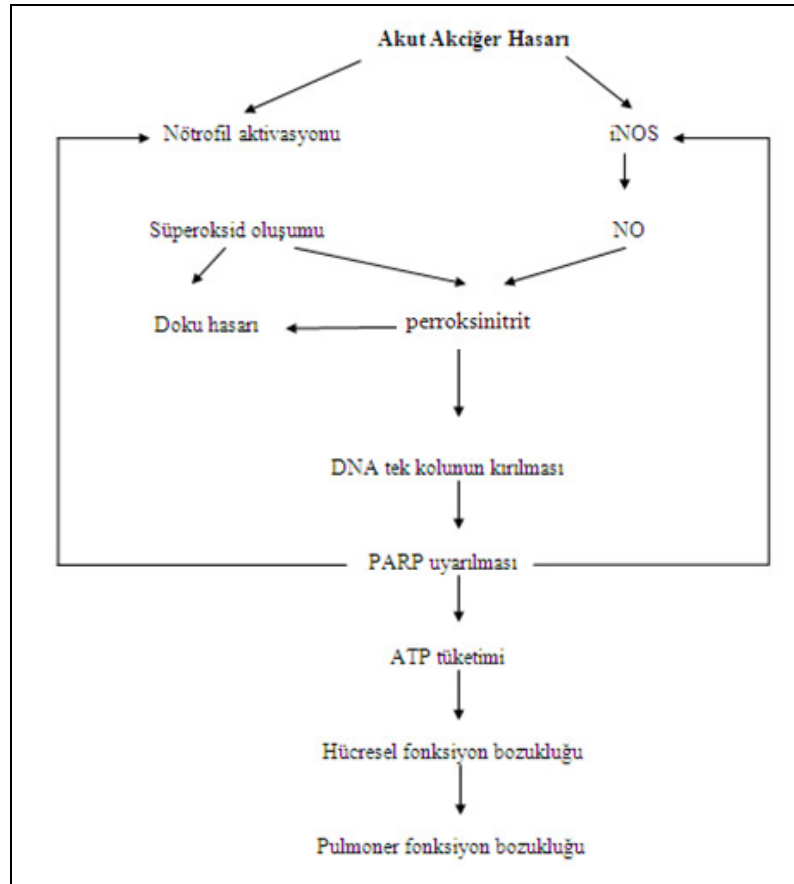
2.3.3 NO

Endotel türevli NO veya genişletici faktör olarak da bilinen NO, asetil kolin uyarısı, hipoksi, endotoksin, hücresel zedelenme veya mekanik kesilme stresine yanıt

olarak dolaşıma salınabilen önemli bir pro-oksidatif ve antioksidatif sinyal molekülü olmakla birlikte aynı zamanda çok reaktif bir radikaldir (42).

Yarı ömrü birkaç saniye olan, lipofilik özellikte olan diffüze olabilen bir maddedir. Bu serbest radikal damar endotel hücrelerinde NO sentaz (eNOS) enzimi tarafından L-arjininden sentezlenir. NO kendiliğinden nitrat ve nitrite ayrışır. Hüresel hasarın yanında büyük miktarlardaki NO parakrin ve otokrin fonksiyonların bozulmasına, bölgesel kan akımında dağılım bozukluğuna, barsak motilitesinde azalmaya ve permeabilitesinde artışa yol açar (43-45).

İskemik periyodda oluşan doku hipoksisi endoteldeki NO üretimini azaltır, reperfüzyonun erken fazında azalan NO ile mikrovasküler vazokonstrüksiyona neden olur (46).



Şekil 5: NO'nun akut akciğer travmasındaki rolü (22)

Oksidatif stres, NO'nun biyoyararlanımını azaltarak onun PMNL akümülyasyonunu önleme, O_2^- radikallerini inaktive etme ve vazodilatasyon yapma gibi etkilerini engeller. Deneysel çalışmalarda NO düzeyini yükselten ajanlar iskemik hasarı azaltsa da iskemi sırasında oluşan aşırı miktardaki NO, ya bu radikalin stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrata dönüşür (Şekil 6), ya da O_2^- radikali ile reaksiyona girerek bir toksik oksijen metaboliti olan $ONOO^-$ oluşturur. $ONOO^-$ ise dokularda hasar yapar (34, 47).

Ortamda oksijen varsa NO'dan nitrojen dioksit (NO_2) ve iki elektronlu oksidanlar olan nitrojen trioksit (N_2O_3), nitrojen tetraoksit (N_2O_4) oluşur. Süperoksidi bağladığı için NO'nun serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan $ONOO^-$ ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun olan bir antioksidandır, peroksinitritin parçalanması ile yüksek konsantrasyonlarda NO_2 oluşur ve enzim fonksiyonları ile membran bütünlüğüne zarar verir (Şekil 6) (34, 37, 48).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada devamlı olarak SOR oluşmasına rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler ortaya çıkmaz. Fizyolojik veya patolojik olaylar sonucu bu dengenin oksidasyon lehine değişmesi durumunda oksidatif hasar gelişebilmektedir (49-51).

Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacı ile vücutta SOR'u enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilir (52). Antioksidanların etki mekanizmaları;

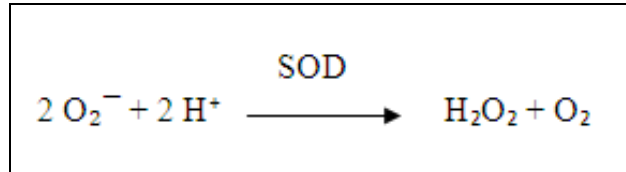
1. SOR'u etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküllere çevrilmesi.
 2. SOR ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltılması veya inaktif hale dönüştürülmesi.
 3. SOR bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarının engellenmesi.
 4. SOR'un oluşturdukları hasarın onarılması.
- Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

2.4.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) hücre içi kuvvetli antioksidan bir enzimdir. O_2^- 'ni, H_2O_2 ve O_2 çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir (33).



O_2^- anyonunun üretimi ile serbest radikal reaksiyonları tetiklenir. SOD hücrel kompartımanlardaki O_2^- düzeylerini kontrol altında tutar. Bu enzimlerin aktif merkezlerinde bulunan aminoasitlerin çeşitliliği, kofaktör ve diğer bazı özelliklerine göre farklı izoformları bulunmaktadır. İnsanda üç farklı izoformu vardır. Bunlar; Sitoplazmik SOD, Mitokondriyal SOD, Ekstrasellüler SOD. Ancak yapılan araştırmalarda genellikle tümünü kapsayan enzim (total SOD) aktivitesi ölçülür (33, 53).

2.4.1.2. Myeloperoksidaz

Myeloperoksidaz (MPO) nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Enzimin I, II ve III olarak tanımlanmış 3 tipi mevcuttur, her MPO molekülünün 2 alt birimden oluştuğu tespit edilmiştir (54).

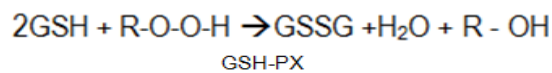
MPO 1940'lı yıllarda Verdoperoksidaz olarak anılmakta iken sonradan Myeloperoksidaz olarak isimlendirilmiştir. Enzimin total ağırlığının ortalama % 3-4'ü karbohidrattır. Birçok enzimde olduğu gibi spesifik inhibitörü de bildirilmiştir, Asidik olarak da bilinen bu inhibitör MPO aktivitelerini bloke etmektedir (54).

2.4.1.3 Glutasyonperoksidaz

Glutasyon (GSH) hücre için en önemli antioksidan molekülüdür ve serbest radikallerle ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidan hasara karşı korur. GSH zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi, bazı enzimlerin substratı veya kofaktörü olarak da görev yapar. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek oranda bulunur. GSH aminoasitlerin membran transportunda da rol alır (55).

Glutasyonperoksidaz (GSH-Px) H_2O_2 ve LOOH üzerine etkilidir. GSH-Px'in iki farklı tipi vardır. Aktivitesi için selenyuma gereksinim duyan formu hem H_2O_2 'yi hemde LOOH'ları selenyum gerektirmeyen formu ise sadece LOOH'ları metabolize eder. Bu reaksiyonda GSH hidrojen vericisi olup H_2O_2 ve LOOH'lar indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşür (53). Oksitlenmiş glutasyon ise NAPH'a bağımlı glutasyon redüktaz ile tekrar GSH'a indirgenir.

GSH; E vitamini tekrar yenilenmesinde, askorbik asit ve koenzim Q10 (ubikinon) ile beraber görev alır.



2.4.1.4. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar

Canlı organizmalarda enzimatik antioksidanların yanı sıra vitaminler de serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemlidir. Vitaminler non-enzimatik antioksidanlar kısmında yer alır (55).

- | | | |
|------------------|---------------|-----------------|
| 1. Melatonin | 5. Hemoglobin | 9. Sistein |
| 2. Seruloplazmin | 6. Ferritin | 10. Metiyonin |
| 3. Transferrin | 7. Bilirubin | 11. Ürat |
| 4. Miyogloblin | 8. Albümin | 12. Laktoferrin |

2.4.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

2.4.2.1. İlaç Eksojen Antioksidanlar

1. XO inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
2. NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenyline iodonium).
3. Rekombinant SOD
4. Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran asetilsistein).
5. Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
6. Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin).
7. PMNL adezyon inhibitörleri
8. Sitokinler (TNF- α ve IL-1).
9. Barbitüratlar.
10. Demir şelatörleri

2.4.2.2. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

2.4.2.2.1. Vitamin C

Askorbik asit bir monosakkarit türevidir olup yapıca altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Renksiz, beyaz, dikdörtgen kristallerdir. Çok hafif özel bir kokusu vardır. İnsanlar için zorunlu bir besindir. Vücuda sağlığını veren kollajenin üretiminden alyuvarların işlemesine kadar çok sayıda görevi vardır. Vitamin C'nin hem antioksidan hem de bir enzim kofaktörü olarak hareket etme yeteneği biyokimyasal özellikleridir (56).

Askorbik asit O_2 tutma özelliğine sahip olması nedeniyle antioksidan olarak kullanılır, kuvvetli bir indirgeyici ajandır; düşük bir redoks potansiyeline sahip olması onun hemen tüm diğer okside olan serbest radikallerle reaksiyona girme termodinamik potansiyelinin var olduğu anlamına gelir. Askorbik asit sıvılarda oksidasyonu tersine indirgeyici ajan olarak hareket ederek antioksidan aktivite için iyi bilinir (57).

H_2O_2 ve hidroksil radikallerinin oluşumunu desteklediği iyi bilinir ki bu muhtemelen onun bazı koşullarda sitotoksik olabilmesi veya prooksidan olarak davranmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Yüksek askorbat seviyelerinde radikal yakalamayla rekabet eden kendi kendini sonlandıran reaksiyonlardır. Aynı şekilde yanık, ameliyatlar ve travmalarda günlük gereksinimi artar. Bununla birlikte ağızdan doğum kontrol hapları alınması, hamilelik, sigara içilmesi gibi durumlarda da gereksinim artabilmektedir (58).

Askorbik asidin steroid hormonlarının sentezinde de görev aldığı bildirilmiştir. Askorbik asit yetersizliğinde, adrenal bezinin %270 oranında büyüme göstermektedir (59). Askorbik asidin epinefrin ile yara ve iltihaplanmaya karşı etkinlik gösteren steroidlerin sentezinde rolü olduğu bildirilmiştir. Askorbik asit diğer bazı mineral ve vitaminlerin vücutta kullanılması için de yardımcıdır (11).

2.4.2.2.2. Vitamin E

Vitamin E, kimyasal yapı itibarı ile bir tokoldür (59). Vit E yağda çözünen önemli bir antioksidandır ve özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli antioksidan işlevler görmektedir. Tokollerin farklı bileşikleri E vitamini aktivitesi gösterir ve bunların en aktifi alfa-tokoferoldür (60). Ayrıca nükleik asit metabolizması, askorbik asit sentezi ve aminoasit metabolizmasında rol oynar. Mitokondrilerdeki lipidin oksidatif parçalanmasını önleyen Vit E, keratin fosfat, ATP gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinde fosforilasyon işlevini düzenler (61).

Lipid peroksidasyonu hücre ve organel zarlarında, lipoproteinlerde, yağlı dokuda, beyinde ve çoklu doymamış yağ asitlerinin bol olduğu diğer dokularda özellikle yaygındır. α -Tokoferol, zarlarda yaklaşık 1 moleküle 1000

lipid molekülü oranında bulunur. Fitol kuyruğu sayesinde, yüzeye yakın olan aktif kroman halkasıyla birlikte zar alt tabakasında konumlanmak gibi eşsiz bir yeteneğe sahiptir. Bu hem lipid antioksidanı olarak iş görmesine hem de diğer antioksidanlarla etkileşime geçerek oksitlenmiş halinden kendi haline yeniden dönüşmesine imkân sağlar. Diğer antioksidanlarla, özellikle de suda çözünenlerle sinerjisi, antioksidan sistemin önemli bir özelliğidir (59).

Tokoferoller ve tokotrienoller, peroksi radikallerinin yanı sıra, singlet oksijen ve diğer reaktif türleri ve serbest radikalleri de yakalar. Vit E'nin azotlu reaktif türleri üzerindeki antioksidan etkisi git gide daha fazla dikkat çekmektedir. İnsan vücudunda antioksidan özelliği ile beraber; sinyal iletimi, trombosit agregasyonu, 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktazın (HMG-CoA redüktaz) transkripsiyon sonrası bastırılması ve hücre dışı sıvıların kontrolü gibi fonksiyonlarda görev yapmaktadır.

3. MATERYAL METOD

Bu çalışma, deney hayvanlarının bilimsel amaçla kullanılabilmesi için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alınarak (10.05.2010 tarih ve 07 sayılı karar) etik kurul kurallarına uygun bir şekilde Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2185-TU-10 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada toplam 72 adet 12-14 haftalık 250–350 gr ağırlık aralığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Üretim Biriminden temin edildi.

Deney süresince sıçanlar standart nem, ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (25° C) koşullarında bulunduruldu. Çalışma boyunca hayvanlarda yem ve su kısıtlaması yapılmadı.

3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Araçlar

- | | |
|---|---|
| 1. Derin dondurucu (Beko 8460 T, Türkiye) | 6. UV spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japonya) |
| 2. Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 32 R, Hettich Universal 320, Almanya) | 7. Vorteks (Nüve NM 100, Türkiye) |
| 3. Homojenizatör | 8. pH metre (Hanna Instruments, Portekiz) |
| 4. Hassas terazi (Shimadzu AX200, Japonya) | 9. Su banyosu (Termal Laboratuar aletleri 820–3, Türkiye) |
| 5. Otomatik pipetler (Eppendorf Research 10–100–1000–5000, Almanya) | 10. Tüp çevirici |

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda elde edilen kan ve doku örneklerinin deneysel sürecinde aşağıda sıralanmış kimyasal maddeler kullanılmıştır.

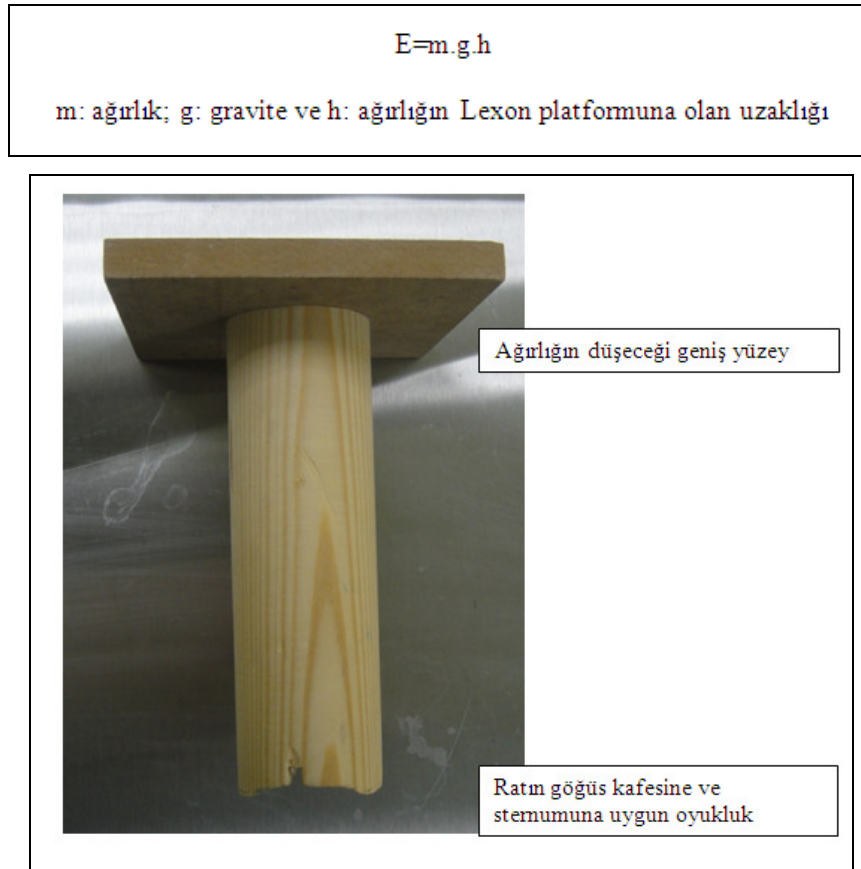
1. Nitro Blue Tetrazolium (NBT), Sigma Aldirch
2. BSA (Bovine serum albumine), Sigma Aldirch
3. Cupric chloride dihydrate, Sigma Aldirch
4. Ammonium sulfate, Merck
5. Chloroform, Sigma Aldirch
6. Tri sodium sitrat dihidrat, Merck
7. Sodium Carbonate, Sigma Aldirch
8. Sodium Hidroksit, Sigma Aldirch
9. Glutathione Redüktaz, Sigma Aldirch
10. Cadmium granülleri, Merck
11. Sulfanilamide, Sigma Aldirch
12. Cupric sulfate pentahydrate, Merck
13. Sulfuric acid %98-95, Sigma Aldirch
14. Folin & Ciocalteu's Phenol, Merck
15. Triclor asetic acid (TCA), Sigma Aldirch
16. 2- thiobarbituric acid (TBA), Merck
17. β -Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate, Sigma
18. Sodium Borate, Sigma Aldirch
19. Zinc sulfate, Merck
20. Potassium nitrate, Merck
21. Adenosine, Sigma Aldirch
22. Phenol kristali, Sigma Aldirch
23. Sodium Hypochlorine, Merck
24. Sodium nitroprusside, Sigma Aldirch
25. Sodium Cyanide, Sigma Aldirch
26. Etil alkol %98-100, Merck
27. Sodium azide, Merck
28. Hidrojen peroksit %30, Fluka
29. Glycine, Sigma Aldirch
30. Ketamin HCl, Eczacıbaşı
31. Ksilazin, Bayer.
32. Redoxon, Bayer
33. Evigen, Aksu Farma

3.2. Metod

3.2.1. Deneysel Model

Deney öncesi sıçanların ortama uyumu için 20°-25°C oda ısısında, %55–60 nemli ortamda ve 12 saat gün ışığında, 12 saat karanlıkta serbest beslenme ve yaşam koşulları sağlandı.

Literatür değerlendirmesinde Raghaverden ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 1.8, 2.0, 2.2, 2.45 ve 2.7 joule (J) enerji uygulanmış ve mortalitenin en az, kontüzyonun en fazla olduğu enerji değerinin 2.45 joule olduğu tespit edilmiştir, bu çalışmada diğer kontüzyon enerjilerinin detaylı sonuçları verilmemiştir (62). Uygulanan enerjinin belirlenmesinde Newton kanunu denklemi kullanılmaktadır:



Şekil 6: Lexon platformu

Bizim çalışmamızın amacı, kontüzyonun gerçekleştiği en az enerji değerini tespit etmektir, bu nedenle çalışmamıza başlamadan önce bir Sham grubu ve 1.2 J, 1.4 J, 1.6 J 1.8 J ve 2.0 J enerjiler kullanılarak travma grubu oluşturularak bir ön çalışma yapıldı. Makroskopik değerlendirmede 2.0 J enerji uygulanan ratlarda kontüzyon izlendi. Bununla beraber ratlarda ekstra pulmoner patoloji izlenmedi. 1.8 J ve 1.6 J enerji uygulanan ratlarda kontüzyon bir, iki bölgede ve tek taraflı izlenirken, daha düşük enerji uygulanan ratlarda makroskopik olarak kontüzyon izlenmedi. Bunun üzerine daha önceden bildirilmiş akciğer kontüzyon modelleri uyarlanarak genel anestezi altında ortalama ağırlıkları 250- 350 gram olan Spraque-Dawley cinsi erkek sıçanlara 2.0 J enerji uygulayarak kontüzyon amaçlandı.

Anestezi altındaki deney hayvanı supin pozisyonda tespit edildi, göğüs kafesi üzerine ağırlığın düşeceği Lexon platformu (Şekil 6) yerleştirilerek göğüs bölgesinin enerjiye direk maruziyeti sağlandı. Deney hayvanının göğsü ile temas eden Lexon platformunun alt yüzeyinde prekordial alanı korumak amaçlı koruyucu bir oluk oluşturulmuş ve mevcut düzenleme ile enerji göğüs lateral duvarlarını etkilediği için kalp ve diğer mediastinal organlar direk enerjiden korunmuştur (Şekil 7) (63).



Şekil 7: Travma deney düzeneği

Sıçanlar rastgele travma yapılmayan grup 1 ($n:18$), sadece travma uygulanan grup 2 ($n:27$) ve kontüzyon sonrası vit C ve vit E verilen grup 3 ($n:27$) olarak üç farklı gruba ayrıldı (Tablo 2).

Grup 1 anestezi altında göğüs kafesi elle manipüle edilen i.m. ve i.p. serum fizyolojik (SF) yapılan kontrol grubudur. Grup 2 2.0 J enerji ile künt göğüs travması uygulanan ve i.m. ve i.p. SF yapılan gruptur. Grup 3 aynı enerji ile künt göğüs travması sonrası i.p. vit C (200 mg/kg) ve i.m. vit E (150 mg/kg) verilen gruptur (Tablo 2) (12).

Vitaminler 10. dakikada, 24. ve 48. saatlerde intraperitoneal ve intramusküler olarak uygulanırken aynı şekilde Grup 1 ve Grup 2'ye SF iki gün boyunca uygulandı. Her üç gruptan 10. dakikada 24. saatte ve 48. saatte hayvanlar eşit sayılarda anestezi altında sakrifiye edildi ve histopatoloji, kan gazı ve biyokimyasal veriler ile kontüzyon değerlendirildi (veriler Tablo 2'de özetlenmiştir). Ratlara supin pozisyonda medyan laparotomi insizyonu uygulandı, batına girildi, batın içi organlar lateralize edildi, abdominal aorta diseke edildi, buradan kan örnekleme yapıldıktan sonra serbest kanamaya bırakılarak ratlar sakrifiye edildi. Akciğer dokusu değerlendirilirken sol lobları biyokimyasal analiz için -20 derecede saklandı, sağ lobları histopatolojik değerlendirmeye gönderilmek üzere %10'luk formaldehit içerisine yerleştirildi.

3.2.2. Anestezi ve Doku Örnekleri

Bütün ratların beslenmesi su hariç bir gece önceden kesildi ve ratlara travma uygulanmadan önce ketamin hidroklorür (90 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) karışımı i.p. olarak uygulanarak anestezi oluşturuldu.

Kontrol grubuna elle manipülasyon uygulandı, travma ve vitamin gruplarına travma düzeneğinde travma uygulandı. Travmanın hemen sonrasında (0. Dakika) grup 1'e ve grup 2'ye i.m. ve i.p. olarak SF uygulanırken grup 3'e i.m. Vit E ve i.p. olarak Vit C verildi.

Travmanın 10. dakikasında her üç grubun birinci bölümü sakrifiye edildi.

Travmanın 24. saatinde grup 2'ye ve grup 1'e i.m. ve i.p. olarak SF uygulanırken grup 3'e i.m. olarak Vit E ve i.p. olarak Vit C verildi ve her grubun ikinci bölümü sakrifiye edildi.

Travmadan 48 saat sonra grup 2'ye ve grup1'e i.m. ve i.p. olarak SF uygulanırken grup 3'e i.m. Vit E ve i.p. olarak Vit C uygulaması ardından kalan üçüncü bölüm sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrası alınan akciğer doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılana kadar -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

Tablo2: Zaman ve gruplara yapılan işlemlerin şematik özeti

	GRUP 1 (toplam n:18)	GRUP 2 (toplam n:27)	GRUP 3 (toplam n:27)
0. Dakika	Elle manupile edilip i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	Kontüzyon modeli uygulanıp i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	Kontüzyon modeli uygulanıp i.p. vit C ve i.m. vit E injeksiyonu yapıldı
10. Dakika	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=6</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>
	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.p. vit C ve i.m. vit E injeksiyonu yapıldı
24. Saat	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=6</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>
	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.p. vit C ve i.m. vit E injeksiyonu yapıldı
48. Saat	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=6</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>	BAL, kan ve doku örnekleri toplandı. <i>n=9</i>
	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.m. ve i.p. SF injeksiyonu yapıldı	i.p. vit C ve i.m. vit E injeksiyonu yapıldı

3.2.3. Numunelerin Korunması, Homojenizasyonu ve Hazırlanması

Akciğer dokusu homojenizasyonu için tampon olarak pH: 7.4 ve 50 mM Tris-HCl tamponu kullanıldı. Çıkarılan bütün akciğer dokusunun ağırlıkları yaş olarak tartıldı ve dokular soğukluklarını muhafaza ederek cam tüplere aktarıldı. Daha sonra üzerine 2 ml soğuk Tris-HCl tamponu eklendi. Plastik kaplara soğukluğun korunması için buz dolduruldu ve cam tüpteki dokular plastik kapların içerisine yerleştirilerek 16000 devir/dakika hızında 3 dakika boyunca homojenize edildi. Son hacim, doku ağırlığının 10 katı olacak şekilde tampon ilave edildi. Hazırlanan homojenatlar ısı arttırılmadan eppendorf tüplere konuldu. Bu elde edilen homojenatlardan NO ve protein miktar tayini yapıldı. Homojenatlardan daha sonra 5000 devir/dakika hızında 30 dakika süreyle +4 °C soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Daha sonra süpernatant 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5,v/v) ile vortekslenip 3200 devir/dakika hızında 40 dakika süreyle +4°C de santrifüj edildi. En üstte oluşan etanol fazından SOD, GSH-Px ve MPO enzim aktiviteleri ve protein aktivite tayini yapıldı.

3.2.4. Dokularda Biyokimyasal Analizler

Hücre içinin en önemli anti oksidan enzimi olan GSH-Px, H₂O₂ ve O₂⁻ radikalleri ile reaksiyona giren SOD ve nötrofil granüllerinde bulunan MPO enzim aktiviteleri ve endotel fonksiyonunu düzenleyen NO enzim düzeyleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında spektrofotometrik yöntemler ile ölçüldü.

3.2.4.1. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (64). Glutatyon peroksidaz, H₂O₂ varlığında redükte glutatyonun (GSH), okside glutatyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizlemektedir. GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'nin azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen

absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanır. Çalışmamızda sonuçlar U/gr protein olarak hesaplandı.

3.2.4.2. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Doku örneklerinde total SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (65). Bu yöntemle SOD aktivitesinin tayininin esası, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit anyonlarının nitroblue tetrazoliumu indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonuna dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri ortamdaki Nitroblue tetrazoliumu indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda formazon oluşumu ölçülür. Bu kompleks 560 nm’de en fazla absorbansı verir. Enzim olmayan ortamda indirgenme oluşup mavi-mor renk oluşmakta, ortamda SOD bulunduğunda indirgenme olmayarak enzimin miktarı ve aktivitesiyle ilişkili şekilde açık renk izlenmektedir. Çalışmamızda sonuçlar U/mg protein olarak verilmiştir.

3.2.4.3. Nitrik Oksit Miktarının Tayini

Dokularda nitrik oksit düzeyinin tespiti Griess metoduyla yapıldı (66). Griess yöntemi nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin ile (Sulfanilamide) diazotizasyonu ve N-naftiletilendiamin hidroklorit ile mor renkli bir azot ürünü oluşturması esasına dayanır. Bu metodta total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirilir. pH’sı 9,7 olan glisin tamponunda bakır kaplı kadmiyum granülleri, deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakika süreyle aralıklı karıştırılarak inkübe edilir. İnkübasyon sonunda nitratın tamamı nitrite indirgenmektedir. Üretilen total nitrit düzeyi, sülfanilamide ve N-naftiletilendiamin diazotizasyon reaksiyonu ile oluşan pembe rengin 545 nm’de spektrofotometre cihazında okunmasıyla tespit edilir. Çalışmamızda sonuçlar µmol/g protein olarak verildi.

3.2.4.4 Myeloperoksidaz Aktivite Tayini

MPO enziminin aktivitesi MPO aracılı H_2O_2 ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipyrine/phenol solüsyonu kullanılarak yapılır (67). Dokular homojenize edildikten sonra 3220 rpm/45 dakika +4 °C’de santrifüj edildi. 510 nm’de 5 dakika boyunca absorbans artışı kaydedildi. Lineer aktivite artışının gözlemlendiği absorbans değerleri hesaba katıldı. Enzimin 1 ünitesi; 25 °C ve 1 dakikada 1 μ mol H_2O_2 ’yi harcayan enzim olarak ifade edildi.

3.2.4.5. Numunelerde Protein Tayini

Protein tayini Lowry’nin metodu kullanılarak yapıldı (68). Metod alkali koşullar altında biüre reaksiyonu ve aromatik aminoasitlerin bakır katalizli oksidasyonundan sonra fosfomolibdikfosfotungistik asit ile heteropolimolibden Buradaki rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.2.5. Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10’luk formaldehitte fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında (Shandon Patcenter) rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom (Leica Rotary) ile her doku örneği için seri kesitler hazırlanarak, Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar gruplara kör olan tek bir patolog tarafından, ışık mikroskobunda (Nikon UFX-IIA, Japan) akciğer dokusu, interstisyum ve alveollerdeki iltihabi hücreleri açısından incelendi.

Tassiopoulos ve ark.’nın kullandıkları skorlama sistemi modifiye edilerek akciğerlerde oluşan hasarın miktarı saptandı (69).

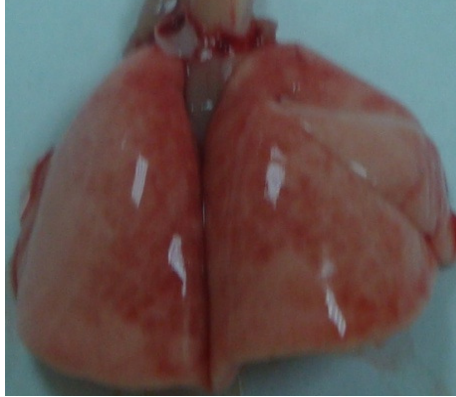
0 puan= Değişiklik yok

1 puan= Fokal, hafif değişiklikler

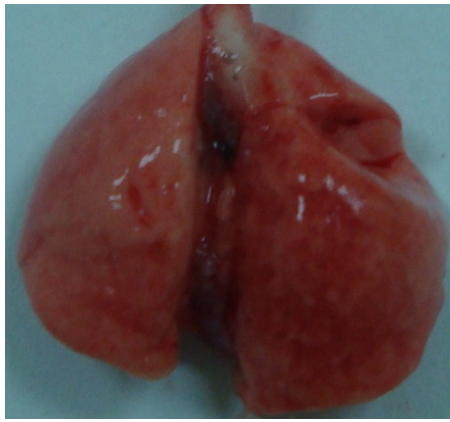
2 puan= Multifokal orta dereceli değişiklikler

3 puan= Multifokal belirgin değişiklikler

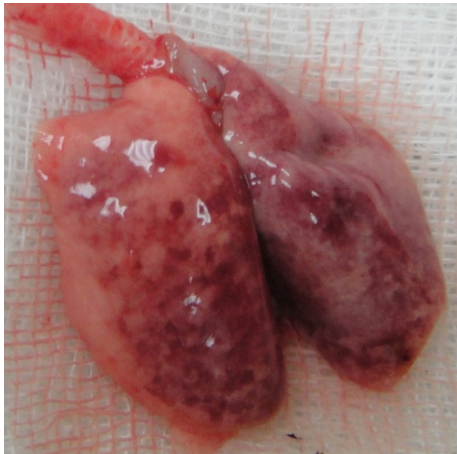
4 puan= Yaygın belirgin değişiklikler olarak değerlendirildi.



a



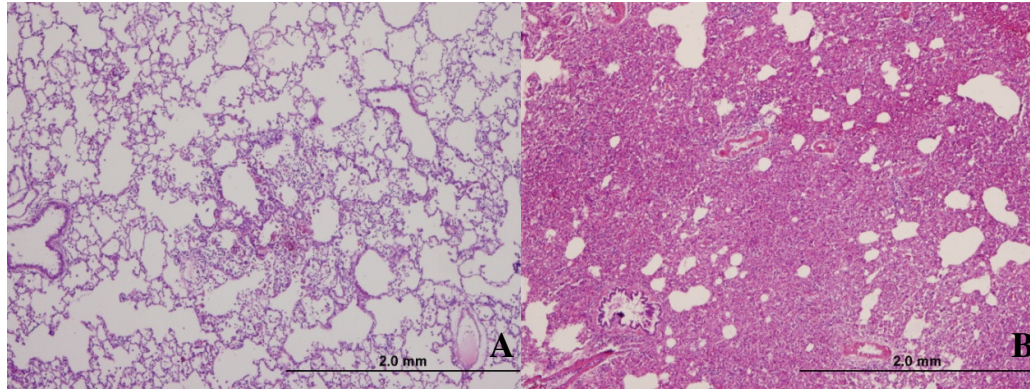
b



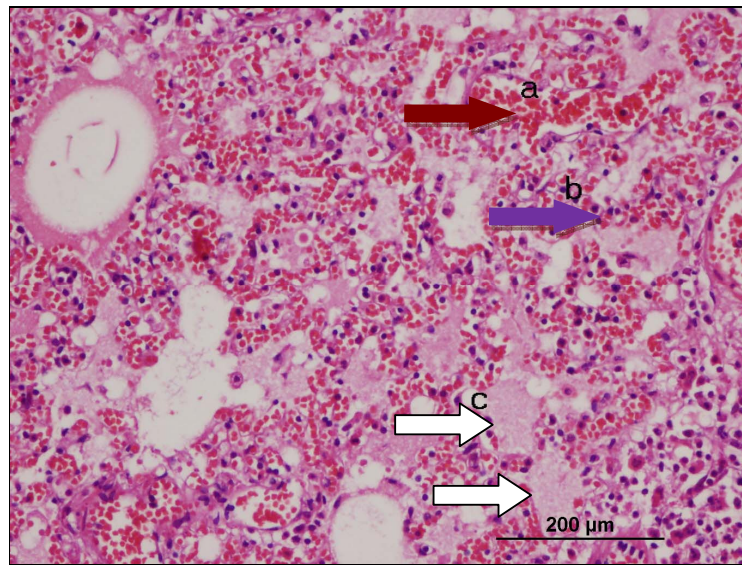
c

Resim 1: Akciğer makroskopik görünümü

- a: Travma uygulanmamış sham grubunda sağlıklı akciğer dokusu
b: Travma sonrası bilateral yaygın akciğer kontüzyon alanları
c: 2.0 joule enerji uygulaması ile oluşan künt toraks travması sonrası bilateral yaygın akciğer kontüzyon ve alveoler hemoraji alanları



Resim2: Kontüzyon oluşturulan akciğerin mikroskopik görüntüsü
(A: Skor 1 ve B: Skor 4)



Resim3: Kontüzyon oluşturulan akciğerin mikroskopik görüntüsü (Skor 4).
a: Kanama alanları(kırmızı ok)
b: Alveol ve interstisyumda iltihabi hücreler (mor ok)
c: Ödem (beyaz ok)

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler normale yakın dağılan değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde gösterilirken normale yakın dağılmayan değişkenler ortanca (minimum-maksimum) biçiminde ifade edildi.

Her bir izlem zamanı içerisinde araştırma gruplar arasında ve her bir araştırma grubu içerisinde izlem zamanları arasında ortalama değerler yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle araştırıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi veya Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması halinde farka neden olan durumları belirlemek amacıyla post hoc Tukey HSD veya parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

Bu çalışmada olası tüm sub-analizlerde Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır. Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda üç ana grup olan grup1, grup 2 ve grup 3 ve her bir ana grubun üç alt grubu olan 10. Dakika (0. gün), 24.saat (1. gün) ve 48.saat (2. gün) verileri değerlendirildi. Elde edilen veriler ağırlık, kan gazı değerleri, antioksidan enzim düzeyleri ve histopatolojik skorlamalar şeklinde tablo 3'de özetlendi. Ayrıca verilerin ayrıntılı değerlendirmesi Tablo 4-13 ve grafik 1-10'da yapıldı.

GRUP	ZAMAN GÜN	n	Ağırlık	Kan Gazı				Anti Oksidan Enzimler				Patoloji
				pH	pCO ₂	pO ₂	SO ₂	Nitrik Oksit	Glutatyon Peroksidaz	Superoksit Dismutaz	Myelo-peroksidaz	
			Ort±Std.Sp	Ort±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort.±Std.Sp	Ort±Std.Sp
GRUP 1	10. dakika	6	242,5±5,6	7,36±0,02	43,80±6,53	72,58±6,09	93,566±2,71	0,194±0,036	24,91± 2,31	0,195±0,029	0,099±0,019	0,00±0,00
	1. gün	6	243,5±8,6	7,34±0,02	45,15±7,40	72,50±3,72	92,925±2,14	0,204±0,026	25,77± 5,11	0,197±0,044	0,099±0,010	0,00±0,00
	2. gün	6	242,6±9,1	7,34±0,02	39,45±2,81	77,57±1,85	96,775±0,51	0,196±0,008	25,52± 3,74	0,210±0,027	0,105±0,009	0,00±0,00
GRUP 2	10. dakika	9	288,4±17,1	7,25±0,01	58,85±8,62	53,40±10,28	76,242±8,99	0,169±0,032	33,15± 5,97	0,232±0,031	0,125±0,013	3,22±0,83
	1. gün	9	285,0±18,2	7,24±0,01	64,98±7,89	51,37±8,26	72,000±8,39	0,164±0,029	43,33± 6,91	0,276±0,050	0,131±0,009	4,00±0,00
	2. gün	9	285,5±16,0	7,24±0,01	62,40±9,41	49,72±5,59	68,285±5,05	0,179±0,023	37,63± 5,38	0,235±0,035	0,125±0,002	4,00±0,00
GRUP 3	10. dakika	9	286,0±16,1	7,27±0,01	53,17±15,36	68,17±16,64	88,125±9,18	0,186±0,027	26,88± 4,78	0,201±0,042	0,112±0,014	3,00±1,00
	1. gün	9	286,±18,0	7,27±0,01	52,21±7,23	76,36±8,64	93,712±3,35	0,180±0,033	27,15± 5,03	0,214±0,025	0,111±0,024	2,33±0,50
	2. gün	7	273,8±7,8	7,25±0,01	44,00±5,36	79,65±12,5	94,185±4,51	0,182±0,038	24,81± 3,04	0,199±0,019	0,102±0,026	1,56±1,13
TOPLAM	GRUP 1	18	242,8±7,4	7,32±0,03	42,94±6,04	73,98±4,87	94,300±2,58	0,198±0,025	25,40± 3,67	0,201±0,032	0,101±0,013	0,00±0,00
	GRUP 2	27	286,3±16,5	7,25±0,08	62,08±8,61	51,50±7,99	72,176±8,01	0,171±0,028	38,04± 7,25	0,248±0,043	0,127±0,014	3,74±0,59
	GRUP 3	25	282,6±15,5	7,30±0,03	50,04±10,79	74,51±13,39	91,913±6,63	0,183±0,032	26,28± 4,33	0,204±0,030	0,108±0,021	2,30±1,06
	TOPLAM	70	273,8±23,2	7,29±0,04	52,68±11,74	66,05±14,81	86,130±5,74	0,182±0,030	30,47± 8,02	0,220±0,042	0,113±0,020	2,26±1,63

Tablo 3: Çalışmada yapılan tüm deneysel verilerin özeti.

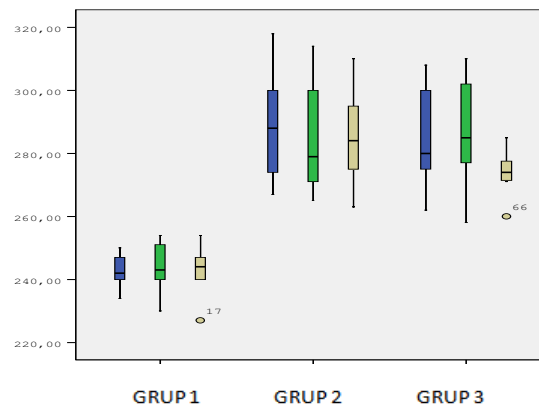
4.1. Rat Ağırlıkları:

Çalışmamızda kullanılan ratların ağırlık verileri tablo 4 ve grafik 1'de değerlendirilmiştir.

Tablo 4: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Rat Ağırlıkları

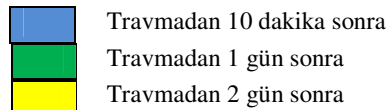
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	242,50±5,61 ^{AB}	288,44±17,12 ^A	286,00±16,06 ^B	<0,001
1.Gün	243,50±8,60 ^{AB}	285,00±18,21 ^A	286,00±18,01 ^B	<0,001
2.Gün	242,67±9,07 ^{AB}	285,56±15,96 ^A	274,22±6,81 ^B	<0,001
p-değeri ‡	0,973	0,901	0,159	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), B: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) izlendi.



Grafik 1 : Rat ağırlıklarının gruplara ve günlere göre dağılımı.

^o: Grup içi uç değerler ayrı olarak gösterilmiştir.



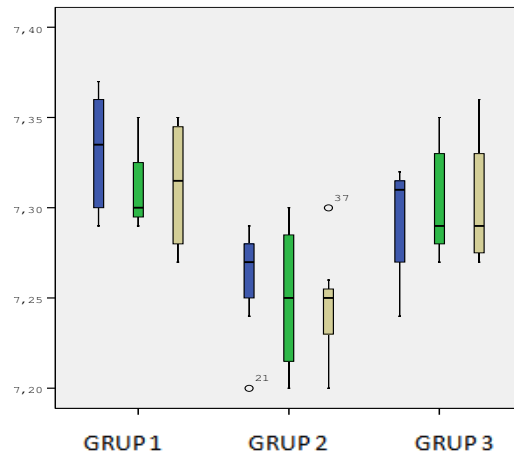
4.2. pH:

Çalışmamızda pH değeri tablo 5 ve grafik 2’de değerlendirilmiştir.

Tablo 5: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre pH Düzeyleri

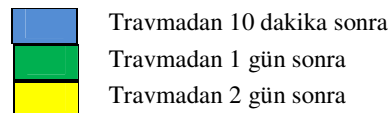
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	7,33±0,032 ^A	7,26±0,031 ^A	7,29±0,030	0,002
1.Gün	7,31±0,027	7,25±0,042 ^B	7,30±0,030 ^B	0,013
2.Gün	7,31±0,039	7,25±0,031 ^B	7,30±0,036 ^B	0,008
p-değeri ‡	0,529	0,741	0,789	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,002$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,017$).



Grafik 2: pH değerinin zaman dilimleri arasındaki ilişkisi

○: Grup içi uç değerler ayrı olarak gösterilmiştir.



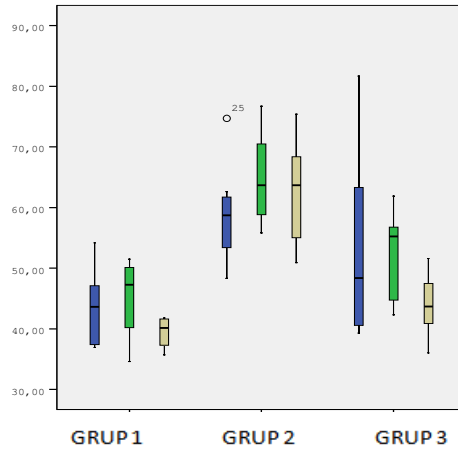
4.3. pCO₂:

Çalışmamızda pCO₂ değeri tablo 6 ve grafik 3'de değerlendirilmiştir.

Tablo 6: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre PCO₂ Düzeyleri

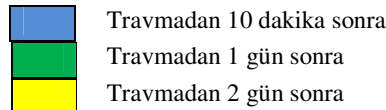
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	43,80±6,53	58,86±8,63	53,17±15,36	0,082
1.Gün	45,15±7,41 ^A	64,99±7,90 ^{AB}	52,21±7,24 ^B	<0,001
2.Gün	39,45±2,81 ^A	62,40±9,42 ^{AB}	44,00±5,37 ^B	<0,001
p-değeri ‡	0,401	0,431	0,209	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,017$) izlendi.



Grafik 3: pCO₂ değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi

^o: Grup içi uç değerler ayrı olarak gösterilmiştir.



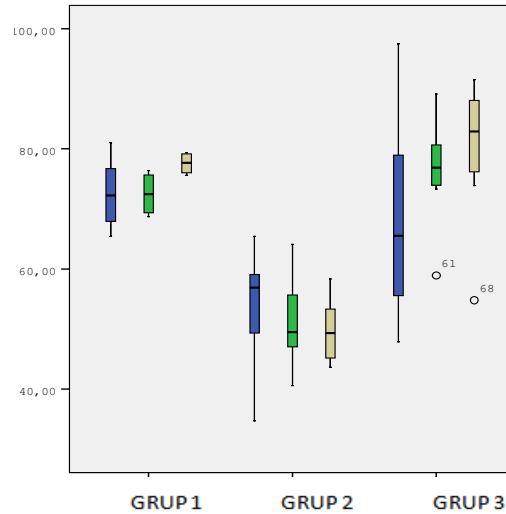
4.4. pO₂:

Çalışmamızda pO₂ değeri tablo 7 ve grafik 4’de değerlendirilmiştir.

Tablo 7: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre PO₂ Düzeyleri

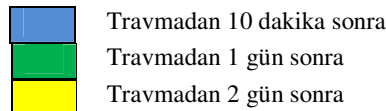
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	72,2 (65,4-81,0)	56,9 (34,7-65,4)	65,5 (47,9-97,5)	0,022
1.Gün	72,4 (68,7-76,4) ^A	49,5 (40,6-64,1) ^{AB}	76,8 (58,9-89,1) ^B	0,003
2.Gün	77,6 (75,6-79,4) ^A	49,3 (43,6-58,3) ^{AB}	82,9 (54,8-91,5) ^B	0,003
p-değeri ‡	0,254	0,579	0,217	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) izlendi.



Grafik 4: pO₂ değerinin zaman dilimleri arasındaki ilişkisi

○: Grup içi uç değerler ayrı olarak gösterilmiştir.



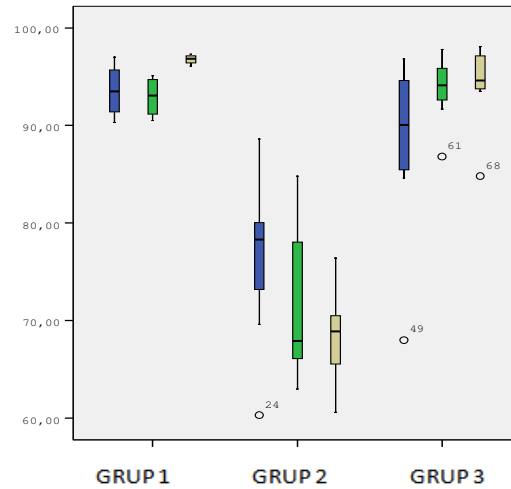
4.5. SO₂:

Çalışmamızda SO₂ değeri tablo 8 ve grafik 5’de değerlendirilmiştir.

Tablo 8 : Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre SO₂ Düzeyleri

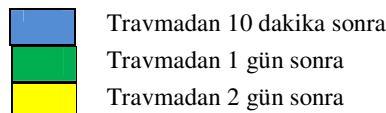
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	93,5 (90,3-97,0) ^A	78,3 (60,3-88,6) ^A	90,0 (68,0-96,8)	0,004
1.Gün	93,0 (90,5-95,1) ^A	67,9 (63,0-84,8) ^{AB}	94,1 (86,8-97,8) ^B	0,002
2.Gün	96,8 (96,1-97,3) ^A	68,9 (60,6-76,4) ^{AB}	94,6 (84,8-98,1) ^B	0,002
p-değeri ‡	0,040	0,205	0,167	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) izlendi.



Grafik 5: SO₂ değerinin zaman dilimleri arasında ilişkisi

○: Grup içi uç değerler ayrı olarak gösterilmiştir.



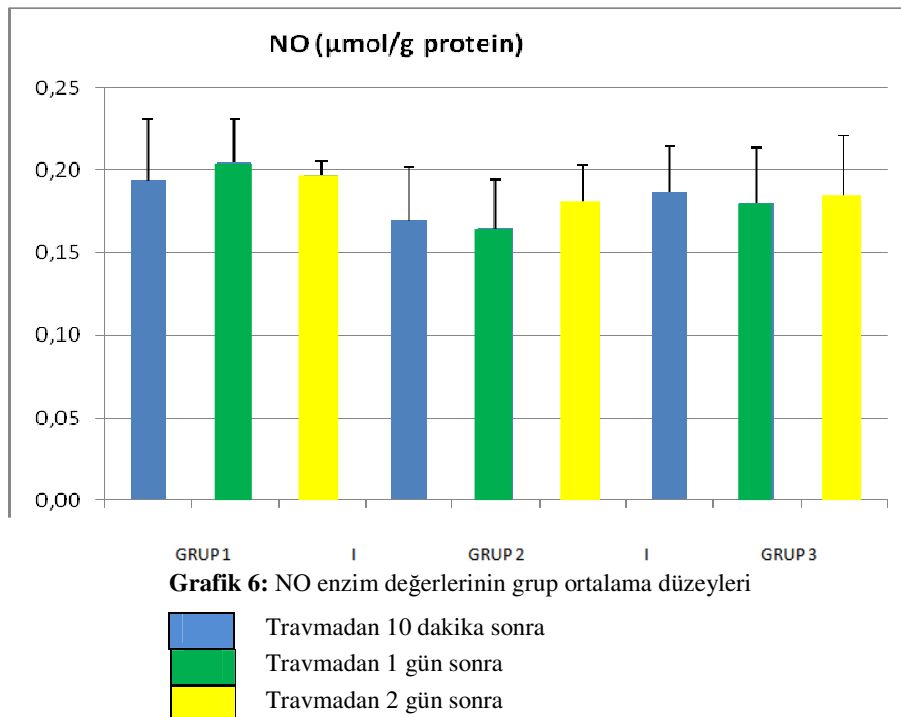
4.6 Nitrik Oksit

Çalışmamız NO değeri tablo 9 ve grafik 6'de değerlendirilmiştir.

Tablo 9: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre NO Düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	0,194±0,037	0,169±0,032	0,186±0,028	0,307
1.Gün	0,204±0,026	0,165±0,029	0,180±0,033	0,069
2.Gün	0,197±0,009	0,180±0,023	0,183±0,038	0,499
p-değeri ‡	0,797	0,539	0,933	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, NO Düzeyleri arasında fark olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık izlenmedi.



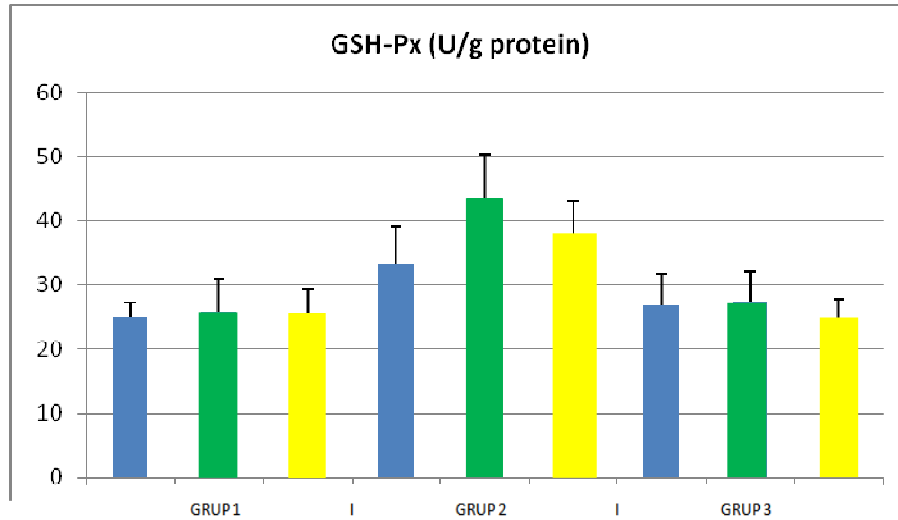
4.7 Glutasyon Peroksidaz

Çalışmamız GSH-Px değeri tablo 10 ve grafik 7’de değerlendirilmiştir.

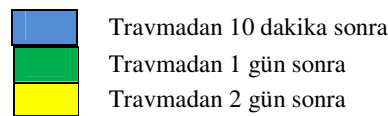
Tablo 10: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre GSH-Px Düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	25,3 (22,0-27,5) ^A	29,6 (27,7-42,2) ^{Aa}	26,8 (21,1-33,7)	0,005
1.Gün	25,4 (17,0-31,2) ^A	41,7 (36,4-56,3) ^{ABa}	24,9 (22,0-35,7) ^B	<0,001
2.Gün	24,1 (22,8-32,8) ^A	37,3 (27,5-46,1) ^{AB}	24,8 (21,1-29,9) ^B	<0,001
p-değeri ‡	0,767	0,014	0,523	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), a: 10.dk ile 1.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,004$) izlendi.



Grafik 7: GSH-Px enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri



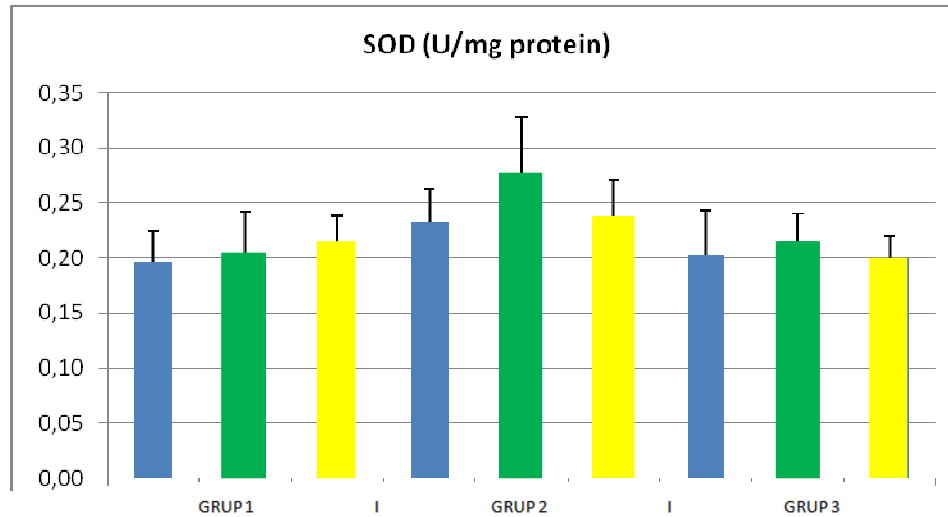
4.8. Süperoksitdismutaz

Çalışmamız SOD değeri tablo 11 ve grafik 8’de özetlemiştir.

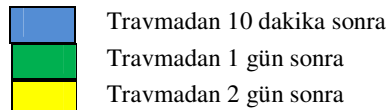
Tablo 11: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre SOD Düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	0,18 (0,17-0,24)	0,23 (0,19-0,28)	0,21 (0,14-0,25)	0,119
1.Gün	0,21 (0,12-0,24) ^A	0,28 (0,22-0,39) ^{AB}	0,21 (0,18-0,27) ^B	0,003
2.Gün	0,22 (0,16-0,23)	0,23 (0,19-0,30)	0,20 (0,18-0,23)	0,055
p-değeri ‡	0,686	0,070	0,581	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,005$), B: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) izlendi.



Grafik 8: SOD enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri



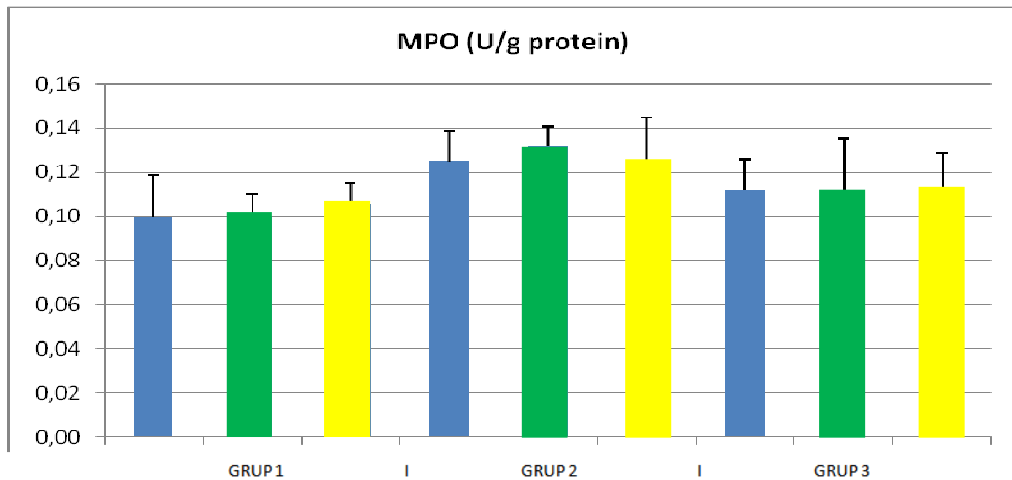
4.9. Myeloperoksidaz

Çalışmamız MPO değeri tablo 12 ve grafik 9’da özetlenmiştir.

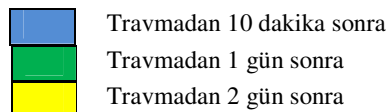
Tablo12: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre MPO Düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	0,100±0,019 ^A	0,125±0,013 ^A	0,112±0,014	0,015
1.Gün	0,100±0,010 ^{AB}	0,131±0,009 ^{AB}	0,111±0,024 ^B	0,005
2.Gün	0,106±0,010	0,125±0,020	0,103±0,026	0,072
p-değeri ‡	0,678	0,611	0,611	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), Bonferroni Düzeltmesine göre $p<0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,017$). B: travmanın birinci gününde Grup 1, Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,005$) izlendi.



Grafik 9: MPO enzim değerlerinin grup ortalama düzeyleri



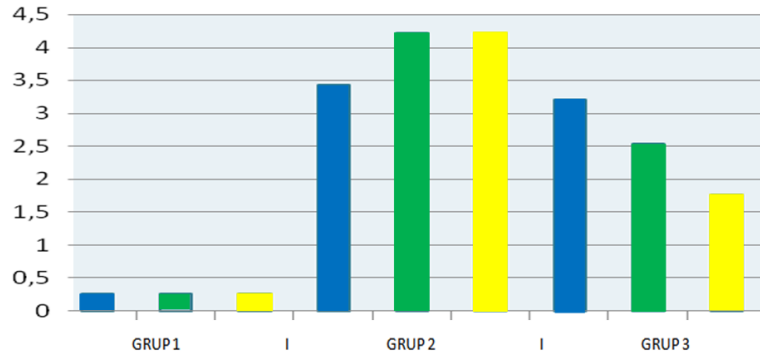
4.10 Patoloji skoru gruplar arası karşılaştırılması

Çalışmamızın akciğer patoloji skorlamasının değeri tablo 13 ve grafik 10'da özetlenmiştir.

Tablo13: Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Patoloji Skorları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p-değeri †
10.dk	0 (0-0) ^{AB}	3 (2-4) ^{Aab}	3 (1-4) ^B	<0,001
1.Gün	0 (0-0) ^{AB}	4 (4-4) ^{ACa}	2 (2-3) ^{BC}	<0,001
2.Gün	0 (0-0) ^{AB}	4 (4-4) ^{ACb}	2 (0-3) ^{BC}	<0,001
p-değeri ‡	1,000	0,003	0,020	

† İzlem zamanları içerisinde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Gruplar içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), B: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,017$), C: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), a: 10.dk ile 1.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,017$), b: 10.dk ile 2.Gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,017$) izlendi.



Grafik 10. Gruplara ve İzlem Zamanlarına Göre Patoloji Skorları

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kırk yaş altı insanlarda en sık ölüm nedeni olan travma bütün yaş gruplarında üçüncü sırada yer almaktadır (14). Bu ölümlerin %25'i toraks travması kaynaklı olup (6), bunların da yaklaşık üçte biri triyaj hatasından kaynaklanmaktadır (9,14).

Travma sonrasında meydana gelen alveoler aşırı gerilme ve buna bağlı yırtılma, alveol içi kanama ve buna bağlı gelişen interstisyel ödem alveole-kapiller hasara neden olarak kontüzyonu oluşturmaktadır (18). Toraks travmalarının %30-75'inde akciğer kontüzyonu mortalite ve morbiditeyi artıran bir yaralanmadır (17). Künt toraks travmalarında gelişen izole kontüzyon vakalarında mortalite %11 iken ekstratorasik yaralanmaların eşlik etmesi mortaliteyi % 20-30'a yükseltmektedir (16).

Akciğer kontüzyonu sonucu oluşan lökosit infiltrasyonuna bağlı salınan inflamatuvar mediyatörler serbest oksijen radikallerinin artmasına neden olmaktadır (22). Akciğer kontüzyonunda pulmoner vasküler direnç arttığı için pulmoner emboli için de predispozan bir faktör oluşur (25). Bununla beraber artmış intersitisyel ödem ve sekresyon sonucu enfeksiyona yatkınlık kolaylaşmaktadır (22). Ayrıca ALI ve ARDS izole kontüzyonda % 17 oranında gelişirken ilave yaralanmalarla %78'lere çıkmaktadır (24). Burada bahsettiğimiz mevcut tablonun en erken safhasında müdahalede bulunmak tedaviyi kolaylaştırırken maliyeti azaltmaktadır. Akciğer kontüzyonunun tedavisi tam bir konsensüs içerisinde olmamakla beraber tedavide ortak basamaklar; oksijen desteği, sekresyon temizliği, solunum fizyoterapisi ve analjezi sağlanmasıdır (15). Akciğer kontüzyonunun günümüzde halen tartışmalı olan tedavileri ise; sıvı resüsitasyonu çeşidi ve miktarı, steroidler (i.v. veya nebül), diüretikler ve antibiyotik kullanımlarıdır (15,16,18).

İnflamatuvar yanıtın miktarı prognozu etkileyen en önemli faktörlerden biridir ve burada ana faktör PNL'dir (26). ALI gelişip gelişmemesinde etkili olan durum proenflamatuvar ve antienflamatuvar dengedir (20). ARDS gelişiminde etki mekanizmalarının günümüzde biraz daha anlaşılması antienflamatuvar ve antioksidan tedavi üzerine çalışmaların artmasına neden olmuştur (21). Bu aşamada kan gazı değerleri hasta takibinde önemli bir takip kriteri sayılabilir. Thorson ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada yoğun bakımda takip edilen ARDS tanılı hastalarda

kan gazı değerlerinde kötüleŐme rapor etmiŐler (70). Çalışmamızda grup 2'nin kan gazı sonuçları grup 1'e göre hipoksi, hiperkarbi ve respiratuvar asidoz yönünde izlendi. Grup 3 kan gazı değerlerinin ise grup2'den istatistiksel olarak anlamı Şekilde daha iyi olduğu izlendi ($p<0.05$).

Membran yapısında mevcut bulunan araşidonik asit ve benzeri lipid yapılar serbest radikallerden etkilenerak lipid peroksidasyonunu baŐlatır (29,30,35). Burada gelişen oksidatif hasar sistemik dolaşıma da etki etmektedir (30). Hücre membranındaki lipid peroksidasyonu hücre duvarını anstabil hale getirip hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (35). Kont zyonda oluşan hasar ile ortama salınan endotoksinler, immünkompleksler, akciğer kontüzyonunda ALI ve ARDS gelişmesine neden olurlar (24,25). Hasarın olduğu bölgede, epitelyal ve endotelyal büyüme faktörleri, NO salınımı, nötrofil aktivasyonu ve agregasyonu ile trombosit artışı gibi değişiklikler izlenmektedir (29,32). İŐkemik periyotta endotel hasarında NO salınımı azalır (46), ve azalan NO nedeniyle vazokonstriksiyon artmaktadır (12,46). Vit C ve vit E'nin antioksidan etkilerinin kombinasyonu lipid stabilizasyonuna yardımcı olur ve antioksidan etkileriyle serbest radikallerden kaynaklanan lipid peroksidasyonunun kırılmasını sağladıkları literatürde mevcuttur (54,55,57). Çalışmamızda akut akciğer hasarında grup 2'de NO sentezinin azaldığı ve grup 3 ve grup 1'de normal düzeylerde seyrettiği izlendi.

Canlılarda yüksek oranda bulunan MPO nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, organizmada önemli rol oynamaktadır (54,71). Travma da akciğer kontüzyon alanına yüksek miktarda PNL infiltrasyonu, yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (25,27). Çalışmamızda grup 1 ve grup 3'de tespit edilen MPO seviyeleri grup 2'den istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu izlendi ($p<0.005$).

Glutasyon, sistein, glisin ve glutamik asit kombinasyonu ile oluşan bir protein yapısıdır (54,55). Hücre için antioksidan olan ve birçok fonksiyonel rolü defalarca incelenen bu proteinin oksidatif stres ve doku hasarında azaldığı bilinmektedir (64). Akciğer kontüzyonunda akciğer alveol ve damar endoteli zarar gördüğünden inflamatuvar süreçte kontüzyon alanına çok hızlı bir Şekilde monosit makrofaj g   olmaktadır (41-45,51). Analizlerimiz sonucunda grup 1 ve grup 3 aynı seviyelerde ve grup 2'de yüksek GSH-Px seviyesi tespit edilmiştir. Grup 1 ile Grup 2 arasındaki

fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

Travma sonrasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinden olan süper oksit anyonu ortamda bulunan NO ve daha çok SOD ile detoksifiye edilir (72). Vitamin E ile hızla indirgenen SOD enzimi tekrar işlevsel hale gelir (72). Bizim çalışmamızda grup 3 SOD enzim düzeyleri grup 1 ile benzer seviyelerde bulunurken grup 2’de yüksek düzeylerde tespit edilmiştir. Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,005$), Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) izlendi.

Kortikosteroidler ve nonsteroidler bir araziidonik asit metabolizması basamağı olan fosfolipaz, siklooksijenaz ve NO sentaz enzimlerine etki etmek suretiyle enflamatuvar yolağın üç önemli ürünü olan prostaglandin, prostosiklin ve lökotrien salınımını azaltır (60). Bununla beraber bu etki vücudun genelinde de görüleceğinden savunma mekanizması da etkilenmiş olur. ARDS tedavisinde tam olarak etki mekanizması kesinlik kazanmasa da deneysel çalışmalarda morbidite ve mortaliteyi azalttığı yönünde bilgiler mevcuttur (25).

Kontüzyonda oluşan hasar sonucu salgılanan mediyatörler aracılığıyla ortaya çıkan fibroblastların aktive olması sonucu fibrozis oluşmaktadır (28,29), bu nedenle fibrozis oluşmadan verilecek olan antioksidan tedaviden alınacak cevap daha yüksektir. İmmün yanıt sonrası salgılanan proenflamatuvar mediyatörler interstisyumda inflamatuvar sürecin oluşmasını sağlayarak alveoller arası ödem gelişmesine bu nedenle alveole-kapiler düzeyde gaz değişiminin bozulmasına neden olmaktadır (42,43). Bu süreçte etkili olan interlökin ve prostaglandin metabolitlerinin verilecek olan antioksidan tedaviyle azalması beklenir.

Meduri ve ark. geç dönem ARDS’li hastalardan akciğer biyopsileri almışlar, steroid tedavisine cevap veren grupta, miks hücreli fibrozis, korunmuş alveoler yapı ve arteriyal subintimal fibroproliferasyona sahip akciğer histolojisini göstermişlerdir. Tedaviye cevapsız grupta, yoğun hücreli fakir fibrozis, bozulmuş alveoler yapı ve arteriyal subintimal proliferasyon görülmüş (73). Card ve ark. yapmış oldukları çalışmada ARDS ‘nin geç döneminde vitamin E verilmesi ile akciğer histopatolojisi değerlendirmesinde ödemin ve fibroblastların azaldığını izlemişlerdir (61). Çalışmamızda grup 2’de erken dönemde oluşan interstisyel ödem ve yoğun PNL

infiltrasyonu, travmanın 1. ve 2. günlerinde artmış olarak izlendi. Grup 3'de infiltrasyonun travmadan sonra kısmi olarak gerilediği izlenmiştir (Grafik 10). Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,017$), Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

Sonuç olarak akciğer kontüzyonunda mortalite ve morbiditenin azalması amacıyla erken dönemde vitamin C ve vitamin E uygulanmasının etkinliğini araştırdığımız çalışmamızda gerek kan gazı, gerek biyokimyasal gerekse patolojik sonuçlarımız değerlendirildiği zaman, vitamin C ve vitamin E'nin oksidatif stresi kırdığı ve kontüzyonun klinik ve biyokimyasal parametrelerini azalttığı istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ile tespit edilmiştir. İçinde bulunduğumuz yüzyılda, özellikle maliyet hasta müdahalesinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Sıçanlarda oluşturulan deneysel akciğer kontüzyonunda antioksidan Vitamin C ve Vitamin E kullanımının akciğerde kontüzyon şiddetini ve hücre hasarını azalttığını gözlemledik. Bu nedenle morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan akciğer kontüzyonunda anti oksidan destek tedavi olarak vitamin C ve vitamin E'nin akciğer kontüzyonu tedavi sürecini hızlandıracağına inanmaktayız. Ancak deney ratlar üzerinde çalışılmış olduğundan insanlar üzerinde aynı sonucun alınabileceği kesin değildir. Bu yöntemin etkinliğinin araştırılması için, daha ileri ve farklı ajanlarla karşılaştırmalı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. ÖZET

Bilateral İzole Akciğer Kontüzyonu Yapılan Ratlarda Vitamin C ve Vitamin E Etkinliğinin Araştırılması

Giriş: Akciğer kontüzyonu künt toraks travmalarında en sık görülen intratorasik yaralanmadır. Vitamin C adenozin trifosfat üretiminde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) için güçlü bir antioksidandır. Vitamin E vücutta oluşan serbest radikallerin neden olduğu hücresel hasarı nötralize eden bir antioksidandır. Çalışmamızın amacı akciğer kontüzyonunda mortalite ve morbiditenin azalması için erken dönemde uygulanan vitamin C ve vitamin E etkinliğinin araştırılmasıdır.

Materyal-Metod: Çalışmada toplam 72 adet 12-14 haftalık 250–350 gr ağırlık aralığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Travmanın şiddeti 2.0 joule olarak belirlendi. Grup 1’de (n:18) göğüs kafesi elle manipüle edildi, 10 dakika, 24 saat ve 48 saat sonra i.m. ve i.p. serum fizyolojik (SF) yapıldı. Grup 2’ye künt göğüs travması uygulandı ve 10 dakika, 24 saat ve 48 saat sonra i.m. ve i.p. SF yapıldı. Grup 3’e künt göğüs travması sonrası 10 dakika, 24 saat ve 48 saat sonra i.p. vit C (200 mg/kg) ve i.m. vit E (150 mg/kg) verildi. Bu gruplar 0, 1 ve 2 olmak üzere üç alt gruba bölündü. Her üç grubun alt bölümlerinden 0. , 1. ve 2. günlerde abdominal aorta’dan arter kan gazı alındı ve sonrasında kanamaya bırakılarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyondan sonra akciğer doku örneği alındı.

Bulgular: Travma sonrasında alınan arteriyel kan gazı sonucunda pH ve pCO₂ düzeyleri Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı (p<0,017), pO₂ ve sO₂ düzeyleri Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001) olarak izlendi. Antioksidan enzimlerde, NO düzeyleri arasında fark olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık izlenmedi. GSH-Px ve SOD düzeyleri Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), GSH-Px Grup 2’de 0. ile 1.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,004) bulundu. MPO düzeylerinde travmanın birinci gününde Grup 2 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,005) izlendi. Patoloji Skorları değerlendirildiğinde Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0,001) izlendi.

Sonuç: Sıçanlarda oluşturulan deneysel akciğer kontüzyonunda antioksidan Vitamin C ve Vitamin E kullanımının akciğerde kontüzyon şiddetini ve hücre hasarını azalttığı gözlemlendi.

7. SUMMARY

The Evaluation of Vitamin C and Vitamin E Effects on Isolated Bilateral Lung Contusion in Rats

Introduction: Lung contusion, the most common intrathoracic injury, in blunt thoracic trauma. Vitamin C is a powerful antioxidant for free oxygen radicals (FOR), resulting from production of adenosine triphosphate. Vitamin E is an antioxidant to neutralize the cellular damage, caused by free radicals that occur in the body. The aim of this study was to investigate the effectiveness in the early period of vitamin C and vitamin E administration for reducing morbidity and mortality in lung contusion.

Material and Method: Seventy-two male Sprague-Dawley rats weighing 250–350 g (12–14 weeks) were used for the experimental procedures. The severity of the trauma was determined as 2.0 joules. Group 1 (n = 18) are manipulated manually from chest, after 10 minutes (min), 24 hours (hrs) and 48 hrs the physiological saline (PS) was administered intramuscular (i.m.) and intraperitoneal (i.p.). Group 2 was performed blunt chest trauma, 10 min, 24 hrs and 48 hrs after the trauma, PS was administered i.m. and i.p.. Group 3 was performed blunt chest trauma, 10 min, 24 hrs and 48 hrs after the trauma, vitamin C (200 mg / kg) i.p., vitamin E (150 mg / kg) i.m. administered. Each of the three groups, the subgroups of the 0, 1 and 2 days, 2 ml of blood sample were taken for arterial blood gas analysis from abdominal aorta and then left to bleed for sacrificed on the same day. After sacrifice lung tissue samples were taken for histopathological evaluation.

Results: There were statistically significant differences ($p < 0.017$) between Group 2 and Group 3 for arterial blood gases, pH and $p\text{CO}_2$ levels. Furthermore, we also observed statistical significance ($p < 0.001$) between PO_2 , SO_2 levels in Group 2 and Group 3. Antioxidant enzymes; although the difference between the all groups levels of NO, statistical significance was not observed. We determined statistically significant ($p < 0.001$) difference of GSH-Px and SOD levels between Group 2 and Group 3, respectively. When we evaluate the MPO activity for three different time periods, we observed statistically significant difference ($p < 0.005$) between Group 2

and 3 only in the first day. Pathology scores were expressed statistically significant difference between Group 2 and Group 3 ($p < 0.001$).

Conclusion: Our results suggest that, Vit C and Vit E administration reduce the severity of lung contusion and decrease levels of oxidative stress triggered cell damage in experimental pulmonary contusion model in rats.

KAYNAKLAR

1. Ertekin C. Multipl Travmalı Hastaya Yaklaşım. Yoğun Bakım Dergisi 2002;2(2):77-87.
2. Tekinbas C, Eroglu A, Kurkcuoglu IC, Turkyılmaz A, Yekeler E, Karaoglanoglu N. Toraks Travmaları: 592 Olgunun Analizi. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2003;9(4):275-80.
3. Leblebici Hİ, Kaya Y, Koçak AH. Göğüs travmalı 302 olgunun analizi. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2005;13(4):392-6.
4. Basoglu A, Akdag AO, Celik B, Demircan S. Thoracic trauma: an analysis of 521 patients. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2004 Jan;10(1):42-6.
5. Altunkaya A, Aktunç E, Kutluk AC, Büyükatel M, Demircan N, Demir AS. Göğüs travmalı 282 olgunun analizi. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi. 2007;15:127-32.
6. Yücel O, Sapmaz E, çaylak H, Gözübüyük A, Gürkök S, Dakak M, et al. Hastaneye yatırılmayı gerektiren toraks travmalı 748 olgunun analizi. Gulhane Med J. 2009;51:86-90.
7. Çobanoğlu U. Göğüs Travması: 110 Olgunun Analizi. Toraks Dergisi. 2006;7(3):162-9.
8. Çağrııcı U, Uç H, Çalkavur T, Gürcün U, Badak İ, Bilkay Ö, et al. Toraks Travmaları: 6 Yıllık Deneyimlerimiz. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 1998;4(4):248-52.
9. Turgut AT, Koşar U, Liman ŞT, Ünlübay D, TaşTepe İ. Toraks Travmalarında Radyoloji. Solunum Hastalıkları 2001;12:320-328.
10. Kaynak K ML, Dilege S, Kalaycı G, Giles Y, Özçelik C, Sözüer E, Küçük C. Toraks travmaları. In: Erkin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu M, editors. Travma. İstanbul: Medikal yayıncılık; 2005: 819-73.
11. Valenca SS, Bezerra FS, Romana-Souza B, Paiva RO, Costa AM, Porto LC. Supplementation with vitamins C and E improves mouse lung repair. J Nutr Biochem. 2008 Sep;19(9):604-11.
12. Sirmali M, Uz E, Sirmali R, Kilbas A, Yılmaz HR, Altuntas I, et al. Protective effects of erdoesteine and vitamins C and E combination on ischemia-reperfusion-induced lung oxidative stress and plasma copper and zinc levels in a rat hind limb model. Biol Trace Elem Res. 2007 Jul;118(1):43-52.

13. Shields TW, LoCicero J, Ponn RB. General thoracic surgery. 6th ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2005:1; 1-135
14. Yüksel M. Kalaycı NG. Göğüs Cerrahisi. Bilmedya grup; 2001:19-65.
15. Ökten İ. Güngör A. Göğüs Cerrahisi. Sim Matbacılık; 2003: 1; 36-98.
16. Tüzün H. Toraks Travmaları. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; (Acil Hekimlik Sempozyumu İstanbul) 16-17.10.1997; 81-85.
17. Çobanoğlu U, Yalçınkaya İ. Toraks yaralanmaları. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2010;16(1):77-83.
18. Kaya A., C. S. Toraks Tavmaları. Solunum Acilleri. Ankara: Poyraz; 2007:199-211.
19. Yazkan R. Erişkin İzole Göğüs Travmalarında Akciğer Kontüzyonu: 73 Olgunun Analizi. Bidder Tıp Bilimleri Dergisi 2011;3(3): 9-15.
20. Kaya H, Kafalı ME, Aydın K, Şahin M, Duran A, Bayır A, et al. A Novel Experimental Bilateral Blunt Chest Trauma Model on Rabbits and its Effects in Lung. Journal of Academic Emergency Medicine(JAEM) 2011: 103-9
21. Oppenheimer L, Craven KD, L. F. Pathophysiology of pulmonary contusion in dogs. J Applied Phys. 1979; 47:718-28.
22. Ocalan K, Solak O, Esmel H, Sirmali M, Dilek H, Oz G, et al. Efficacy of budesonide and interleukin-10 in an experimental rat model with isolated bilateral pulmonary contusion created by blunt thoracic trauma. Eur J Cardiothorac Surg. 2012 Jun 24. Eur J Cardiothorac Surg (doi:10.1093/ejcts/ezs313)
23. SR. S. Blunt chest trauma. The intensivist's perspective. J Intensive Care Med. 1986;1:125-36.40- Velanovich V. Crystalloid vs colloid fluid resuscitation. A meta-analysis of mortality. Surgery. 1989; 105: 65-71. .
24. Miller HB, Taylor GA, Mc Murtry RY, BA. ML. Management of blunt trauma. Baltimore. Williams&Wilkins. 1990; 191-92. .
25. Rocco PRM, Souza AB, Faffe DS, Passaro CP, Santos FB, Negri EM. Effect of corticosteroid on lung parenchyma remodeling at an early phase of Acute Lung Injury. Am J Respir Crit Care Med. 2003; 168:677-84.
26. Aslan A.T, Doğru D, U. Ö. Akut respiratuar distress sendromu. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2004; 47: 209-21.
27. Brower RG, Ware LB, Y. B. Treatment of ARDS. Chest. 2001; 120:1347-67.

28. Kanazawa H, Kurihara N, Hirata K, T. T. The role of free radicals in airway Obstruction in asthmatic patients. *Chest*. 1991;100:1319-22. .
29. Cuthbertson BH, Galley HF, NR. W. Effect of inhaled nitric oxide on key mediators of the infammatory response in patients with acute lung injury. *Crit CareMed*. 2000;28:1736-41
30. Akkuş I, Gültekin F, Aköz M, Çağlayan O, Bahçeci S, Can UG, et al. Effect of moderate alcohol intake on lipid peroxidation in plasma, erythrocyte and leukocyte and on some antioxidant enzymes. *Clin Chim Acta*. 1997;31:266,141-7.
31. Adam B. Serbest radikaller. *Biokimya ve Klinik Biokimya*:2004;559-70.
32. Beckman J, W. K. Nitric oxide, superoxide, and peroxyxynitrite. The good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol*. 1996; 271: 1424-37.
33. Champe P.C. HRA, Ferrier D.R., (çevri ed.) Ulukaya E. *Biyokimya*. 3. baskı ed. Harvey R. A., P.C. c, editors. Bursa: Nobel Tıp Kitabevi; 2007.
34. Varadharaj S, Steinhour E, Hunter MG, Watkins T, Baran CP, Magalang U, et al. Vitamin C-induced activation of phospholipase D in lung microvascular endothelial cells: regulation by MAP kinases. *Cell Signal*. 2006 Sep;18(9):1396-407.
35. Draper HH, M. H. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-31.
36. Turut H, Ciralik H, Kilinc M, Ozbag D, Imrek SS. Effects of early administration of dexamethasone, N-acetylcysteine and aprotinin on inflammatory and oxidant-antioxidant status after lung contusion in rats. *Injury*. 2009 May;40(5):521-7.
37. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD, Huang P. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008 Aug;10(8):1343-74.
38. Martin TR, Wurfel MM. A TRIFfic perspective on acute lung injury. *Cell*. 2008 Apr 18;133(2):208-10.
39. Majetschak M, Sorell LT, Patricelli T, Seitz DH, Knoferl MW. Detection and possible role of proteasomes in the bronchoalveolar space of the injured lung. *Physiol Res*. 2009;58(3):363-72.
40. Woollard KJ, Loryman CJ, Meredith E, Bevan R, Shaw JA, Lunec J, et al. Effects of oral vitamin C on monocyte: endothelial cell adhesion in healthy subjects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Jun 28;294(5):1161-8.
41. Taylor CG, McCutcheon TL, Boermans HJ, DiSilvestro RA, Bray TM. Comparison of Zn and vitamin E for protection against hyperoxia-induced lung damage. *Free Radic Biol Med*. 1997;22(3):543-50.

42. Papadimos TJ. The beneficial effects of inhaled nitric oxide in patients with severe traumatic brain injury complicated by acute respiratory distress syndrome: a hypothesis. *J Trauma Manag Outcomes*. 2008;2(1):1-7.
43. Proudfoot AG, Hind M, Griffiths MJ. Biomarkers of acute lung injury: worth their salt? *BMC Med*. 2011;9:132.
44. Maniatis NA, Kotanidou A, Catravas JD, Orfanos SE. Endothelial pathomechanisms in acute lung injury. *Vascul Pharmacol*. 2008 Oct-Dec;49(4-6):119-33.
45. Lucas R, Verin AD, Black SM, Catravas JD. Regulators of endothelial and epithelial barrier integrity and function in acute lung injury. *Biochem Pharmacol*. 2009 Jun 15;77(12):1763-72.
46. Zingg JM. Vitamin E: an overview of major research directions. *Mol Aspects Med*. 2007 Oct-Dec;28(5-6):400-22.
47. Yano M, Kishida E, Iwasaki M, Kojo S, Masuzawa Y. Docosahexaenoic acid and vitamin E can reduce human monocytic U937 cell apoptosis induced by tumor necrosis factor. *J Nutr*. 2000 May;130(5):1095-101.
48. Raghavendran K, Notter RH, Davidson BA, Helinski JD, Kunkel SL, Knight PR. Lung contusion: inflammatory mechanisms and interaction with other injuries. *Shock*. 2009 Aug;32(2):122-30.
49. Jansson AH, Eriksson C, Wang X. Effects of budesonide and N-acetylcysteine on acute lung hyperinflation, inflammation and injury in rats. *Vascul Pharmacol*. 2005 Aug;43(2):101-11.
50. Bai JW, Deng WW, Zhang J, Xu SM, Zhang DX. [Protective effect of myosin light-chain kinase inhibitor on acute lung injury]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2009 Apr;21(4):215-8.
51. Ayala A, Chung CS, Lomas JL, Song GY, Doughty LA, Gregory SH, et al. Shock-induced neutrophil mediated priming for acute lung injury in mice: divergent effects of TLR-4 and TLR-4/FasL deficiency. *Am J Pathol*. 2002 Dec;161(6):2283-94.
52. Halliwell B, Gutteridge J.M.C., C.E. C. Free radicals, antioxidants, and human disease. where are we now? *J Lab Clin Med*. 1992; 119:598-20. .
53. Gürdol F, Ademoğlu E. *Biyokimya*. 2006;İstanbul-Nobel Kitabevleri-Mabaacılık:674-5.
54. Develioglu AH, Taner İL. Myeloperoksidaz'ın Özellikleri Ve Periodontal Hastalıktaki Önemi. *Cumhuriyet Üni Dişhekimliği Fak Derg* 1998;1(1):24-7.

55. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 3 ed. New York: Worth Publishers; 2000:879,87
56. Bowie AG, O'Neill LA. Vitamin C inhibits NF-kappa B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol.* 2000 Dec 15;165(12):7180-8.
57. Carcamo JM, Pedraza A, Borquez-Ojeda O, Golde DW. Vitamin C suppresses TNF alpha-induced NF kappa B activation by inhibiting I kappa B alpha phosphorylation. *Biochemistry.* 2002 Oct 29;41(43):12995-3002.
58. Faria RR, Abilio VC, Grassl C, Chinen CC, Negrao LT, de Castro JP, et al. Beneficial effects of vitamin C and vitamin E on reserpine-induced oral dyskinesia in rats: critical role of striatal catalase activity. *Neuropharmacology.* 2005 Jun;48(7):993-1001.
59. Champe PC, Ferrier DR, Harvey RA, Ulukaya E. (çevri ed.) *Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevleri, Üçüncü Baskı* 2007;69-170.
60. Wigenstam E, Rocksen D, Ekstrand-Hammarstrom B, Bucht A. Treatment with dexamethasone or liposome-encapsuled vitamin E provides beneficial effects after chemical-induced lung injury. *Inhal Toxicol.* 2009 Sep;21(11):958-64.
61. Card JW, Leeder RG, Racz WJ, Brien JF, Bray TM, Massey TE. Effects of dietary vitamin E supplementation on pulmonary morphology and collagen deposition in amiodarone- and vehicle-treated hamsters. *Toxicology.* 1999 Apr 15;133(2-3):75-84.
62. Raghavendran K, Davidson BA, Helinski JD, Marschke CJ, Manderscheid P, Woytash JA, et al. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma. *Anesth Analg.* 2005 Nov;101(5):1482-9.
63. Yücel O, Genç O, Özcan A, Çaylak H, Gözübüyük A, Gürkök S, et al. The blunt thoracic trauma model on rat lungs: an experimental study. *Gulhane Med J.* 2008;50:249-52.
64. Paglia DE, WN. V. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-69.
65. Sun Y OL, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988; 34(3):497-500. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988; 34(3):497-500.
66. Cortas NK, NW. W. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-3.

67. Wei H, Frenkel H. In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin. *Cancer Res.* 1991;51:4443-9.
68. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, RJ. R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
69. Tassiopoulos AK, Carlin RE, Gao Y, Pedoto A, Finck CM, Landas SK, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities. *Journal of vascular surgery.* 1997;26(4):647-56.
70. Thorson SH, Marini JJ, Pierson DJ, Hudson LD. Variability of arterial blood gas values in stable patients in the ICU. *CHEST.* 1983;84(1):14-18.
71. Oslen RL, Little C. Purification and some properties of myeloperoxidase and eosinophil peroxidase from human blood. *Biochem J.* 1983 March 1; 209(3): 781-7.
72. Chabot F, Mitchell JA, Evans TW, Gutteridge JMC. Reactive oxygen species in acute lung injury. *Eur Respir J* 1998; 11: 745-757
73. Meduri GU, Chinn AJ, Leeper KV, Wunderink RG, Tolley E, Winer-Muram HT. Corticosteroid rescue treatment of progressive fibroproliferation in late ARDS: Patterns of response and predictors of outcome. *Chest.* 1994; 105:1516-27.