

T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ  
ANABİLİM DALI

TEZEK DUMANINA MARUZ BIRAKILAN TAVŞANLARDA  
N-ASETİL SİSTEİNİN HİSTOPATOLOJİK VE  
OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

DR. LEVENT TETİK

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MEHMET ÜNLÜ

AFYONKARAHİSAR 2006

**T.C.**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ**  
**ANABİLİM DALI**

**Tez Başlığı** : Tezek dumanına maruz bırakılan tavşanlarda N-asetil sisteinin histopatolojik ve oksidan/antioksidan sistem üzerine etkileri  
**Tezi Hazırlayan** : Dr. Levent TETİK  
**Tez Savunma Tarihi** : 04.04.2006  
**Tez Kabul Tarihi** : 04.04.2006  
**Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Mehmet ÜNLÜ

İş bu çalışma jürimiz tarafından GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ ANABİLİM DALI' nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet ÜNLÜ  
BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Fatma FİDAN  
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Murat SEZER  
ÜYE

Prof. Dr. Mustafa SOLAK  
ONAY  
DEKAN

Bu araştırmanın gerekleştirilmesinde değerli katkıları bulunan başta tez danışmanım olan Gęős Hastalıkları ve Tüberkölöz Anabilim Dalı Başkanı Do. Dr. Mehmet ÜNLÜ'ye, Gęős Hastalıkları ve Tüberkölöz Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Do. Dr. Fatma FİDAN, Yrd. Do. Dr. Murat SEZER ve Do. Dr. Ayře ORMAN'a , Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Do. Dr. Töluy KÖKEN'e, Gęős Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Hıdır ESME'ye, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Do. Dr. iędem TOKYOL'a, bölümümüz mensubu asistan arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan aileme, sevgili eşim Mimar Ferhal TETİK ve biricik kızım Eda'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

I-GİRİŞ	1
II-GENEL BİLGİLER	3
2.1. TANIM	3
2.2. BİYOMAS KAYNAKLARI	3
2.3. BİYOMAS YAKITLAR	3
2.4. PİROLİZ	4
2.5. GAZ HALİNDEKİ BİYOMAS	4
2.6. BİYOMASIN YAKIT ÖZELLİKLERİ	4
2.7. YANAN BİYOMASIN KİMYASI VE YANMA ÜRÜNLERİNİN ÖLÇÜM DEĞERLERİ	5
2.8. KULLANIM ŞEKLİ VE ÜLKEMİZDE KULLANILDIĞI YERLER	7
2.9. BİYOMAS YAKITLARIN SOLUNUM SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ	9
2.9.1. ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONLARI	10
2.9.2. KRONİK AKCİĞER HASTALIKLARI	11
2.9.3. KANSER	12
2.9.4. DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIĞI VE YENİDOĞAN MORTALİTESİ	13
2.9.5. KATARAKT	14
2.10. HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	14
2.11. RADYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	15
2.12. OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM	16
2.12.1. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİ	16
2.12.2. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ	18
2.12.3. GLUTATYON PEROKSİDAZ	19

2.12.4. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN ORGANİZMADAKİ KAYNAKLARI	20
2.12.4.A. BİYOLOJİK KAYNAKLARI	20
2.12.4.B. HÜCRESEL KAYNAKLARI	21
2.12.5. OKSİJEN TÜREVİ OLMAYAN SERBEST RADİKALLER	23
2.12.5.A. TİYOL BİLEŞİKLERİ	23
2.12.5.B. KARBON MERKEZLİ RADİKALLER	23
2.12.6. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN ETKİLERİ	24
2.12.6.A. MEMBRAN LİPİTLERİNE OLAN ETKİLERİ	24
2.12.6.B. PROTEİNLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ	27
2.12.6.C. KARBONHİDRATLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ	28
2.12.6.D. NÜKLEİK ASİTLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ	28
2.12.7. MALONDİALDEHİT	28
2.12.8. ANTİOKSİDANLAR	29
2.12.8.A. SERBEST RADİKALLERİN OLUŞUMUNU ENGELLEYENLER	30
2.12.8.B. OLUŞAN REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİ ORTADAN KALDIRANLAR	31
2.12.9. BİYOMAS DUMANI MARUZİYETİ, SİGARA, AKCİĞERLER VE OKSİDATİF HASAR	32
2.12.10. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİ İLE İLİŞKİLİ AKCİĞER HASTALIKLARI	32
2.12.10.A. KOAH	32
2.12.10.B. BRONŞİYAL ASTİM	33
2.12.10.C. KANSER	33
2.12.10.D. İSKEMİ-REPERFÜZYON	33

2.12.10.E. PULMONER FİBROZİS	33
2.12.10.F. HAVA KİRLİLİĞİ	34
2.12.10.G. AKUT RESPIRATUAR DİSTRES SENDROMU	35
2.13. N-ASETİLSİSTEİN	35
III- GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. GEREÇ	38
3.1.1. KULLANILAN CİHAZLAR	38
3.1.2. DENEY HAYVANLARI (TAVŞANLAR)	38
3.1.3. CAM KAFES	39
3.1.4. KULLANILAN SOLÜSYONLAR VE ÇÖZELTİLER	40
3.2. YÖNTEM	40
3.2.1. TAVŞANLARIN BİYOMAS DUMANINA MARUZ BIRAKILMASI	40
3.2.2. İLACIN VERİLME YÖNTEMİ	41
3.2.3. TAVŞANLARIN SAKRİFİYE EDİLMESİ	41
3.2.4. PATOLOJİK YÖNTEM	42
3.2.5. BİYOKİMYASAL YÖNTEM	43
3.2.5.A. PLAZMA MDA DÜZEYLERİ	43
3.2.5.B. PLAZMA PROTEİN KARBONİLLERİ	43
3.2.5.C. SH GRUPLARI	44
3.2.6. İSTATİSTİK YÖNTEMİ	45
IV- BULGULAR	46
V- TARTIŞMA	51
VI- SONUÇ	61
VII-ÖZET	63
VIII- SUMMARY	64
IX- KAYNAKLAR	65

## TABLÖLAR ÇİZELGESİ

	SAYFA
TABLO-I Antioksidanlar	30
TABLO-II Histopatolojik değişiklikler	47
TABLO-III Gruplar arası oksidan/antioksidan markırlar	50

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	SAYFA
Şekil-1	17
ROM'nin kaynakları ve meydana gelen reaksiyonlar	
Şekil-2	35
NAC'ın moleküler formülasyonu	
Şekil-3	36
NAC'ın metabolik yollarının modifiye şekli	
Şekil-4	39
Deneklerin görünüşü	
Şekil-5	39
Cam kafesin görünümü	
Şekil-6	41
Tezek dumanı verilen pompa	
Şekil-7	42
Göğüs kafesinin açılması.	
Şekil-8	42
Akciğerlerin çıkarılması	
Şekil-9	46
Kontrol grubu. H/Ex100	
Şekil-10	46
Respiratuar epitel proliferasyonu. H/E x200	
Şekil-11	48
Kontrol ve tezek grubunda respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destruksiyon ve amfizematöz değişiklikler	
Şekil-12	50
Kontrol ve tezek grubunda SH düzeyleri	



## KISALTMALAR DİZİNİ

<u>KISALTMA</u>	<u>ACIKLAMA</u>
BAL	Bronkoalveolar lavaj sıvısında
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
CO	Karbon monoksit
COX	Siklooksijenaz
DNP	Dinitrofenilhidrazin
DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit
Fe <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Ferri demir
Fe <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Ferro demir
F <sub>2</sub> α-IP	F <sub>2</sub> α-izoprostan
GC/MS	Gaz kromatografisi/kütle
GSH	Glutasyon
GPx	Glutasyon peroksidaz
OH <sup>-</sup>	Hidroksil radikalleri
HCl	Hidroklorik asit
HOCl	Hipoklorik asit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksittir
4-HNE	4-hidroksinonenal
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
İPF	İdiyopatik pulmoner fibrozisi
KAT	Katalaz
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LOX	Lipoksijenaz
LPG	Likit petrol gazı
MAA	MDA-Asetaldehit
MDA	Malondialdehid
MPO	Myeloperoksidaz
NAC	N-asetilsistein
N <sub>2</sub>	Nitrojendir
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit

PAM	Pulmoner alveoler makrofajlar
PUFA	Poliansatüre yağ asidleri
RA	Romotoid artrit
ROM	Reaktif oksijen metabolitleri
SOD	Süperoksid dismutaz
STEL	Short time exposure level:
TBA	Tiobarbütirik asit
TCA	Trikarboksilik asit
TWA time	Weighted average exposure:
XO	Ksantin Oksidaz
XD	Ksantin Dehidrogenaz

## I. GİRİŞ

Günümüzde yerküre üzerinde yerleşim alanlarında yaşayan insanların çoğu tezek, odun, bitki artıkları gibi maddeleri kapsayan ve genel olarak biyomas olarak adlandırılan yakıtları enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. Toplumun beslenme, ısınma ve temizlik gibi en doğal ihtiyaçlarını karşılamak için enerji kaynaklarına gereksinimi vardır. Isı veren biyolojik kaynaklara biyomas denir (1).

Organik enerji insanlığın kullandığı en eski enerji kaynaklarından birisidir. Biyomas yakıt olarak, odun parçacıkları, tarımsal atıklar, hayvani atıklar (tezek), ve bunlara benzer pek çok madde kullanılmaktadır. Biyomas yakıtlar özellikle kırsal kesimde kolay bulunabilen ve ucuz bir kaynak olduğu için çok sık kullanılırlar (2). Biyomas yakıtlar en sık yemek pişirme ve ısınma amaçlı olarak kullanılmaktadır. Çeşitli amaçlarla biyomas kullanımı sonucu açığa çıkan kirleticilerin, bu kirleticilere maruz kalan topluluklarda kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), bronşiyal astım, interstisyel akciğer hastalığı, kanser gibi pek çok hastalığa yol açabileceği düşünülmektedir. Ülkemiz kırsal bölgelerinde tezek kullanımı sonucu ortaya çıkan dumana daha çok ateşi yakan, ekmek ve yemek pişiren kadınlarla bunların yanlarındaki küçük çocuklar maruz kalmaktadır (3).

Son yıllarda pek çok hastalığın oluşumunda oksidan ve antioksidan dengenin bozulmasının rolü olduğu dokuda artan reaktif oksijen metabolitlerinin (ROM) de doku hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Hava kirliliği, sigara ve biyomas dumanı inhalasyonu gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde ROM'lerinin çoğaldığı ileri sürülmektedir (4). Bunlara karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği, serbest radikal zincir reaksiyonlarını inhibe eden ve antioksidanlar denilen bazı bileşikler rol oynamaktadır (5). Glutatyon (GSH) sentezinde bir substrat olan N-asetilsistein (NAC) de bu antioksidanlar arasında yer almakta ve NAC'la ilgili olarak pek çok çalışma yapılmaktadır.

Biyomas kullanımının hangi fizyopatolojik mekanizma ile hastalık oluşturduğu tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir. Oysa KOA başta olmak üzere birçok obstrüktif ve restriktif patolojinin ortaya çıkmasında oksidan/antioksidan dengenin bozulmasının rolü olduğu (6,7) düşünüldüğünden

ve bu durumları açıklayabilecek yeterli histopatolojik çalışma olmadığından biyomas dumanına maruz bırakılan tavşanlarda akciğerlerdeki histopatolojik değişiklikler, oksidan ve antioksidan sistemdeki değişiklikler ile NAC'ın bu değişiklikler üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TANIM

Tarih öncesinden beri insanlar iklim şartlarından korunmak için sığınaklar ile birlikte sığınmak içinde yemek pişirmek, ısınmak ve ışık elde etmek için ateşi de kullanmışlardır (8). Biyomas enerji kaynakları küresel enerji ihtiyacının %10'unu karşılar. Buna karşın, kentte yaşayanların %30'u köyde yaşayanlarınsa %90'ı biyomas kullanır. Gelişmekte olan ülkelerde, kırsal alanda yaşayanların 3/4'ü, şehirdekilerinse 2/3'ü ucuz ve kolay ulaşıldığı için biyomas kullanmaktadır (1).

Biyomas genellikle hayvan gübreleri ve yiyecek artıklarından elde edilir. Bu materyal ocaklarda basit şekilde yakılarak tam olmayan yanma sonucu enerji elde edilir. En fazla kullanım nedeni yemek pişirme ve ısınmadır. Gelişmekte olan ülkelerde tarımla uğraşan popülasyonun büyük kısmı biyomas denilen gübre (tezek), odun ve ekin artıklarını kullanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise biyomas yakıtların yerini büyük oranda petrol ürünleri ve elektrik almıştır.

### 2.2. BİYOMAS KAYNAKLARI

Potansiyel olarak ahşap, odun parçacıkları, tarımsal atıklar, baharat karışımları (az oranda), endüstriyel atıklar, çim, kağıt parçacıkları, çeşitli katı atıklar, çöpler, bıçkı tozları, talaşlar, su yosunları, hayvani atıklar, yiyecek kalıntıları ve daha birçok malzemelerin tozları biyomas yakıtların hammaddesini oluşturur. Hayvani atıklar önemli biyomas kaynaklarıdır. Katı fosil yakıtlar daha az karbon ve daha çok oksijen içerirler. Aynı zamanda ısı değerleri düşüktür. Toz haline getirilmiş biyomasın yanma hızı kömürden daha yüksektir ve alevleri yanma esnasında yağ ya da gaz yakıt gibidir. Yağ ya da gaz yakıtlarla aynı enerji açığa çıkar (2).

### 2.3. BİYOMAS YAKITLAR

Enerji merdiveninde enerji kaynakları, etkinlikleri ve kirleticilikleri göz önüne alınarak sıralanır. Merdivenin en alt basamağında, hayvan dışkılarından yapılan tezek, odun, sap, saman gibi tarım ürünü artıkları ve odun kömürü gibi havayı en çok kirleten yakacaklar yer alır. Bunlar ilkel yakacaklar olarak tanımlanır. Kirleticilikleri bakımından bunların en kötüsü tezektir. Alt basamaktakilerin tümü organik madde sınıfına girer. Dolayısıyla, bunlar C, H, O,

N ve eser elementler içeren bitkisel proteinler ve karbonhidratlardır. Bir üst basamakta biyomas olmayan maden ve kok kömürü, petrolden üretilen tüp gaz, gazyağı, elektrik gibi enerji kaynakları yer alır. Elektrik en temiz enerji kaynağı olarak en üst basamakta durur.

Biyomas enerji çok eski zamanlardan beri kullanılan, geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde kırsal kesimde kolay bulunabilen ve ucuz bir kaynak olduğundan en çok rastlanılan enerji kaynaklarından biridir. Katı atıkların üretimi ve iyileştirilmesi ülkeden ülkeye çarpıcı değişiklikler gösterir. Biyomasın toz halindeki yanma hızı kömürden oldukça fazladır. Biyomasların yanması sırasında açığa çıkan gazların konsantrasyonları değişebilir. Biyomas sıvı, katı ve gaz yakıt fiziksel ve kimyasal yöntemlerle çevrilebilir (10).

#### **2.4. PİROLİZ**

Piroliz oksijen yokluğunda organik materyallerin termal yıkımı olarak tanımlanabilir. Esas olarak piroliz biyomasın kimyasal sıcaklık kullanılarak daha kullanışlı yakıt haline çevrilme sürecidir. Piroliz biyolojik yağ üretiminde kullanılabilir. Son zamanlarda fabrikalarda kullanılmaktadır (11).

#### **2.5. GAZ HALİNDEKİ BİYOMAS**

Biyomas piroliz ile gaz forma geçer ve yüksek ısı açığa çıkar. Oluşan gazlar karbon monoksit (CO), hidrojen, metan, karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve nitrojendir (N<sub>2</sub>). Biyomasın gaz haline gelme yöntemi oksitlenme ya da yanma prensibine dayanır. Çevresel problemler ve uygulama sınırlılığı nedeniyle kullanışlı bir enerji kaynağı değildir. Pek çok biyomasın gaz haline geçişi, oksitlenme ya da yanma süresine göre sınıflandırılır (12).

#### **2.6. BİYOMASIN YAKIT ÖZELLİKLERİ**

Yüksek nem ve kül içeriği biyomas yakıtlarının tutuşma ve yanma problemlerinin oluşmasına neden olur. Erime noktasında çözünmeyen küller aynı zamanda kirliliğe yol açar. Düşük ısı değerine bir de zor alev alma eklenir. Biyomasın kömürle karışımında yüksek kaliteli kömürle biyomasın alev alma problemi ve korozyonun (kimyasal çürüme) minimize edilmiş olacağı düşünülmektedir. Oldukça uçucu yakıtı ve sonucundaki kömürleşme tepkimesi açısından biyomas yakıtlarının yanarken önemli avantajları vardır. Fakat bunlar katı fosil atıkları ile karşılaştırıldığında biyomas çok daha az karbon ve daha fazla

oksijen içerir. Ayrıca yanma kalitesi düşüktür. Kömüre göre daha az alüminyum ve demir, daha az ısı, daha yüksek nem daha düşük yoğunluk gösterir (13). Kömür, biyomasdan daha çok alüminyum, demir ve titanyum içerir. Biyomas ise daha çok silisyum, potasyum ve bazen kalsiyum içerir. Ahşap odunsu materyaller ise daha az nitrojen ve kül içerirler. Tarımsal materyaller daha fazla nitrojen ve kül içerir.

Biyomasın genel yanma modellerinde biyomas mikroskopik ve makroskopik olarak sınıflandırılır. Makroskopik özellikler, sıcaklık, nem içeriği, ölçü, büyüklük, yoğunluk ve kül füzyon sıcaklığıdır. Mikroskopik özellikler ise temel kimyasal, kinetik ve materyal verileridir (2).

## **2.7. YANAN BİYOMASIN KİMYASI VE YANMA ÜRÜNLERİNİN ÖLÇÜM DEĞERLERİ**

Yanma kimyasal bir reaksiyon serisidir. Karbon oksitlenir ve karbondioksit oluşur. Hidrojen oksitlenir ve suyu oluşturur. Biyomasın yanmasını anlamak için özelliklerini iyi bilmek gerekir. Anatomik yapısı, nem içeriği, büyüklüğü önemlidir.

Ana yanma reaksiyonları:

Tepki vermeyen katı madde →→→ ateş, kuruluk →→→ piroliz →→→ön yanma reaksiyonu →→→ ilk gaz yanma evresi →→→ ikinci yanma →→→birikmiş gazlı atık maddeler

Tezek denilen ve hayvan dışkılarından elde edilen biyomas materyali yandığı zaman aldehid, fenol ve toluen gibi önemli hidrokarbonlar ile karbonmonoksit, kükürt, nitrojen gazları ve daha birçok kimyasal açığa çıkmaktadır.

Biyomas kullanırken ortama yayılan gazlar ve solunabilir toz Türkiye’de ve yurtdışında yapılan pek çok araştırmada ölçülmüş ve bu üçlümler yayımlanmıştır. Türkiye’de ilk defa Ankara’da bir köyde karaocak ve tandır ocağında tezek yanarken iç ortama yayılan gaz ve toz konsantrasyonu ölçülmüştür (1). Gaz ölçümleri Gastec Multi-Stroke gaz örnek alma pompası ve dedektör tüpler kullanılarak yapılmıştır. Bu ölçümlerde gaz konsantrasyonları şöyledir:

Kapı açıkken ocak yanında CO=40 ppm

Ocak yakınında NO=2 ppm

Ocak yakınında NO<sub>2</sub>, tespit edilememiş  
Kapı yakınında CO 20 ppm  
Kapı yakınında NO ve NO<sub>2</sub> tespit edilememiş  
Kapı kapalıyken oda ortasında CO=270 ppm  
Kapı kapalıyken oda ortasında NO=5 ppm  
Kapı kapalıyken oda ortasında NO<sub>2</sub> yok  
Kapı yarı açıkken oda ortasında CO=25 ppm  
Kapı yarı açıkken oda ortasında NO=1 ppm

İngiltere verilerine göre ölçülen gazların izin verilen uzun etkili süreli maruz kalma (8 saatlik zaman ağırlıklı referans periyot: time-weighted average exposure: TWA) ve 15 dakikalık kısa süreli maruz kalma (short time exposure level: STEL) sınırları şöyledir:

CO=50 ppm (TWA), 300 ppm (STEL)

NO=25 ppm (TWA), 35 ppm (STEL)

NO<sub>2</sub>=3 ppm (TWA), 5 ppm (STEL)

Arsenik için ise dünya ortalaması 10 ppm olarak kabul edilmektedir. Siyanür bileşiklerine maruz kalma limiti 2-10 ppm, Amonyak için limit 25 ppm'dir.

CO gazının, batıdaki değişik işçi sağlığı ve güvenliği kuruluşlarına göre, çalışma süresi boyunca TWA ve STEL sınırları şöyledir:

ABD'de American Conference of Governmental Industrial Hygienists eşik sınır değeri =50 ppm, STEL=400 ppm

Occupational Safety and Health Administration'a göre kabul edilebilir maruz kalma sınırı =35 ppm TWA

National Institute for Occupational Safety and Health'e göre maruz kalma sınırı=35 ppm TWA

İngiltere'de 30 ppm TWA, 300 ppm STEL (1)



## 2.8. KULLANIM ŞEKLİ VE ÜLKEMİZDE KULLANILDIĞI YERLER

Biyomas enerjisi kullanımı klasik ve modern olmak üzere iki grupta ele alınır. Klasik biyomas enerji; konvansiyonel ormanlardan elde edilen yakacak odun, yine yakacak olarak kullanılan bitki ve hayvan artıklarından (özellikle tezek) oluşmaktadır. Klasik biyomas enerji kullanımının temel karakteri, ilkinden gelişmişe dek çeşitli yakma araçları ile biyomas materyalden enerjinin direkt yanma tekniği ile elde olunmasıdır. Modern biyomas kaynaklar; enerji ormancılığı ürünleri ile orman ve ağaç endüstrisi atıkları, enerji tarımı (bir yetiştirme sezonunda ürün alınan enerji bitkileri), tarım kesiminin bitkisel ve hayvansal atıkları, kentsel atıklar, tarıma dayalı endüstri atıkları biçiminde sıralanır.

Biyomas kökenli sentetik akaryakıt kapsamında yer alan alkol karışımı benzin ve bitkisel yağ karışımı motorinden başka, bazı enerji bitkilerinden elde olunan yağlar karışıma gerek kalmaksızın dizel yakıtı yerine kullanılabilir. Ayrıca, biyomasdan yapay ham petrol üretmek olanaklıdır. Modern biyomas enerji teknikleri; materyalin fiziksel durumu sabit kalacak ve/veya değişecek biçimde dönüştürülmesi çevrimlerine dayanır ve alçak biyomas teknikler ile yüksek biyomas teknikler olarak ikiye ayrılır.

Türkiye’de modern biyomas enerji üretimi yapılmamaktadır. Bunun yerine en yaygın yemek pişirme ve ısınma amaçlı olarak basit şekilde ocaklarda veya sobalarda tutuşturularak kullanılmaktadır. Bugün ülkemizde, şehirlerde yemek pişirmek, su ısıtmak, temizlik yapmak ve ısınmak amacıyla doğalgaz, petrol ürünleri, petrol rafinerilerinden gelen ve tüpgaz denilen likit petrol gazı (LPG) ile maden kömürü kullanılmaktadır. İlçe, bucak, köy gibi daha küçük yerleşim birimlerinde, mutfak işlerinde, odun, odun kömürü, LPG ve tezek kullanılmaktadır. Buralarda kentlerdeki kalorifer düzeni yerine, içinde kömür, odun veya odun talaşı yakılan sobalar kullanılır. Bu sobalarda önde havalandırma kapakları, borunun sobaya takıldığı yerde ise anahtar veya valf vardır. Bu valf açık olursa soba hızlı bir şekilde yanar fakat kapalı olursa tehlikelidir. Çünkü içeriye hava girmediği için yanma tam olmaz ve içeride çok fazla karbonmonoksit birikir. Bu da dışarı sızarak odadakilerin yaşamını tehlikeye sokar (1).

Köylerde ve bazı bucaklarda, her evde karaocak denilen, bazen şömine gibi de kullanılan ocaklar vardır. İç Anadolu’daki karaocakların bazılarının ön ve

arka yüzleri, içinde kil, kaolin ve tremolit (asbest) minerali bulunan aktoprakla sıvanmıştır. Bu ocakları kullananlarda, biyomas dumanı ile birlikte asbest lifine maruz kalma da söz konusudur. Anadolunun kırsal yerleşim alanlarında, tandır denilen ocaklar kullanılır. Mutfağa yakın kurulan tandırda yanan tezek, odun, saman vb. dumanları doğrudan doğruya ocağın bacasından dışarı çıkar. Bu durumda içeriye, yoğun duman girmez. Ocakları tutuşturmak için yöresine göre tendir, kenevir, pamuk sapı, tütün, çıra kullanılır. Bunlardan kendir saplarındaki endotoksin miktarına bağlı olarak astım ve KOAH atakları oluşabilir (1).

Türkiye’de tezeğin sekiz çeşidi vardır :

1. Kemre: koyun keçi ahırlarında iyi çiğnenmiş ve kurutulmuş, ince tahta parçası gibi tezek türü.
2. Basma: harman yerine yayılan büyükbaş hayvan dışkısının kuruduktan sonra belle kerpiç şeklinde kesilmiş hali
3. Kasnak: kuruduktan sonra tekerlek şeklinde kesilmiş büyükbaş hayvan dışkısı
4. Yapma: parçalar halinde ev veya bahçe duvarlarına yapıştırılarak kurutulan büyükbaş hayvan dışkısı
5. Hışır ya da yaban tezeği: merada gezinen hayvanların kırdaki kurumuş dışkı parçaları
6. Yapay besinlerle beslenen büyükbaş hayvanların dışkısı
7. Kolay yanması için içine saman katılmış tezek türü

Tezek kullanımını bir ihtiyaçtan doğmuştur. Orman alanlarının bilinçsizce yok edilmesi sonucu, insanlar hayvan dışkısından yararlanmak zorunda kalmışlardır. Ülkemizde yaklaşık 129 milyon ton taze ahır gübresi elde edildiği, bunun yaklaşık yarısı olan 60 milyon ton gübrenin tezek yapımında kullanıldığı ve ¼ oranına göre 15 milyon ton tezek elde edildiği bildiriliyor. Üretilen tezeğin hemen hepsi, öncelikle Doğu Anadolu’ya, sonra da İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ne aittir. Orman Genel Müdürlüğü kayıtlarına göre, 1990 yılında 8878 bin tonu tezek, 2200 tonu bitki artığı olmak üzere 11078 bin ton biyomas üretilmiş, bu miktar 2000 yılında 7020 bin ton tezek ve 2819 bin ton bitki artığı düzeyine inmiştir (1).

## 2.9. BİYOMAS YAKITLARIN SOLUNUM SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

İç ve dış hava kirliliğinin en önemli kaynakları, fosillerden oluşan kömür ve bitki artıklarıdır. Bunlardan ayrı olarak çoğu az gelişmiş ülkelerin, soğuk ve yüksek rakımlı yerlerinde yaşayan; düşük sosyoekonomik gelirli toplulukların kullandığı, büyük baş hayvanların dışkılarından yapılan (tezek) yanma ürünleri de önemlidir. Dünyada beşyüz milyondan fazla insan tezek kullanmaktadır. Tezek ülkemizde bilhassa kırsal bölgelerde başta ısınma amaçlı olmak üzere; yemek ve ekmek pişirme amacıyla kullanılmaktadır.

Biyomas ürünleri yandığı zaman üç türlü kirletici çıkar: havada asılı kalan partiküller, hidrokarbonlar ve karbonmonoksit. Tezekten çıkan gazlara en fazla maruz kalan anne ve çevrelerindeki küçük çocuklardır. Bütün bu kimyasal etkenlerin tümü, üst ve alt solunum yollarını tahriş ederek, bronşiyal astımlılarda ve KOAH'lılarda kötüleşmeye sebep olur. Biyomas dumanının sağlık açısından öneminin nedeni, özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal alanlarında yaygın olarak kullanılmalarıdır. Tezeği de içine alan bu organik yakıt ürünlerinin zararlı etkilerini yandıkları zaman açığa çıkan aldehid, fenol ve toluen ile tezeğin tam yanmaması sonucu oluşan karbonmonoksit, karbon dioksit, nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub>) ve kükürt dioksit (SO<sub>2</sub>) gibi solunumsal iritanların oluşabileceği belirtilmiştir (14). Biyomas dumanındaki kirletici maddelerin pek çoğunun insan sağlığına zararlı oldukları bilinmekte ya da suçlanmaktadır.

Yanan tezeğin çıkardığı dumandaki karbon partikülleri, karbonmonoksit, kükürt dioksit, nitrojen oksitler, amonyak, aldehit, tolüen, fenol ve benzopiren gibi çoğu toksik ve mitojenik veya teratojenik etkenler, üst ve alt solunum yollarında irritasyon, sensitizasyon yapmaktan başka, muköz sekresyon artışına da neden olmaktadır. Bu tür biyomas dumanı maruziyeti akciğer hasarına ve sık solunum yolu infeksiyonuna neden olabilir (1). Özellikle sık solunum yolu infeksiyonu, yoksul ve yeterli tıbbi imkanı olmayan popülasyonda daha belirgindir. Yapılan çalışmalarda fazla miktarda biyomas dumanına maruz kalmanın, sigara dumanına maruz kalınması sonucu ortaya çıkan riske eşit derecede sağlık sorunu oluşturduğu bildirilmiştir (15). Biyomas yakıtların sürekli olarak kullanılması, çocukluk çağından itibaren ortaya çıkan dumanın solunması ve evlerdeki yetersiz havalandırma koşulları nedeniyle zamanla tekrarlayan

akciğer enfeksiyonları ve KOAH oluşma riski artmaktadır. Yanan biyomas dumanının solunmasının, bronş epitelinin siliyer fonksiyonunu bozarak, trakeobronşiyal ağacın temizliğinin engellendiği ve sonunda KOAH geliştiği belirtilmektedir (1). Çeşitli amaçlarla biyomas kullanan toplumlarda KOAH kadınlarda, erkekler kadar veya onlardan biraz daha fazla oranda görülmekte ve en önemli etyolojik faktörü kullanılan biyomaslardan açığa çıkan kirleticiler oluşturmaktadırlar (8).

Ülkemiz kırsal bölgelerinde yakacak madde olarak kullanılan tezek de yanma esnasında çok çeşitli organik gazlar ortaya çıkararak özellikle kadınlarda ve çocuklarda ilerleyen bronşiolit tabloları yaratabilmektedir. Ülkemiz kırsal alanında geleneksel tezek kullanımı yaygın olup, tezek kullanımı sonucu ortaya çıkan dumana daha çok maruz kalan kadınlarla onların etrafından ayrılmayan çocuklar, olası patolojiler açısından risk altında kalmaktadır. Bir görüşe göre kırsal bölgelerden gelen, sigara içmemiş, kronik havayolu hastalığı, bazen de buna bağlı kor pulmonalesi olan kadın hastalarda sebep genellikle, tezek ve benzeri maddelerden yanma esnasında ortaya çıkan gazların inhalasyonu olabilir görüşü vardır (16).

### **2.9.1. ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONLARI**

Yanan primitif biyomasın çıkardığı dumandaki karbon partikülleri ve gazlar genellikle üst ve alt solunum yollarında irritasyon sensitizasyon yapmaktan başka, mukus sekresyon artışına ve bunların solunum yollarında koagülasyonuna, dolayısıyla, bronkosiliyer temizlenme kusuruna neden olmaktadır. İritan gazlar bağışıklık sisteminde bozukluk yaparak Pseudomonas, E. coli, Proteus ve Klebsiella gibi gram negatif bakterilerin solunum yollarında kolonizasyonuna neden olmaktadır (1). Akut alt solunum yolu enfeksiyonları; 5 yaş altı çocuklarda en fazla mortaliteye sebep olan hastalıklardandır. Bu yaş grubunda her yıl 2 milyon civarında çocuğun öldüğü bilinmektedir. Pek çok çalışmada iç ortam kirliliği (biyomas dumanı) ile akut alt solunum yolu enfeksiyonları ilişkisi gösterilmiştir (17). Yapılan değişik çalışmalarda biyomas dumanı inhalasyonunun çoğunlukla üst solunum yolları başta olmak üzere genel olarak tüm solunum yollarını etkilediği gösterilmiştir. Özellikle üst solunum yolu enfeksiyonları ve

orta kulak infeksiyonları önemlidir. Otitis media nadiren ölümcül olmasına karşın sağrlık da dahil fazla morbiditesi olan bir sağlık sorunudur. Uygun tedavi edilmezse mastoidite kadar ilerleyebilir.

### **2.9.2. KRONİK AKCİĞER HASTALIKLARI**

Biyomasın yanması ile ortaya çıkan, nitrit oksit (NO), NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, siyanür, amonyak, aldehit, keton, akreolin, benzopiren ve partikül gibi toksik ve iritan maddelerin solunmasının, üst ve alt solunum yollarında koagülasyon sonucu bronkosiliyer temizlemede yetersizlik ortaya çıkarttığı ve buna bağılı olarak KOAH ortaya çıkabileceğı belirtilmektedir (1). KOAH, başta tütün kullanımı olmak üzere, insan sağlığına zararlı toz, partikül ve toksik maddelerin mesleksel veya çevresel yolla solunmasıyla ortaya çıkan kısmen reversibl hava yolu obstrüksiyonu ve hava akımlarında azalmayla seyreden ilerleyici bir hastalıktır. Gelişmekte olan ülkelerde KOAH %80 sigara içimine bağılı olarak görülmektedir. Bununla birlikte bu hastalıklar bölgesel olarak daha az sigara içilen yerlerde de oluşabilir. Yapılan pek çok çalışmada, biyomas dumanına maruz kalmakla kronik bronşit ve KOAH arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (18). İki yılın en az üç ayında, başka hastalığa bağılı olmayan öksürük ve balgam çıkarma, kronik bronşit olarak adlandırılırken hava akımında azalma olmayan kronik bronşit türü basit kronik bronşittir. Kronik obtrüktif bronşit ise öksürük ve balgam çıkarma ile birlikte bronkodilatör ilaca önemli derecede yanıtız türüdür. Amfizem, terminal bronşiyollerin ilerisindeki ünitelerde alveol duvarları ve septaların yıkılması sonucu anormal genişlemeyi ifade eder (1). Biyomas dumanının amfizem ve havayolu hastalığı oluşturma mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte tütün ve biyomas dumanı maruziyeti sonucu inflamatuvar hücrelerden salınan okside radikallerin oluşturduğu oksidatif stres suçlanmaktadır (19). Özellikle KOAH için risk faktörleri, sigara içimi dahil bronşiyal hiperreaktivite, atopi ve genetik yatkınlık ile birlikte biyomas maruziyetidir. Bu hazırlayıcı faktörler ile akciğer fonksiyonları bebeklikten itibaren bozulmakta ve en son olarak da yetişkinlerde KOAH oluşmaktadır. Türkiye’de KOAH’ın en önemli iki etkeni sigara kullanımı ve biyomasa bağılı oluşan iç ortam kirliliğidir (1).

Gebelik ve yenidoğan dönemindeki sigara ve biyomas dumanı maruziyeti bu hastalıkların oluşma riskini artırmaktadır. Biyomas maruziyeti sonucu

hastalarda antrakozis denilen akciğer içinde katı depozit birikimi oluşabilir. Antrakozis, visseral ve pariyetal plevrada, bronş mukozasında, perivasküler, peribronşiyal, parankimada, alveol duvarında, mediastinal veya supraklavikular lenf bezlerinde ve makrofajların içinde veya serbest siyah-kahverengi pigment birikimidir (1).

Biyomasa maruz kalan hastalarda, bir kronik persistan astım türü olan astmatik bronşit de görülebilir. Bu hastalarda öksürük ve hışıltı devamlı vardır ve tedaviye rağmen devam eder. Ayrıca bir defa yoğun biyomas dumanı solunması ile öksürük, burun akıntısı, gözlerde yanma, batma ve sulanma, baş ağrısı, anginal ağrı ile kendini gösteren reaktif havayolu disfonksiyonu sendromu oluşabilir. Bu sendroma biyomas dumanı içindeki zehirli gazlar ve CO neden olur . Ayrıca CO zehirlenmesi oluşabilir. CO zehirlenmesinde üç önemli etken; CO yoğunluğu, maruz kalma süresi ve kişinin fiziksel aktivitesidir. CO zehirlenmesinin kardiyovasküler, sinir sistemi, fibrinoliz ve perinatal etkileri vardır (1).

Pek çok çalışmada biyomas maruziyetine bağlı olarak akciğer fibrozisi, progresif masif fibrozis, pnömokonyoz benzeri akciğer hastalığı tarif edilmiştir. Bu hastalar organik veya inorganik pek çok toza maruz kalmaktadır, fakat pek çok vakada bronşiyal hastalık daha baskın görünümündedir. Mesleki olmayan silikozis geliştirmekte olan ülkelerde de görülmekte ve bu genellikle kum fırtınalarına bağlanmaktadır fakat sıklıkla biyomas dumanı maruziyetinin de düşünülmesi gerektiği belirtilmektedir. Ayrıca geliştirmekte olan ülkelerde biyomas maruziyeti ile interstisyel akciğer hastalığı birlikte görülebilmektedir (20). Afrika'da, kulübelerdeki biyomas maruziyeti ile birlikte mısır taneleri öğütülürken çıkan karışık tozun inhalasyonu ile birlikte oluşan ve hut lung (kulübe akciğeri) adı verilen bir tür hastalık tanımlanmıştır. Radyolojik olarak pnömokonyoz ve miliyer tüberküloza benzeyen bu hastalık dikkat edilmez ise yanlışlıkla silikozis veya miliyer tüberküloz olarak değerlendirilebilir (1).

### **2.9.3. KANSER**

Özellikle endüstrileşmiş ülkelerde sigara içimi akciğer kanseri ve başka bazı kanserler için en önemli risk faktörüdür. Geliştirmekte olan ülkelerde ise sıklıkla sigara içmeyen kadınlar akciğer kanserli hastaların önemli bir kısmını oluşturur. Geliştirmekte olan ve yaygın biyomas kullanımını bulunan bazı ülkelerde

yapılan çalışmalarda özellikle sigara içmeyen kadınlarda görülen akciğer kanseri vakalarının üçte birinde sorumlu olarak biyomas dumanı suçlanmaktadır (21). Akciğerlerin maruz kaldığı toksin ve karsinojenler ile veya kronik inflamasyon veya hasarlı doku ile paralel kanser gelişim riski vardır. Kanser riski için özellikle biyomas dumanı içindeki arsenik ve benzopirenler suçlanmaktadır (1).

Mekanizma her ne olursa olsun biyomas dumanı maruziyeti akciğer kanseri için potansiyel risk faktörüdür. Biyomas dumanı ile nazofaringeal kanser arasındaki ilişki gösterilmiştir. Brezilya'da yapılan bir vaka kontrol çalışmasında tütün, alkol ve odun dumanı maruziyeti ile oral kanser oluşumu ilişkili bulunmuştur (22). Güney Amerika'da 784 oral, laringeal ve faringeal kanser vakası ile yapılan başka bir vaka kontrol çalışmasında odun dumanına maruz kalanlarda risk 2,68 kat artmış olarak bulunmuştur (23). Çin'de yapılan bir araştırmada, yöre halkının kendi imkanları ile yerden çıkardığı arsenik ile kontamine kömürün evlerde bacasız sobalarda kullanılması sonucu odaya yayılan arseniğin solunmasının kanser oluşturduğuna dikkat çekilmesine karşın başka bir çalışmada odada odun yakılması sonucu, iç ortamda 20.000 µg/m<sup>3</sup>'ün üzerinde partikül bulunmasına rağmen kanser mortalitesinde artış gösterilememiştir (1).

#### **2.9.4. DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIĞI VE YENİDOĞAN MORTALİTESİ**

Guatemala kırsalında maternal ve sosyoekonomik faktörleri ayarlandıktan sonra yapılan bir çalışmada biyomas yakıt kullananların çocuklarının doğum kilolarının elektrik ve gaz kullananlara göre 63 gram daha hafif olduğu görülmüştür (24). Pek çok yayında özellikle aktif sigara içimi ve sigara dumanına maruziyet ile olan ilişki ve buna bağlı karbonmonoksit düzeyi suçlanmaktadır. Düşük doğum ağırlığı ile ortam kirliliği arasında bir ilişki kurulmasına rağmen karbonmonoksit düzeyi ile ilişkisini gösteren sadece bir çalışma bulunmaktadır (25).

Gelişmekte olan ülkelerde iç ortam kirliliği ve perinatal mortalite ilişkisini gösteren sadece bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada iç ortam kirliliği ile perinatal mortalite riskinin 1,5 kat arttığı bildirilmiştir (26). Meksiko şehrinde yapılan bir çalışmada ortamda bulunan partikül oranı ile erken neonatal ölümler arasında ilişki olup olmadığı incelenmiş ve yüksek partikül düzeyi ile erken neonatal ölümler arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (27). Amerika

Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada da yukarıdaki çalışma ile uyumlu olarak yüksek partikül düzeyi ile erken neonatal ölümler arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (26).

#### **2.9.5. KATARAKT**

Biyomas yakıt kullanımı kirliliğe yol açarak göz irritasyonuna ve katarakta neden olabilir (28). Delhi'de yapılan hastane kaynaklı bir vaka kontrol çalışmasında sıvı petrol yakıtlarla tezek ve odundan oluşan yakıtlar katarakt oluşturma riski açısından karşılaştırılmış ve katarakt oluşma riski biyomas dumanına maruz kalan grupta 0,62 kat artmış olarak bulunmuştur (29). Yapılan hayvan çalışmalarında da göz hasarı gösterilmiştir. Patolojik mekanizma olarak biyomas dumanının absorpsiyonu, bunun yol açtığı toksin oluşumu ve oksidasyon hasarı gösterilmektedir. Sigaraya bağlı katarakt oluşumunda da bu mekanizma suçlanmaktadır (30,31).

#### **2.10. HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER**

Birçok epidemiyolojik çalışmada; biyomas yakıt maruziyeti ile solunumsal etkilenme sonucu hem akut hem kronik solunum sistemi hastalıkları meydana geldiği gösterilmiştir. Normal hücre metabolizması esnasında akciğerler başlıca süperoksit ve hidrojen peroksit gibi ROM'lerine bağlı olarak bazal oksidan madde yüküne maruz kalırlar. Özellikle sigara dumanının solunum yollarında ve alveollerde; inflamasyon, atrofi, goblet hücre metaplazisi, skuamöz metaplazi, mukus tıkaçlar, düz kas hipertrofisi, peribronşial fibrozis, peribronşial alveol destrüksiyonu, bronkoalveolar lavaj sıvı anormallikleri, Ig A ve Ig G düzeylerinde artış, aktive olmuş makrofaj ve nötrofil oranlarında artış, yüksek periferik lökosit sayısı, periferik eozinofil artışı, serum Ig E artışı, düşük alerji deri testi reaktivitesi, inhale allerjenlere karşı azalmış immün cevap gibi değişiklikler oluşturduğu bilinmektedir. Biyomas dumanı maruziyetinin de bu patolojik değişikliklere benzer özellikler gösterdiği düşünülmektedir. Yapılan pek çok çalışmada, biyomas dumanına maruz kalmakla kronik bronşit ve KOAH oluşumu arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.

Albalak ve arkadaşları (18) kronik bronşit ile biyomas dumanı maruziyeti arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Fakat akut masif maruziyetle uzun süreli maruziyetin farklı patolojik etkileri olabilir. Örneğin orman yangınlarında olduğu



gibi akut masif odun dumanı (biyomas) maruziyeti hızlı bir şekilde ölüme sebep olabilir. Asfiksi ve karbonmonoksit intoksikasyonu ile birlikte şiddetli respiratuar epitel hasarı, havayolu ödemi ve pulmoner ödem gelişebilir. Daha düşük derecede odun dumanına maruz bırakılan gine domuzlarında bronkokonstrüksiyon ve geç cevapta artış görülmüştür (8). Yine odun dumanına maruziyetin deney hayvanlarında silikozise benzer fibrotik akciğer reaksiyonu oluşturduğu bildirilmiştir (1,8). Hindistan ve Afrika'da açık akciğer biyopsisi yapılan bazı çalışmalarda histopatolojik incelemede septaların içinde, perivasküler alanlarda, terminal bronşiyollerin etrafında karbon pigmenti depolanması, karbon pigmenti bulunan makrofaj kümeleri, fokal amfizem alanları, yaygın fibrozis, lümeni hiyalinize materyalle tıkanmış damarlar, alveoller içinde, ara dokuda ve perivasküler alanda aşırı derecede karbon partikülleri ile tıkalı dev hücreler görülmüştür (1).

## **2.11. RADYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER**

Son zamanlarda geleneksel biyomas yakıtları ile kırsal kesimdeki bayanlarda KOAH gelişmesi arasında bağlantı olduğu gösterildi (3). Türkiye'de yapılan bir çalışmada sigara içmeyen ve biyomas dumanına maruz kalan 21 kadın yine biyomasdumanına maruz kalmayan ve sigara içmeyen 22 kadından oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İki grubun solunum fonksiyon testlerine, karbon monoksit difüzyon kapasitelerine ve yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi bulgularına bakılmıştır. Sonuç olarak biyomas dumanına maruz kalanlarda kontrol grubuna göre fibrotik bantlar 7 kat, peribronşial kalınlaşmalar 5 kat, nodüler radyoopasiteler 7 kat, küresel çizgi dansitelerindeki artış 16 kat daha yüksek bulunmuş. Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi bulguları ile akciğer volüm ölçümleri biyomas maruziyeti olan grup ile kontrol grubu arasında derin inspiryum ve ekspiryumda istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Sırtüstü derin inspirasyonda biyomas maruziyeti olan grubun akciğer hacmi kontrolden daha küçük bulunmuştur. Yine bu çalışmada derin ekspirasyonda biyomas maruziyeti olan grubun havalanma artışı olduğu görülmüştür (32). Özbay ve arkadaşlarının (33) yaptığı bir çalışmada ev içi yüksek oranlarda biyomas yakıt dumanına maruz kalan kadınlarda solunum fonksiyon testlerinde şiddetli obstrüksiyon, yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografide ise artmış akciğer

volümü ve difüz amfizem, interlobüler septalarda çekilme, fokal amfizamatöz alanlar, kardiyotorasik oranda artma ve bronkovasküler görünümde belirginleşme görülmüştür.

## **2.12. OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN SİSTEM**

### **2.12.1. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİ**

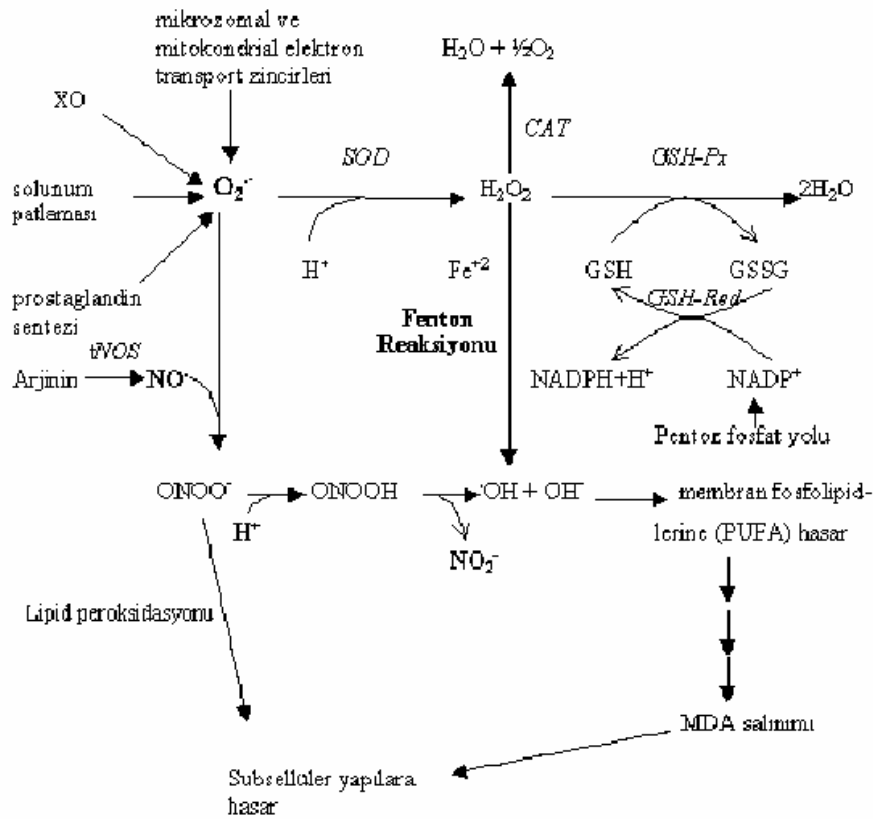
Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Oldukça reaktif olup kısa ömürlüdürler. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilir (34,35). Serbest radikaller kovalent bağlı bir molekülün, her atomunda ortak elektronlardan birinin kalarak, kovalent bağın homolitik bölünmesiyle ya da radikal olmayan bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle oluşurlar. Bu nedenle serbest radikallerde yarım bağ olduğu düşünülebilir. Bu tür maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (35,36). İki radikal karşılaştığı zaman çift olmayan elektronlarını birleştirirler ve bir kovalent bağ teşkil ederler. Hidrojen atomu eşleşmemiş elektronuyla bir radikaldir ve iki hidrojen atomu diatomik bir hidrojen molekülü oluşturmak üzere kolayca birleşebilirler (37,38).



$Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  ve  $Mo^{5+}$  gibi geçiş metallere de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat reaksiyonları kataliz ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (35,39,40). Radikaller nonradikallerle bir kaç yoldan reaksiyona girerler. Bir radikal ortaklanmamış elektronunu bir nonradikale verebilir (redükte edici radikal) veya bir çift oluşturmak için diğer bir molekülden bir elektron alabilir (okside edici radikal) ya da bir nonradikale birleşebilir. Bu üç reaksiyon tipinden hangisi ile olursa olsun nonradikal ürün sonunda bir radikale dönüşür (39). Reaktif ara ürünlerinin hepsi radikal olmadığı için sıklıkla hatalı olarak kullanılan “serbest oksijen radikalleri” yerine “reaktif oksijen metabolitleri (ROM)” terimini kullanmak yerinde olur (37).

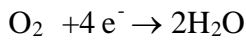
ROM'ların organ-doku hasarında ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü son yıllarda tıbbın giderek artan ilgi alanını oluşturmaktadır. ROM'lar birincil olarak hastalık nedeni olabildiği gibi bazı hastalıklarda da ikincil olarak ortaya çıkar (41). Oksijenli ortamda yaşayan

canlılarda oksijen ( $O_2$ ) hem hücre yaşamının sürdürülmesi için kimyasal enerji üretiminde, hem de bazı endojen bileşiklerin oksidasyonu ve ksenobiyotiklerin zararsız hale getirilmesinde kullanılır (41). Oksijen metabolizması mitokondriler içinde gerçekleşir. Mikrozomal ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektronların difüze olması esnasında, nükleotid metabolizmasında hipoksantin ve ksantin basamaklarında, fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında, araşidonik asit metabolizması esnasında ve argininden nitrik oksit (NO) sentezi esnasında ROM üretilmektedir (ŞEKİL-I).



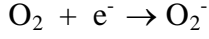
Şekil-I: ROM'nin kaynakları ve meydana gelen reaksiyonlar

Mitokondriler içindeki olayda  $O_2$  molekülüne dört elektron eklenerek suya çevrilir.



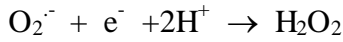
Vücuttaki moleküler  $O_2$ 'nin %95'i bu enzimatik işleme suya çevrilirken, kalan %5'ine bir elektron eklenerek değişik bileşikler oluşturulur. Bu eşlenmemiş, tek elektron eklenmesiyle ortaya çıkan ve stabil olmayan oksijen türevlerine reaktif oksijen metabolitleri adı verilir. Bu yolla oluşan metabolitlerin başlıcaları

süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ) ve hidrojen peroksittir ( $H_2O_2$ ). Hemen tüm aerobik hücrelerde  $O_2$ 'nin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit meydana gelir (ŞEKİL-I).



Oksijenin tek elektronla indirgenmesiyle oluşan süperoksit bütün aerobik hücrelerde bulunur. Hem oksidan hem de redüktan özelliğe sahiptir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi sellüler elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinde  $O_2$ 'e elektron sızmasıyla oluşur. Aşırı solunumla  $O_2$  konsantrasyonunun artması sonucu sızma miktarı ve buna bağlı olarak süperoksit üretim hızı artar (ŞEKİL-I) (35,40).

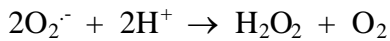
Süperoksit bir oksidan olmakla birlikte kendisi fazla zarar vermez. Asıl önemi  $H_2O_2$  kaynağı ve geçiş metallerinin indirgeyicisi olmasıdır. Moleküler  $O_2$ 'nin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 H atomu ile birleşerek  $H_2O_2$  meydana getirir.  $H_2O_2$  membranlardan kolaylıkla geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır (42).



### 2.12.2. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ

Mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron iki yerden sızar. Birincisi, NADH-Dehidrojenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağıdır. elektronların  $O_2$ 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi  $O_2$ 'nin % 98'ini harcayarak suya indirger.  $O_2$ 'nin % 2'si ise transport zincirinden sızan elektronlarla süperoksit oluşturur (39). Süperoksit, pH 7,2 de yaklaşık  $3.8 \times 10^5$  mol/s sabitesinde daha stabil bir metabolit olan  $H_2O_2$ 'e dönüşür (43).

Biyolojik sistemlerde  $H_2O_2$ 'nin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak  $H_2O_2$  ve moleküler  $O_2$  oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



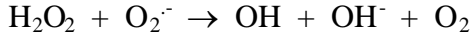
Bu dismutasyon ya spontandır ya da süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4.8 de en hızlıdır, ancak bu reaksiyon SOD tarafından katalizlenen reaksiyona göre  $10^4$  kez daha yavaştır. Özellikle spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH da enzimatik dismutasyon daha belirgindir.

Süperoksit dismutaz enzimi, ilk kez 1960 yılında McCord ve Fridovich tarafından memeli dokularında gösterilmiştir (35,44). Memeli hücrelerinde SOD'nin üç tipi bulunmaktadır. Bunlardan ilki sitozolde ve mitokondrial membranın iç bölümünde bulunan dimerik yapıdaki sitozolik Cu-Zn SOD enzimidir. Moleküler ağırlığı 33.000 Da olup 2 bakır ve 2 çinko atomuna sahiptir. İkinci izomer ise mitokondrial matrikste ve kısmen sitoplazmada fonksiyon gösteren mitokondrial Mn-SOD'dur. Memeli Mn-SOD'ı 80.000 Da moleküler ağırlığa sahip olup tetramerik yapıdadır. İki veya dört Mn atomu içerir. Sitozolik Cu-Zn SOD siyanidle inhibe edilirken, mitokondrial Mn-SOD inhibe olmaz. Her iki SOD'nin katalizlediği reaksiyon da aynıdır. Ayrıca 1982 yılında glikoprotein yapısında olan ekstraseluler SOD (EC-SOD) tanımlanmıştır. Moleküler ağırlığı 135.000 Dalton'dur. Dört eşit subüniti vardır. Dört Cu ve muhtemelen 4 Zn atomu taşır. EC-SOD ve Cu-Zn SOD'nin prostetik metalleri benzemesine rağmen amino asit dizilişi, antijenik özellikleri ve kromozomal yerleşimleri farklıdır (35,45).  $O_2^-$  SOD'nin  $Cu^{2+}$  ve arginin rezidüsünün guadino grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda  $O_2^-$ 'ten bir elektron  $Cu^{2+}$  'ye transfer olurken  $Cu^{1+}$  ve  $O_2$  meydana gelir. İkinci bir  $O_2^-$ ,  $Cu^{1+}$  'den bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak  $H_2O_2$  oluşturur. Sonuçta enzim tekrar reaksiyonun başındaki formuna ( $Cu^{2+}$  formu) dönmüş olur. Hem spontan olarak hem de dismutasyonla oluşan  $H_2O_2$ , katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. SOD fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler olarak öldürülmesinde de önemli rol oynar. Bu nedenle SOD granülosit fonksiyonunda çok önemlidir. Lenfositlerde granülositlerden fazla SOD bulunmamaktadır (35,39,40).

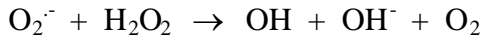
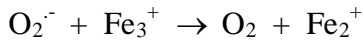
### **2.12.3. GLUTATYON PEROKSİDAZ**

Hidrojen peroksit hem kendisi oksidan hasar yapabildiği, hem de  $OH^-$  ve  $HOCl$ 'e dönüşebildiği için önemli bir bileşiktir. Normalde  $H_2O_2$ , antioksidan

enzimler olan KAT ve GPx katalizlediği reaksiyonlar sonucu, suya kadar parçalanır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zararlı olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber -Weiss reaksiyonu adı verilir (35,41). Bu reaksiyon katalizör varlığında ya da katalizörsüz meydana gelir. Katalizörsüz olan oldukça yavaştır. Demirle katalizlenen ikinci şekil ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe<sup>3+</sup>) süperoksit tarafından ferro demire (Fe<sup>2+</sup>) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak “Fenton reaksiyonu” ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> den OH ve OH<sup>-</sup> üretilir.



Görüldüğü gibi süperoksit, hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı hem de geçiş metallerinin indirgeyicisidir. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksijen radikalidir. Yarı ömrünün kısa olması sebebiyle etrafa yayılamaz, ancak üretim bölgesinde önemli zedelenmeye sebep olur. Hidroksil radikalının yüksek reaktivitesi sebebiyle istenmeyen toksik etkileri olmasına rağmen, üretilmesi normal biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Fagositoz ve pek çok enzimatik katalizin zorunlu bir parçası olarak hidroksil radikali üretilir (35).

#### **2.12.4. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN ORGANİZMADAKİ KAYNAKLARI**

##### **2.12.4.A. BİYOLOJİK KAYNAKLARI:**

- 1-Aktive olmuş fagositler
- 2-Antineoplastik ajanlar (Bleomisin, doksorubusin ve adriamicin.)
- 3-Radyasyon
- 4-Alışkanlık yapan maddeler (Alkol ve uyuşturucular)
- 5-Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, biyomas dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- 6-Stres (35).

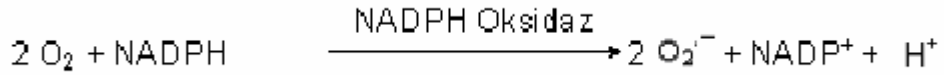
#### 2.12.4.B. HÜCRESEL KAYNAKLARI:

İyonize radyasyonun etkisi dışında serbest radikaller hücrelerde genellikle elektron transfer reaksiyonları ile oluşur. Bu reaksiyonlar enzimatik ya da non enzimatik metal iyonları varlığında aktive edilebilirler. Organizmada serbest radikal üretimi bir amaca yönelik olabilir. Bazı enzimler kataliz sırasında serbest radikalleri kullanırlar. Bu durumda serbest radikal gerçekten serbest değildir ve aktivitesi spesifik bir reaksiyona yöneltilmiştir. Aktive fagositozda bakterisidal aktivitesi nedeniyle süperoksit ortaya çıkar.

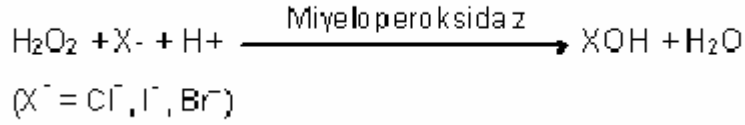
Biyolojik olarak serbest radikallerin üretildiği yerler şöyle sıralanabilir:

- 1)Mitokondriler
- 2)Sitozol
- 3)Peroksizomlar

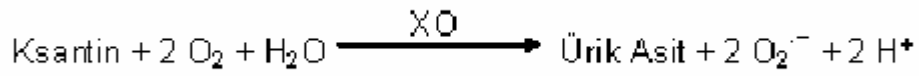
Fagositik lökositler (nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller) çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olan ve enfeksiyona karşı hücrel cevabı başlatan hücrelerdir. Solunum patlaması esnasında fagositik hücrelerde diğer ROM ile beraber süperoksit de oluşmaktadır. Nötrofillerde süperoksit üretimi plazma membranının dış yüzeyine yerleşmiş bulunan NADPH oksidaz aracılığıyla oluşur. Uygun bir stimulus ile fagositik hücre uyarıldıktan sonra NADPH oksidaz aktive olur. NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül O<sub>2</sub>'e aktarılır. Böylece iki molekül süperoksit oluşur.



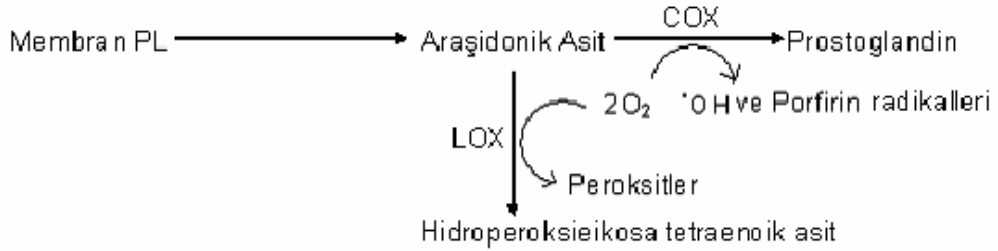
Respiratuvar patlama esnasında tüketilen O<sub>2</sub>'nin çoğu süperoksit ara ürünü üzerinden H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürülür. Kronik granülamatöz hastalık olarak bilinen konjenital bozuklukta NADPH oksidaz eksikliğine bağlı olarak süperoksit ve diğer ROM üretilemez ve böylece öldürülemeyen pek çok bakteri türü serbest kalır. Örneğin; fagosit edilemeyen stafilococcus aureus gibi bakterilerle hastalar ciddi, kalıcı ve tekrarlayan enfeksiyonlara maruz kalırlar (35,39,40). Nötrofillerin kullandığı diğer bir bakteri öldürme mekanizması da bir hem enzimi olan myeloperoksidazın (MPO) kataliziyle florür dışındaki halojenleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i kullanarak XOH'in oluşturulmasıdır. Bu asitler oksidan özelliklerinden dolayı güçlü antibakteriyel ajanlardır (35).



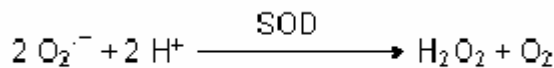
Hücrelerde süperoksit oluşumuna neden olan diğer bir enzim ksantin oksidazdır (XO). Sağlam dokularda % 90'ı ksantin dehidrogenaz (XD) formunda bulunan XO enzimi düşük oksijen basıncında inaktifken yüksek oksijen basıncında aktif hale gelir. XO enzimi ksantinün ürik aside dönüşümü sırasında süperoksit oluşumuna neden olur (35).



Araşidonik asit metabolizması esnasında siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LOX) yoluyla süperoksit üretilir. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve protein kinaz aktivasyonuna, sonuçta plazmaya arşidonik asidin salınımına neden olur (35).



Normal metabolizma yanı sıra hiperoksi, inflamasyon ve radyasyon gibi çevresel ajanlar oksijen metabolizmasını artırarak ROM oluşumunu artırır. Ayrıca neoplastik ilaçlar, bazı anestezipler, bazı çözücüler, sigara dumanı, hava kirliliği, aromatik hidrokarbonlar gibi çeşitli çevresel ajanlar da ROM'nin ortaya çıkmasına yol açarlar. Oluşan süperoksit ya spontan olarak ya da SOD enziminin katalizlediği reaksiyonla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüşür. Spontan dismutasyon en hızlı pH 4.8 gerçekleşir.



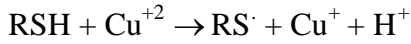


### 2.12.5. OKSİJEN TÜREVİ OLMAYAN SERBEST RADİKALLER

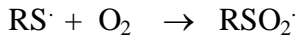
Oksijen ve ksenobiyotik radikallerinden başka radikaller de vücutta oluşabilmektedir. Karbon merkezli radikaller ile tiyol bileşikleri bunlara örnektir.

#### 2.12.5.A. TİYOL BİLEŞİKLERİ (R-SH)

Tiyol bileşikleri (R-SH) geçiş metallerinin varlığında oksitlenerek RS (til) radikali oluştururlar:



RS $\cdot$  radikali oksijen ile birleşebilir:



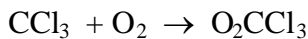
Daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidlerde hasara yol açtığı bildirilmiştir. Diğer taraftan oksidatif strese bağlı olarak oluşan in vivo DNA ve protein hasarının, lipidlerdeki hasardan daha önemli olduğu öne sürülmektedir. Proteinlerde in vivo olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücrel fonksiyonları etkiler. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir. Serbest radikaller proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur. Protein SH grupları (Tiyoller) antioksidan fonksiyonlarını peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarak gösterir. Böylelikle vitamin E ve/veya lipidler oksidatif ataktan korunur. Oksidatif protein hasarı, protein tiyol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir (41,46).

#### 2.12.5.B. KARBON MERKEZLİ RADİKALLER:

Karbon merkezli radikaller birçok biyolojik sistemde oluşabilmektedir (Ör: CCl $_4$ ).



Karbon merkezli radikaller çoğunlukla O $_2$  ile reaksiyona girerek peroksil radikali verirler.



Triklorometilperoksil radikali: Reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asid kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda protein karbonilleri meydana gelir protein karbonil düzeylerinin saptanmasının oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmektedir. Oksidatif protein hasarı, protein karbonil düzeylerindeki artış ve protein tiyol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir (47).

#### **2.12.6. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN ETKİLERİ**

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, karbonhidrat , DNA ve enzim gibi bütün önemli bileşenlerine etki ederler. Bu etkiler aşağıda başlıklar halinde açıklanabilir.

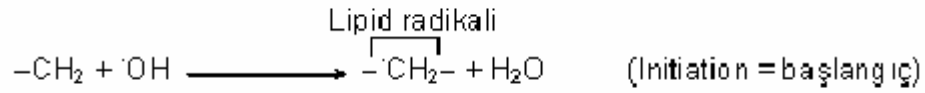
##### **2.12.6.A. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN MEMBRAN LİPİDLERİNE OLAN ETKİLERİ**

Dış orbitallerinde eşleşmemiş, elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal (48), enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan radikaller ve reaksiyonlarını önlemeye çalışan maddeler ise antioksidan olarak tanımlanmaktadır (41). Uzun yıllar yüksek enerji fizikçileri ve radyasyon biyologlarının ilgi alanı olarak algılanan serbest radikallerin normal metabolizmaya ait bir ürün olduğu çok daha sonra anlaşılmıştır. Bugün radikallerin hücre moleküler değişimlerine, gen mutasyonlarına yol açtığı ileri sürülmekte, yaşlanma, hücre sel destrüksiyon ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir. Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (48).

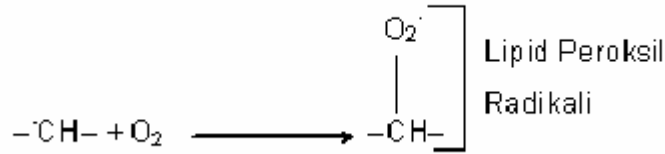
Proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktifleştirirken alfa-1-antitripsin gibi bazı savunma sistemlerini inaktive ederler. ROM'leri, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğu zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, ROM'leriyle kolayca reaksiyona

girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitleri (PUFA) nin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler.

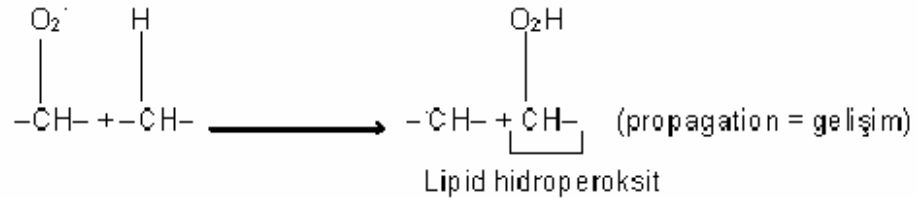
Reaktif oksijen metabolitleri membranlara yakın bölgelerde ortaya çıktığında membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla lipid peroksidasyonu başlar. ·OH radikali çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki α-metilen gruplarından bir H uzaklaştırır.



Reaksiyon OH radikalini ortadan kaldırır, fakat membranda C merkezli (-·CH-) lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir.



Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitleriyle reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H atomuyla birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder.



Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna ise “non enzimatik lipid peroksidasyonu” denir

(38). Lipid peroksidasyonu sonucunda; konjuge dienler, Malondialdehid (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), akrolein, izoprostanlar ile etan ve pentan gibi alkanlar meydana gelir. Lipid peroksidasyonunun değerlendirilebilmesi için oksidasyon ürünlerinin kantitatif ölçümleri gerekmektedir (49). Lipid hidroperoksitler; yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve iyodometrik testler ile ölçülmektedir (49). Konjuge dienler; iki karbon-karbon çift bağı (C = C) içeren alkenlere “dienler” denir. Konjuge dienler ise çift bağların birer tek bağ (C–C) ile ayrılmış olduğu dienlerdir. Spektrofotometrik olarak 234 nm’deki ölçülürler (49).

.....– C = C – .....C = C – ..... Dien

.....– C = C – C = C – ..... Konjuge Dien

İzoprostanlar; araşidonik asit metabolizması sonucunda COX yoluyla oluşmaktadır. F<sub>2</sub> α-izoprostan (F<sub>2</sub> α-IP)’ların bazı immünolojik testler ile ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) ile ölçülmesi sonucunda tayin edilmektedirler (49). MDA konsantrasyonu; tiyo barbiturik asit reaktif ürünleri (TBARS) testi, GC/MS veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçülmektedir (49).

MDA, protein ve asetaldehite bağlanarak yeni epitoplarm oluşumunu sağlamaktadır. Antijen gibi rol oynayan MDA-Protein ve MDA-Asetaldehit (MAA) otoimmün bir komplikasyonun oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca MDA’ya karşı da anti-MDA antikorları oluşmakta ve bu da immün cevabın hızlanmasına neden olur. MAA, proinflamatuvar mediyatörlerin ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu stimüle etmektedir (50).

Lipid peroksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. Oluşan aldehitler içinde en çok dikkati MDA çekmiştir. MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden difüze olup hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikalinin (L) hidrofobik yapıda olması dolayısıyla reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikali (LOO) ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlama ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon

transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinlerde oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler (38).

Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Oksidatif stres esnasında membran hasarı sonucu hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi aktive eder. Bu da araşidonik asit metabolizmasını aktive eder. Lipid peroksidasyonuna maruz kalan membrandaki poliansatüre yağ asitleri membran yapısını değiştirerek permeabilitenin artmasına ve böylece transport fonksiyonlarının bozulmasına yol açar.

#### **2.12.6.B. PROTEİNLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlere göre daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Proteinlerin lizin, arjinin, prolin ve threonin rezidülerinin yan zincirlerinin metal katalizli oksidasyonu protein karbonil türevlerinin oluşumuna yol açar. Protein karbonil türevleri aynı zamanda  $\alpha$ -amidasyon ve glutamil oksidasyon yolları ile polipeptid zincirlerinin uyanılmasıyla da oluşurlar. Protein karbonilleri sadece proteinlerin direkt oksidasyonu ile değil, aynı zamanda indirgeyici şekerler veya PUFA'nın oksidasyon ürünleri ile proteinlerin fonksiyonel gruplarının etkileşimi ile de oluşabilirler. Böylece protein-protein çapraz bağları da oluşur. Bu reaksiyonlar sonucunda albümin ve immünoglobülin G gibi çok sayıda disülfid bağları içeren proteinlerin tersiyer yapıları bozulur. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir (51,52). Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli derecede zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikali ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (35).

### **2.12.6.C. KARBONHİDRATLAR ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. PUFA ve karbohidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyoxal'in hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. İnflamatuvar eklem hastalığında bir mukopolisakkarid olan hiyalürinik asidin sinoviyal sıvıda artmış olan  $H_2O_2$  ve  $O_2^-$  ile parçalandığı gösterilmiştir (35).

### **2.12.6.D. NÜKLEİK ASİTLER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Reaktif oksijen metabolitleri DNA üzerinde de sitotoksik etkiye sahiptir. Serbest radikaller, siklobutan pirimidin dimerleri, dipirimidinler, tek zincir kırılmaları, DNA-protein çapraz bağları oluştururlar. DNA polimerazı inhibe ederler. Hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (43). Alkolün indüklediği oksidatif stres esnasında makrofajlar tarafından fazla miktarda imal edilerek salgılanan NO. ve onun oksidasyon ürünleri DNA hasarına bağlı hücre ölümüne yol açar. OH, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere neden olur. Nötrofillerden salınan  $H_2O_2$  membranlardan kolayca difüze olarak hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilir (35).  $O_2^-$ 'e maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik yapı gösterdikleri ve sirkülasyonda anti-DNA antikoranı bulunduğu gösterilmiştir (35).

### **2.12.7. MALONDİALDEHİT**

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan PUFA zincirinden bir  $^+H$  atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler  $O_2$ 'le etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer PUFA asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan  $H^+$  atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürler. Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu

bileşikler etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asitle ölçülebilen MDA meydana gelir. Bu metod lipid peroksid seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA' in neden mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (41,53). Lipidlerden araşidonik asit metabolizması sonucu ROM üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” adı verilir (35).

#### **2.12.8. ANTIOKSİDANLAR**

Oksijenli solunum yapan canlılarda aerobik metabolizma sırasında yan ürün olarak oluşan ROM'nin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için organizma güçlü bir savunma sistemine sahiptir. Bu sistem “antioksidan savunma sistemi” olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar lipidlerin yanı sıra proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi makromoleküller üzerinde koruyucu etkiye sahiptirler. Organizmanın yaşamını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge bulunmalıdır. ROM'nin artması veya antioksidan sistem yetersizliği gibi nedenlerle bu dengenin bozulması halinde, serbest radikaller oksidatif stres sürecini başlatmakta ve çeşitli patolojiler gelişmektedir. Gıda gibi organik moleküller içeren ürünlerde ise bozulmaya neden olmaktadır. Antioksidanlar etkilerini, ROM'nin oluşumunu önleyerek ve onları temizleyerek gösterirler. Antioksidanları enzimatik ve nonenzimatik ya da endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar diye sınıflandırabiliriz (Tablo-I).

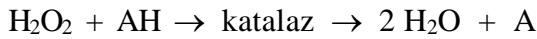
Tablo-I: Antioksidanlar

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz	Glutasyon	Albumin
Katalaz	$\alpha$ -tokoferol	Serüloplazmin
Glutasyon peroksidaz	Askorbat	Transferin
Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz	$\beta$ -karoten	Ferritin
Glutasyon-S-transferaz	Flavonoidler	Laktoferrin
Glutasyon redüktaz	Ürat	Melatonin
	Bilirubin	Sistein

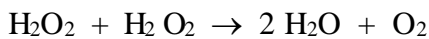
#### 2.12.8.A. SERBEST RADİKALLERİN OLUŞUMUNU ENGELLEYENLER:

**1. Metal iyonlarını bağlayanlar:** Antioksidan mekanizmalardan bazıları geçici oluşan metal iyonlarına bağlanarak elektron transferini engeller. Örneğin ferritin, transferin, seruloplazmin, hemopeksin, haptoglobulin.

**2. Peroksitleri ortadan kaldıranlar:** Metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitlerin ortadan kaldırılmasıyla, ROM üretimi engellenebilir. Hidrojen peroksit veya lipid peroksidasyonu sırasında üretilen lipid peroksitler katalaz ve GPx enzimleri tarafından ayrıştırılır. Katalaz peroksizomlarda bulunur ve  $H_2O_2$  üzerine etkilidir. GPx pek çok hücrede sitozolde bulunur, sitozol veya mitokondride SOD tarafından yapılan  $H_2O_2$  ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırır. Katalaz, düşük hızlarda  $H_2O_2$  oluşumunda veya yüksek elektron donörü konsantrasyonlarında peroksidatif reaksiyon ile;



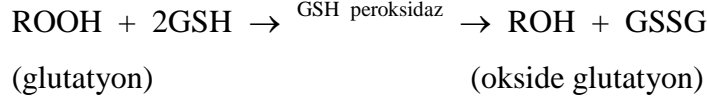
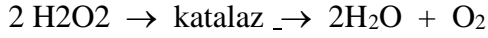
$H_2O_2$  oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyon ile;



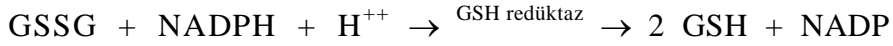
hidrojen peroksiti suya dönüştürerek temizler. Normal koşullarda hücrede oluşan  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonunda esas olarak bir selanoenzim olan GPx fonksiyon



görür. GPx'da, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i katalitik reaksiyon ile redükte eder. Bu reaksiyonda redükte GSH önemli role sahiptir. Sonuçta okside GSH ile su oluşur.



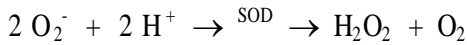
NADPH'nın rejenerasyonu için glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi gerektiğinden bu enzim de hücre içi antioksidan savunmada rol sahibidir. Antioksidan etkinliğin devam edebilmesi için okside glutasyonun tekrar redükte forma dönüştürülmesi gereklidir. Bu işlem NADPH bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz tarafından yerine getirilir.



### **2.12.8.B. OLUŞAN REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİ ORTADAN KALDIRANLAR**

**1. Enzimler:** Pek çok biyolojik bileşik okside edici ROM'leriyle antioksidasyonu sağlayan reaksiyona girebilmektedir, ancak bileşiğin iyi bir antioksidan olmasını sağlayan, kendisinin reaktif radikale dönüşmemesi ve hedefinin belirli olmasıdır. Bu antioksidanlardan birisi SOD'dır. SOD'dan başka; GPx, Glutasyon Redüktaz (GR), KAT da sayılabilir.

SOD enzimi süperoksitin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve moleküler O<sub>2</sub>'ye dönüşümünü katalizler.



Süperoksit radikalleri spontan dismutasyona uğramakla beraber SOD bu dismutasyon hızını 10<sup>4</sup> kat arttırarak daha toksik ürünlerin oluşumunu önler. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda yüksektir ve doku pO<sub>2</sub> artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde hücre içi süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi öldürülmesinde de rol oynar.

**2-Enzim olmayanlar:**Antioksidanlardan birçoğu enzim değildir. Bunlardan biri olan α-tokoferol hücre zarında bulunur. α-tokoferol lipid peroksidasyon zincirini kırdığından zincir kırıcı antioksidan olarak tanımlanır . Askorbik asit güçlü bir

elektron vericisi ve antioksidandır.  $\beta$ -karoten de etkili bir singlet oksijen süpürücüsü ve lipid peroksidasyon inhibitörüdür.

### **2.12.9. BİYOMAS DUMANI MARUZİYETİ, SİGARA, AKCİĞERLER VE OKSİDATİF HASAR**

Normal hücre metabolizması esnasında akciğerler başlıca süperoksit ve hidrojen peroksit gibi ROM' lerine bağlı olarak bazal oksidan madde yüküne maruz kalırlar. İnflamasyon, hiperoksi ve sigara dumanında bulunan fazla miktardaki oksidanın inhalasyonu gibi durumlarda söz konusu normal oksidan yükün artıp hem akut hem de kronik akciğer hasarına yol açabileceği giderek açıklık kazanmaktadır. Sigara dumanı kompozisyonu iki sınıf serbest radikal içerir: 1-Gaz fazı 2-Tar fazı. Tar kısmı gram başına  $10^{18}$  serbest radikal içerir. Normalde solunum yolu epiteli endojen ve eksojen serbest radikal yüküne karşı antioksidan enzim ve moleküllerle korunur. Hücre içi enzimler arasında SOD, katalaz, glutatyon reduktazla glutatyon peroksidaz enzimlerini kullanan glutatyon redoks halkası bulunur. Non-enzimatik antioksidanlar arasında Vit-E, Vit-A, Vit-C ve glutatyon mevcuttur. Alt solunum yolları yüzey epitel sıvısında hücre dışı antioksidanlar olarak SOD, katalaz ve albumin, seruloplazmin, transferrin gibi plazma proteinleriyle GSH ve vitaminler bulunur. NAC'da antioksidan özelliklere sahip bir ajandır ve etkisini glutatyon sentezinde substrat olarak görev alarak yerine getirmektedir. Alt solunum yolları yüzey epitel sıvısında GSH plazma düzeyine göre 100 kat daha fazla bulunur. Bir tripeptidtir, suda çözünür ve yüksek konsantrasyonda her hücrede bulunur. Değişik enzimlere kofaktördür ve oksidatif stresi azaltır (32).

### **2.12.10. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİ İLE İLİŞKİLİ AKCİĞER HASTALIKLARI**

**2.12.10.A. KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI:** KOAH patogeneğinde rolü olan oksidanların kaynakları sigara dumanı ve aktive olmuş akciğer fagositleridir. Olayların gelişiminde oksijen ve karbon merkezli radikallerin birikmesi esastır (54).

- 1-Akciğerdeki endojen proteazların inaktivasyonu
- 2-Proteinlerin proteazlara duyarlılığın artması
- 3-Akciğerde proteaz içerikli nötrofillerin birikmesi

**2.12.10.B. BRONŞİYAL ASTİM:** ROM orta ve şiddetli astımda artmıştır. Bu da artmış lipid peroksidasyonuna yol açar. Ayrıca atopik bireylerde antijen stimülasyonunu takiben ROM üretimi gösterilmiştir.

**2.12.10.C. KANSER:** İnsan kanserlerinin çoğu çevresel etkenlere bağlıdır. Bunlar arasında sigara en önemli etkidir ve tüm kanser ölümlerinin %30-40 sebebidir. Sigara içilmesi tüm akciğer kanserlerinin %90'ından sorumludur ve histolojik tiplerin çoğu ile yakın ilişkilidir. Sigara dumanı çok miktarda karsinojen ve kokarsinojen bileşikler içerir (54).

**2.12.10.D. İSKEMİ-REPERFÜZYON:** İlk gözlemler hipoksik dokuların oksijenize edilmesi ile doku nekrozu oluştuğunu göstermiş ve buna O<sub>2</sub> paradoksu denmiştir. Bu teori post-iskemik dokuda reperfüzyon sırasında ROM'leri oluştuğunu kabul eder. Bu teori hipoksik durumlarda ve akciğer transplantasyonlarında da geçerlidir (41). Normal doku ve organlarda bulunan ksantin dehidrogenaz enzimi ksantin ve hipoksantini ürik asite çevirir. İskemik durumlarda ATP azalmasıyla bu enzim, Ca<sup>+2</sup> bağlı bir proteazla sülfhidril gruplarından oksitlenerek ksantin oksidaza dönüşür. Bu durumda reperfüzyonla sağlanan O<sub>2</sub>, ksantin oksidaz ve hipoksantin arasında bir reaksiyon oluşturarak O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumuna neden olur (41). Akciğer parankimi çift dolaşıma sahip olduğundan ve O<sub>2</sub>'yi kandan değil atmosferden aldığı için reperfüzyon hasarları akciğerde daha az görülür. Ancak doku iskemisi kaçınılmaz olan akciğer transplantasyonları gibi akciğere özgü şartlar altında olur.

**2.12.10.E. PULMONER FİBROZİS:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren aerosollerin sık kullanılması sonucu, bunların akciğerdeki oksidan etkisiyle interstisyumda mononükleer hücre ve konnektif doku birikimiyle giden fibrotik akciğer hastalıkları oluşturma potansiyeli vardır. Pulmoner alveolar makrofajlar (PAM) ve nötrofiller tarafından üretilen O<sub>2</sub><sup>-</sup> fibrotik akciğer hastalıklarıyla beraber olabilir. İdiyopatik pulmoner fibrozisi (İPF) bulunan hastaların BAL 'ındaki inflamatuvar hücrelerin O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi kontrol grubuna göre daha fazla salgıladıkları görülmüştür. Ayrıca İPF'li hastaların alt solunum yolu yüzey epitel sıvısında GSH belirgin olarak daha az bulunmuştur. İPF'li hastalar kortikosteroid tedavisine cevap veriyorlarsa PAM'ların oksidan üretimi azalmıştır. Bu azalma cevap vermeyen hastalarda görülmez. Ayrıca İPF'li hastalarda GSH'n antioksidan etkisi 4 kat azalmıştır. Bu

da İPF'li hastaların terminal hava yollarında oksidan-antioksidan dengesizliği olduğunu düşündürebilir. Pulmoner fibrozis ile giden romotoid artrit (RA) hastalığın ciddiyetiyle orantılı olarak nötrofil sayıları ve myeloperoksidaz gibi nötrofil ürünleri artmıştır. Bu hastalardan alınan BAL sıvısı normal nötrofillere eklendiğinde  $O_2^-$  üretiminin ve fagosit kökenli ROM'lerinin arttığı görülmüştür

Solunum yoluyla alınan inhale tozların sebebiyet verdiği pnömokonyozda, fagosit kökenli ROM'lerinin bulunduğu ortamda oluşmaktadır. Basit pnömokonyozlu kömür işçilerinden lavaje edilmiş inflamatuvar hücrelerde  $O_2^-$  salınımı orta derecede iken, progresif masif fibrozisli işçilerde çok daha fazladır. İnorganik tozların akciğerde oksidan üretimi mekanizması, direkt radikal üretimi veya epitel, endotel, fagositik hücreler gibi hücrelerin oksidan üretmesiyle olur. Örneğin, taze kınılmış silika sıvı ortamda hidroksi radikallere dönüşen  $10^{18}$  silika kökenli radikal üretir. Silika ayrıca PAM'leri  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  üretimi için uyarır. Daha büyük krikodolit lifleri makrofajlar tarafından tamamen fagosite edilemez ve bunun sonucu epitel hasarı oluşabilir (41). Çeşitli ilaçların sebep olduğu pulmoner fibrozis oksijen veya organik radikaller sonucu oluşabilir. Örneğin, Bleomisin hücre içerisinde serbest demirle kompleks oluşturur ve de fenton kökenli hidroksil formasyonu ile DNA'ya bağlanır. DNA'ya yönelme bile bleomisin-demir kompleksi ferröz oksidaz mini enzimleri olarak görev yaparak  $O_2$  den  $O_2^-$  üretir. Bu da bize yüksek  $O_2$  ile ventile edilen hastalardaki bleomisin toksisitesini açıklar. Akciğer dokusunda oksijen radikalleri ile hasar meydana getiren ilaçlardan bazıları şunlardır;

- 1) Siklofosfamid; ROM üretir.
- 2) Karmustin ; glutasyon seviyelerini azaltır.
- 3) Nitrofrantoin ve amiodoron dokuda ROM'lerinin üretimini indükler.

**2.12.10.F. HAVA KİRLİLİĞİ:** Atmosferdeki oksidan aktivitesinin oluşması primer kirli atıkların ( $CO$ ,  $NO_2$ ) fotoreaksiyonu sonucu sekonder kirleticiler oluşturması ile olur. Bunlar arasında en önemlileri güçlü okside edici radikaller olan ozon ( $O_3$ ) ve  $NO_2$ 'dir. Bunlar ayrıca suda  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  oluşturur. Ne yazık ki çoğu büyük şehrin atmosferi inhale oksidanlarla doldurulmuştur. Bu oksidanların yüksek seviyelerinin akut hasar yaptığı bilinmekle beraber uzun dönemde düşük seviyelerinin toplumdaki etkileri bilinmemektedir.  $O_3$  karsinojen

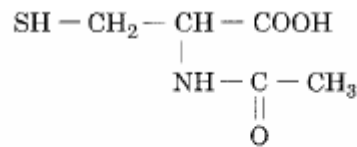
olup DNA gibi bazı yapıları hedef alır. O<sub>3</sub> ayrıca membran lipidlerinin peroksidasyonuna sebep olur. Hava yolları epitel ve endotelinin geçirgenliğini artırır. Ayrıca, O<sub>3</sub> kollajenin proteolitik sindirimini artırır, kollajeni harap eder. Akciğer ve kasdaki A-1-AP'yi inaktive eder SOD ve katalazı in vitro inaktive ettiği gösterilmiştir. Bunların sonucunda akciğer matriks dejenerasyonu yapar. O<sub>3</sub> tek başına hem insanlarda hem de hayvanlarda havayolu reaktivitesini artırır (41).

#### 2.12.10.G. AKUT RESPIRATUAR DİSTRES SENDROMU

Şiddetli hipoksemi, diffüz interstiyel infiltrat ve nonkardiyak pulmoner ödemle birlikte alttaki cerrahi veya medikal bozukluklarla karakterizedir. Olguların %50'den fazlası multiorgan yetmezliği ile kaybedilir. ARDS nötrofillerin akciğerde alıkonulması ve aktive olduğunda O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hipoklorik asit (HOCl) ve proteazların salınımıyla birlikte (35). Bununla beraber ARDS nötropenili hastalarda da gelişebilir. Yani nötrofiller her zaman esas değildir. Ayrıca makrofajların rolü de unutulmamalıdır. Makrofajlar aktive olduğunda proteaz, ROM ve diğer potansiyel toksik ürünler salgılayabilir. ARDS'de oksidatif stresin arttığı delilleri; myeloperoksidazın tespiti, solukta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tespiti edilmesi ve vücut sıvılarında askorbik asidin azalmasıdır. Ayrıca lipid peroksidasyonunun seviyesinin arttığı gösterilmiştir. ARDS'li hastaların akciğerlerinde GSH belirgin olarak düşük bulunurken, okside glutatyon artmış bulunmuştur.

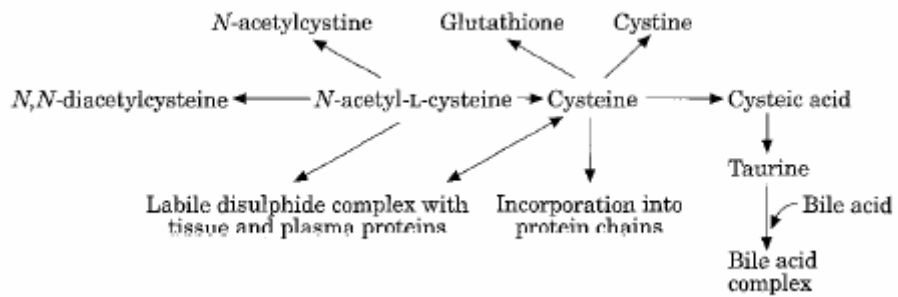
#### 2.13. N-ASETİLSİSTEİN

NAC L-sisteinin N-asetil derivativesidir. 1960 yılında geliştirilmiştir. Disülfit bağlarını azaltarak mukus elastisitesini ve viskozitesini azaltmak için nontoksik olması nedeniyle sıkça kullanılmaktadır. Moleküler ağırlığı 163,2 g mol<sup>-1</sup> ve moleküler formülasyonu C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>S'dir(Şekil-II).



Şekil-II: NAC'ın moleküler formülasyonu

NAC antioksidan özelliklere sahip bir ajandır. GSH sentezinde bir substrat olarak görev alır. GSH düşük molekül ağırlıklı bir tiyoldür. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Bu sentez sitozolik enzimler olan gama glutamil sistein sentetaz ve glutatyon sentetaz tarafından katalizlenir. GSH antioksidan defanst önemli rol oynar. En önemli endojen antioksidandır. NAC'ın antioksidan fonksiyonu moleküler yapısı ile açıklanabilir. SH grupları nedeniyle NAC,  $O_2^{-1}$  ve  $H_2O_2$  gibi oksidanlar ile direkt olarak etkileşir. Bu reaksiyonda iki NAC molekülü bir disülfit bağımlı oksitler. Böylece  $O_2^{-1}$  içeriği düşüş gösterir. NAC, tiyol grubu içeren diğerleri gibi (ör, GSH) bir -OH radikal yakalayıcısıdır. NAC'ın antioksidan etkisine ek olarak hücrel GSH sentezinde rol aldığını, hayvan ve hücre kültürlerinde oksidan hasarı önlediği veya azalttığını gösteren pek çok çalışma vardır.  $10^{-5}$  M üstünde NAC alınması intrasellüler GSH seviyesinde yaklaşık olarak 10 kat artış oluşturur. Yapılan çalışmalarda sığır pulmoner arter epitel hücreleri ve tip 2 epitel hücrelerinin sisteini sistinden daha iyi transport edebildiği görülmüştür. Hücrel GSH sentezinde ana substrat sistein gibi görünmektedir. Sisteinin sistine indirgenmesinden ve/veya NAC'ın N-deasetilasyonundan sistein oluşmaktadır. Tartışılan ek mekanizmalara rağmen hücrel GSH prekürsörleri için anahtar mekanizma NAC'ın N-deasetilasyonu gibi görünmektedir. Antioksidan etkisine ek olarak NAC'ın antiinflamatuvar yeteneği de bulunmaktadır. NAC'ın oral alımı sonrası bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) hümorale markırlar düşük bulunmuştur. NAC'ın metabolik yollarının modifiye şekli aşağıdaki gibidir (Şekil-III).



Şekil-III: NAC'ın metabolik yollarının modifiye şekli

Yaklaşık olarak 6 gramın üzerinde parasetamol alımı hücrel GSH depolarını tüketir ve karaciğer nekrozuna yol açar. NAC'ın %70 karaciğerde metabolize olmasından dolayı parasetamol intoksikasyonunda etkisi kanıtlanmıştır. NAC GSH ile konjuge olur. Karaciğerde hücre içi etkin bir sistin sağlayıcı prekürsör olarak rol oynar. Sistin de hücre içinde GSH'e transforme olur. Ayrıca NAC'ın doksorubisine karşı kalbi, bleomisine karşı akciğeri koruyucu etkisi vardır. NAC toksik değildir ve insanlarda kullanıldığı zaman nadiren anafaksi, taşikardi ve hipotansiyona yol açar. İn vivo ve in vitro çalışmalarda sadece çok yüksek konsantrasyonlarda kemotaksisi azalttığı ve polimorfonükleer lökosit sitotoksitesini artırdığı gözlenmiştir. Biyoyaralanımı az olduğu için bu konsantrasyonlara insanlarda ulaşmak mümkün değildir.

Son zamanlarda akciğer kanseri ve KOAH gibi pek çok hastalığın patogeneğinde oksidan stres ve oksidan/antioksidan dengenin bozulmuş olması suçlanmaktadır. Çeşitli çalışmalarda uzun süreli NAC kullanımının KOAH'da atak sayısını ve ekshalasyon havasında hidrojen peroksit gibi oksidatif stres göstergelerini azalttığı bildirilmiştir. Ancak tedavide kullanılıp kullanılmayacağı tam olarak belli değildir ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (55, 56).

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇ

Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Patoloji laboratuvarlarında yapıldı.

##### 3.1.1. KULLANILAN CİHAZLAR

1. Spektrofotometre (Schimadzu UV-1601)
2. Santrifüj (Nüve-NF 800 R, 2500 devir hızında)
3. Işık mikroskobu (Nicon THP117)
4. Hassas terazi (Precisa 310 M)
5. Derin dondurucu (Beko)
6. Gaz analizatör cihazı (Testo 350 XL, Almanya)
7. Manuel pompa (Duman püskürtücü, El yapımı)
8. Temiz hava pompası (78 ml/min hava akım hızında, Çin)
9. Ayarlanabilir otomatik pipetler (Eppendorf)

##### 3.1.2. DENEY HAYVANLARI (TAVŞANLAR)

Çalışmaya alınan 20 adet tavşan Ankara Hıfzısıhha Enstitüsü Aşı ve Serum Çiftliği'nden temin edilerek Üniversitemiz Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezine getirildi ve burada barındırıldı. Alınan tavşanlar 1500-2000 gram ağırlığında, bir yaşını geçmemiş, beyaz, yetişkin, erkek, Yeni Zelanda tavşanıydı (n=5, her grup). Taşıma ve tüm prosedürler Laboratuar Hayvanları Kullanma ve Koruma Klavuzuna göre yapıldı (NIH Publication No. 86-23). Çalışma süresince tavşanlar Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuarında temiz bir odada özel olarak hazırlanmış kafeslerde bulunduruldu (Şekil-IV). Tavşanlar kuru ot, yem sanayi tarafından hazırlanmış yem ve su ile beslendi. Hayvanlar için optimum yemleme, su verme, aydınlatma, ısıtma (oda ısısı) ve havalandırma koşulları sağlandı. Bütün tavşanların çalışma başlangıcı ve bitimindeki ağırlıkları ölçüldü ve ekstremiteleri boyanarak işaretlendi.





Şekil-IV: Deneklerin görünüşü

### 3.1.3. CAM KAFES

Biyomas dumanı maruziyeti için 80x80x80 cm ölçülerinde, Mays ve arkadaşlarının (57) kullandığı modelde, içerideki hayvanların dışarıdan izlenebildiği özel olarak yaptırdığımız cam kafes kullanıldı (Şekil-V). Cam kafesin üst kısmına tavşanların kafese koyulmasını ve çıkarılmasını sağlayan, açılıp kapanabilen ve kapandığında dışarısı ile hava alışverişini engelleyen bir adet kapak yapıldı. Dikey yüzlerinden ikisine 0,5 cm çaplı toplam altı adet havalandırma deliği ayrıca bir adet 0,75 cm çaplı biyomas dumanı vermek için delik açıldı. 0,5 cm çaplı deliklerden biri pompa ile hava akımı sağlamak için kullanıldı.



Şekil-V: Cam kafesin görünümü

### **3.1.4. KULLANILAN SOLÜSYONLAR VE ÇÖZELTİLER**

1. Sodyum hidroksit
2. Asetik asit
3. Na-Dodesil sülfat
4. DTNB (5,5-dithiobis (2-nitrobenzoik asit))
5. Potasyum fosfat tamponu
6. Sodyum sitrat: %1
7. Hidroklorik asit (HCl)
8. Formolin
9. Tiobarbütirik asit (TBA)
10. Dinitrofenilhidrazin (DNP)
11. N-Butanol
12. Hematoksilen–Eosin boyası

### **3.2. YÖNTEM**

#### **3.2.1. TAVŞANLARIN BİYOMAS DUMANINA MARUZ BIRAKILMASI**

Tavşanların biyomasdumanına maruz kaldıkları Mays'in (57) çalışmasındakine benzer içerideki hayvanların dışarıdan izlenebildiği kafese (80x80x80 cm) bir pompa yardımı ile 78 ml/min akım hızında, 0,5 cm'lik deliklerden biri kullanılarak temiz hava verildi. Halk arasında tezek adı verilen ve büyük baş hayvan dışkısından elde edilen biyomas materyalin basit şekilde yanması ile oluşan duman temiz hava ventilasyonlu cam kafese 0,75 cm'lik delik kullanılarak manuel pompa ile verilerek tavşanlara inhale ettirildi (Şekil-VI). Cam kafes içine manuel pompa ile verilen tezek dumanının bileşimindeki gazların konsantrasyonları gaz analizatör cihazı (Testo 350 XL, Almanya) ile standardize edildi.



Şekil-VI: Tezek dumanı verilen pompa

### 3.2.2. İLACIN VERİLME YÖNTEMİ

**Grup I (Kontrol grubu):** Bu grup 30 gün boyunca günde 1 saat sadece temiz akımına maruz bırakıldı.

**Grup II :** 30 gün boyunca sadece NAC intraperitoneal (58) uygulandı (150 mg/kg). Biyomas dumanına maruz bırakılmadı.

**Grup III :** 30 gün boyunca günde 1 saat sadece biyomas dumanına maruz bırakıldı.

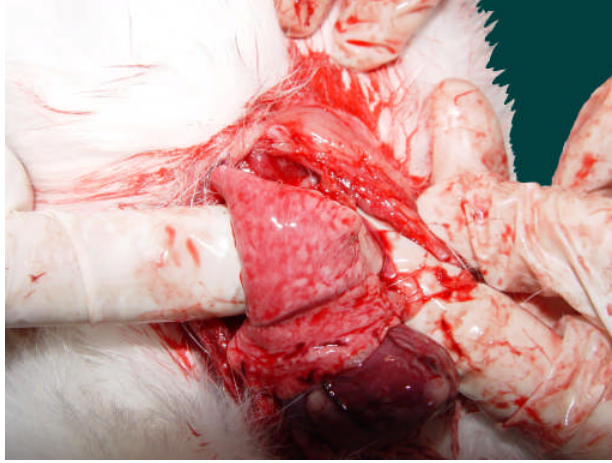
**Grup IV :** 30 gün boyunca günde 1 saat hem biyomas dumanına maruz bırakıldı hem de intraperitoneal NAC uygulandı (150 mg/kg).

### 3.2.3. TAVŞANLARIN SAKRİFİYE EDİLMESİ

Yeterli premedikasyondan sonra 30 gün sonunda tavşanlar sakrifiye edildi. Deneklere, 30 mg/kg dozda pentobarbitalin intraperitoneal injeksiyonu ile ötanazi uygulandı ve çalışmalar için gerekli 10 ml kan alındıktan sonra tavşanlar sakrifiye edildi. Hemen ardından göğüs kafesi açılarak akciğerlere ulaşıldı (Şekil-VII). Sonrasında akciğerler hızlı bir şekilde çıkarıldı (Şekil-VIII). Doku parçaları histolojik inceleme için %10 formol solüsyonu ile fiske edildi.



Şekil-VII: Göğüs kafesinin açılması.



Şekil-VIII: Akciğerlerin çıkarılması.

### 3.2.4. PATOLOJİK YÖNTEM

Hayvanlardan alınan akciğer dokuları ışık mikroskopik inceleme için %10'luk tamponlanmış formolinde tespit edildi. Işık mikroskopi için tespit edilen doku kesitleri parafine gömülerek bloklandı. Bu bloklardan alınan 4 µm'lik kesitlere rutin Hematoksilen–Eosin boyası uygulanarak hasar skorlaması ışık mikroskopik olarak yapıldı (Nicon THP117). Her bir örnek patolog tarafından hangi grup olduğu bilinmeden incelendi (59). Değerlendirme kriterleri; Örneklerde peribronşiyal inflamasyon, intraparenkimal infiltrasyon, intraparenkimal fibrozis, intraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis, intraparenkimal hemoraji, respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar ve bronşiyal lümende makrofajlar, nodüler agregatlar, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz

değişikliklerin dağılım ve yoğunluğuna bakıldı. Bu incelemede her bir değişikliğe semikantitatif olarak 0'dan 3'e kadar numara verildi. Bütün bu işlemlerden sonra; her bir kesitteki değişikliklerin derecesi toplam olarak ifade edildi. Bu derecelendirmeye göre; değişiklik yok (0), minimal (1+), düşük derecede (2+), orta derecede (3+), şiddetli (4+), ağır (5+) ve çok ağır (6+) kabul edildi.

### 3.2.5. BİYOKİMYASAL YÖNTEM

Kan örnekleri heparinize tüplere alındı. Plazma + 4 °C'de 10 dk süreyle 2500 devir hızındaki santrifüj ile ayrıldı. Bütün kimyasallar Sigma Chemical Co.'dan satın alındı (St. Lois, MO, USA).

**3.2.5.A. PLAZMA MDA DÜZEYLERİ:** Ohkawa ve arkadaşlarının tiobarbitürik asit metodu ile saptandı (60).

**Prezips:** TBA, MDA ile reaksiyona girdiğinde, MDA-TBA bileşimini oluşturur. MDA-TBA bileşiği asidik ortamda n-butanol ile ekstrakte edilir. Bu bileşiğin absorbanansı UV-1601 model spektrofotometrede (Shimadzu, Australia) 532 nm'de okunmaktadır.

#### **Reaktifler:**

Na-Dodesil sülfat	% 8,1
Asetik asit	% 20
TBA	% 0,8
n-Butanol	

**Prosedür:** 200 µl numune alındı. Numunelerin üzerine 100 µl Na-dodesil sülfat, 750 µl asetik asit, 750 µl TBA, 300 µl distile su ilave edildi. Cam tüplerin ağzı sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra 1 saat 90 °C kaynar su banyosunda tutuldu. 1 saat sonunda tüpler derhal soğuk su altına tutularak soğutuldu. Üzerlerine 500 µl distile su ve 2500 µl n-butanol ilave edildikten sonra vortekslendi. 10 dk 4000 devirde santrifüj edildi. Süpernatant alınarak 532 nm'de absorbanansı okundu. MDA standardı hazırlandı. Numunelere uygulanan işlem MDA standardına da uygulandı. Numunelerin MDA düzeyleri, elde edilen numune absorbanansları standart absorbanansı ile karşılaştırılarak hesaplandı.

**3.2.5.B. PLAZMA PROTEİN KARBONİLLERİ:** Levin ve arkadaşlarının protein karbonillerinin 2,4-dinitrofenilhidrazon derivelerinin spektrofotometrik kantitasyonuna dayanan modifiye bir teknik yardımı ile ölçüldü (61).

**Prensip:** DNP ile karbonil grupları reaksiyona girdiğinde renkli bir 2,4 dinitrofenilhidrazon bileşiği oluşturur. Oluşan hidrazon bileşiğinin absorbansı UV-1601 model spektrofotometrede (Shimadzu, Australia) 360 nm’de okunmaktadır.

**Reaktifler:**

DNP	10 mM
HCl	2 N
Trikarboksilik asit (TCA)	% 10, % 20
Sodyum hidroksit	1 M

**Prosedür:** Her numuneden 500 µl alındı. Numunelerin üzerine 500 µl % 20 TCA ilave edildi. 4000 devirde 15 saniye santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü. Pellet, 500 µl DNP ile karıştırılıp karanlıkta oda ısısında 1 saat bekletildi. Her 10 dakikada bir vortekslenerek pelletin DNP ile muamelesi sağlandı. 500 µl % 20 TCA ile karıştırıldıktan sonra 2–3 dakika oda ısısında bekletildi. 4000 devirde 5 saniye santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü. Bu işlem, % 10 TCA ile 3 kez tekrarlandı. Presipitat 2 ml sodyum hidroksit içinde 37 °C ‘de 30 dk bekletilerek çözüldü. Numune absorbansı sodyum hidroksit körüne karşı 360 nm’de UV-1601 model spektrofotometrede okundu.

**3.2.5.C. SH GRUPLARI:** SH gruplarının hepsi Elman reaktifi [5,5’-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB)] kullanılarak ölçüldü (62).

**Prensip:** Protein sülfidril grupları, DTNB tarafından indirgenir ve disülfid bağı oluşturarak bir kromofor açığa çıkartırlar (5-merkapt-2-nitrobenzoik asit). Oluşan kromoforun intensitesi 412 nm’de ölçülür.

**Reaktifler:** DTNB (5,5-dithiobis (2-nitrobenzoik asit)): 2 m M

Potasyum fosfat tamponu: 0,1 M (pH:7,4)

Sodyum sitrat: %1

**Prosedür:** 100 µl numune, 1500 µl fosfat tamponu ile karıştırıldı. 400 µl DTNB (sodyum sitrat içinde) ilave edildikten sonra 5 dakika 37 °C’de bekletildi. Numunelerin absorbansı 412 nm’de reaktif körüne karşı Shimadzu UV-1601 spektrofotometresinde okundu. Sonuçlar  $\epsilon_{\max}$ :13600 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> kullanılarak hesaplandı.

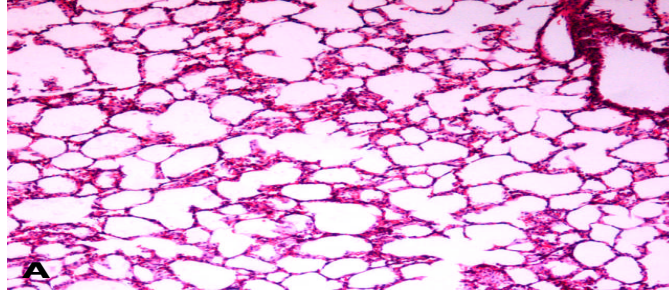
### **3.2.6. İSTATİSTİK YÖNTEMİ**

Statistical package for social sciences (SPSS) 10.00 istatistik paket programı kullanılarak sonuçlar değerlendirildi. Perivasküler inflamasyon, nodüler agregatlar, amfizem, bronkoalveolar hemoraji grupları homojen değildi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Diğerlerine ANOVA-Tukey testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi, gruplar arasında  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

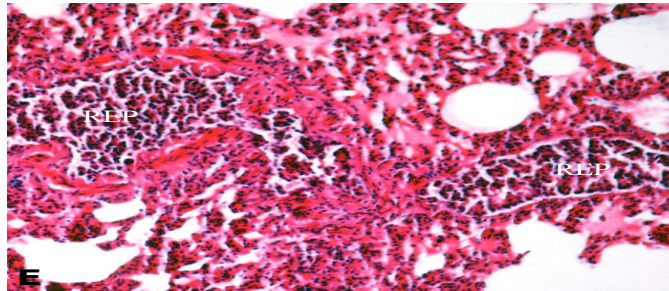
#### IV. BULGULAR

Kafes ortamında oksijen saturasyonu  $20,88 \pm 0,6$  olarak ölçüldü. Ayrıca karbon monoksit  $352 \pm 25,25$  ppm, nitrik oksit  $1 \pm 0$  ppm, hidrojen  $53 \pm 7,5$  ppm, ortam sıcaklığı  $22 \pm 0,42$  °C olarak ölçüldü.

Dokuların histopatolojik incelemesinde grup III (biyomas)'de respiratuar epitel proliferasyonu derecesi  $4.2 \pm 1.1$ , alveolar destrüksiyon derecesi  $2.2 \pm 0.5$ , amfizematöz değişikliklerin derecesi  $2.4 \pm 0.6$  olarak bulundu. Grup I (kontrol)'de ise respiratuar epitel proliferasyonu derecesi  $0.4 \pm 0.9$ , alveolar destrüksiyon derecesi  $0.4 \pm 0.6$  ve amfizematöz değişikliklerin derecesi  $0.4 \pm 0.6$  olarak bulundu. Şekil-IX'da kontrol grubunun, şekil-X'da respiratuar epitel proliferasyonunun histopatolojik görünümü görülmektedir. Histopatolojik değişiklikler açısından grupların özellikleri Tablo-II'de görülmektedir. Grup I ve III histopatolojik değişiklikler açısından karşılaştırıldığında, respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz değişiklikler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla  $p=0.008$ ,  $p=0.006$  ve  $p=0.007$ ).



Şekil-IX: Kontrol grubu. H/Ex100



Şekil-X: Respiratuar epitel proliferasyonu. H/E x200



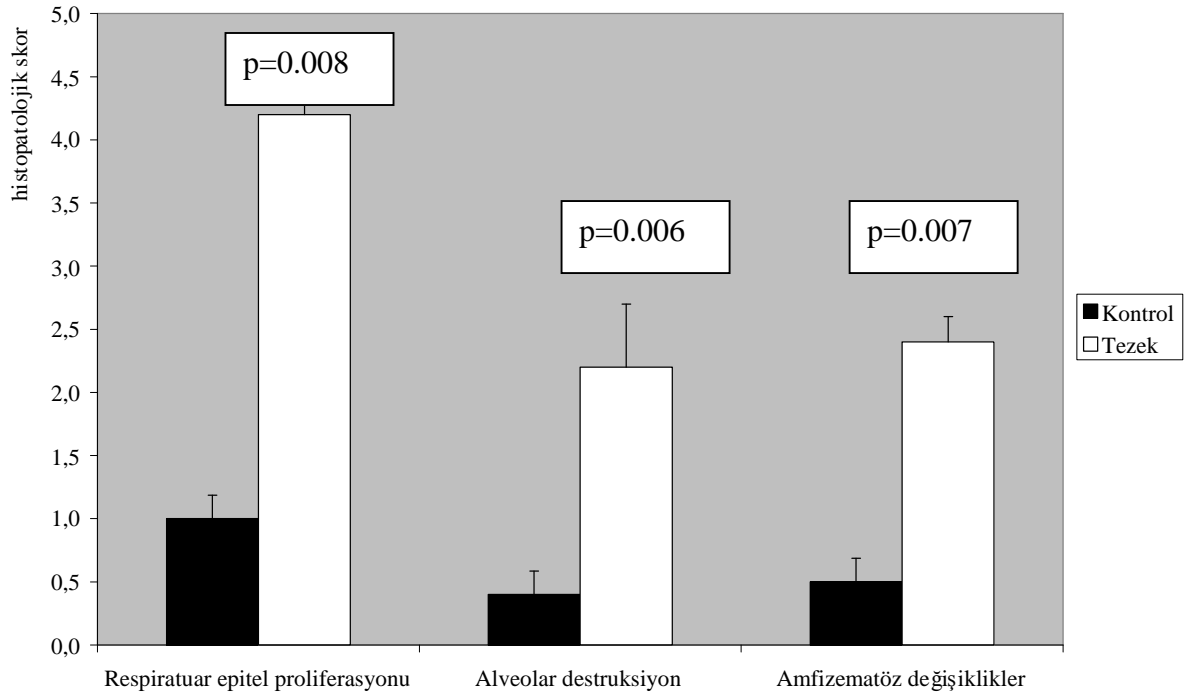
**Tablo-II:** Histopatolojik değişiklikler

	Kontrol	NAC	Tezek	NAC+tezek	p* değeri	p** değeri
Peribronşiyal inflamasyon	1.4±1.3	2.0±1.2	2.4±0.6	3.2±0.8	0.310	0.591
Perivasküler inflamasyon	0.0 ±0.0	0.6±1.3	0.0±0.0	0.0±0.0	1.000	1.000
İntraparenkimal inflamasyon	1.8±1.1	2.6±0.9	2.2±0.5	3.0±1.2	0.690	0.677
İntraparenkimal fibrozis	1.6±0.9	2.2±0.5	0.4±0.9	2.6±0.9	0.151	<b>0.017</b>
İntraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis	1.4±1.3	2.6±0.9	2.8±0.5	3.4±1.1	0.095	0.723
İntraparenkimal hemoraji	1.2±1.1	2.8±1.1	1.2±1.1	1.6±0.9	1000	0.931
Respiratuar epitel proliferasyonu	0.4±0.9	0.4±0.9	4.2±1.1	3.4±1.3	<b>0.008</b>	0.684
Nodüler agregatlar	0.0±0.0	0.4±0.9	0.0±0.0	0.0±0.0	1000	1.000
Alveolar ve bronşiyal lümende makrofajlar	1.6±0.9	0.4±0.9	2.6±0.9	2.6±0.6	0.222	1.000
Tip2 pnömositler	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.000	1.000
Alveolar destrüksiyon	0.4±0.6	2.0±1.2	2.2±0.5	2.2±0.5	<b>0.006</b>	1.000
Amfizematöz değişiklikler	0.4±0.6	1.6±0.9	2.4±0.6	2.2±0.5	<b>0.007</b>	0.973
Bronkoalveolar hemoraji	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.000	1.000

\* Kontrol ve tezek dumanına maruz kalan gruplarının karşılaştırılması

\*\* Tezek dumanına maruz kalan grup ile NAC ve tezek dumanı alan grupların karşılaştırılması

**Şekil-XI:** Kontrol ve tezek grubunda respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destruksiyon ve amfizematöz değişiklikler



Kontrol grubunda alveolar ve bronşiyal lümende makrofaj varlığının derecesi  $1.6 \pm 0.9$ , intraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis derecesi  $1.4 \pm 1.3$ , intraparenkimal inflamasyon derecesi  $1.8 \pm 1.1$ , peribronşiyal inflamasyon derecesi  $1.4 \pm 1.3$  bulundu. Sadece tezek dumanına maruz bırakılan grupta ise alveolar ve bronşiyal lümende makrofaj varlığının derecesi  $2.6 \pm 0.9$ , intraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis derecesi  $2.8 \pm 0.5$ , intraparenkimal inflamasyon derecesi  $2.2 \pm 0.5$ , peribronşiyal inflamasyon derecesi  $2.4 \pm 0.6$  olarak bulundu. İki grup karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte alveolar ve bronşiyal lümende makrofaj varlığı derecesi, intraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis derecesi, intraparenkimal inflamasyon derecesi, peribronşiyal inflamasyon derecesi tezek grubunda daha yüksekti.

Kontrol grubu olan grup I ile tezek dumanına maruz kalan grup III karşılaştırıldığında, perivasküler inflamasyon, intraparenkimal fibrozis, intraparenkimal hemoraji, nodüler agregatlar, tip 2 pnömositler, bronkoalveolar

hemoraji skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sadece tezek dumanına maruz bırakılan grup III ile NAC ve tezek dumanı alan grup-IV histopatolojik açıdan karşılaştırıldığında intraparenkimal fibrozis ( $p=0.017$ ) dışında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Oksidan/antioksidan dengeyi incelemek için yapılan biyokimyasal testlerde SH grupları (Tiyoller) kontrol grubu olan grup I'de  $469.2\pm31.7$   $\mu\text{mol/L}$ , tezek dumanına maruz bırakılan grup III'de ise  $304.2\pm35.4$   $\mu\text{mol/L}$  olarak bulunmuştur. İki grup karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı olarak bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Gruplar arası oksidan/antioksidan markırlar Tablo-III'de, kontrol ve tezek grubundaki SH düzeyleri ise Şekil-XII'de gösterilmiştir.

Yapılan biyokimyasal incelemede kontrol grubu olan grup I'de lipid peroksidasyon ürünü MDA  $1.8\pm0.3$   $\mu\text{mol/L}$ , Karbonil  $76.4\pm11.2$   $\mu\text{mol/L}$  olarak saptanmıştır. Tezek dumanına maruz bırakılan grup III'de MDA  $2.3\pm0.5$   $\mu\text{mol/L}$ , Karbonil  $81.9\pm11.4$   $\mu\text{mol/L}$  olarak saptanmıştır. Grup I ile grup III karşılaştırıldığında oksidan stresin göstergesi olan MDA ve Karbonil'de artış saptanmakla birlikte aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Sadece tezek dumanına maruz bırakılan grup III ile NAC ve tezek dumanı alan grup-IV oksidan/antioksidan dengeyi incelemek için yapılan biyokimyasal testler açısından karşılaştırıldığında, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo-III:** Gruplar arası oksidan/antioksidan markırlar

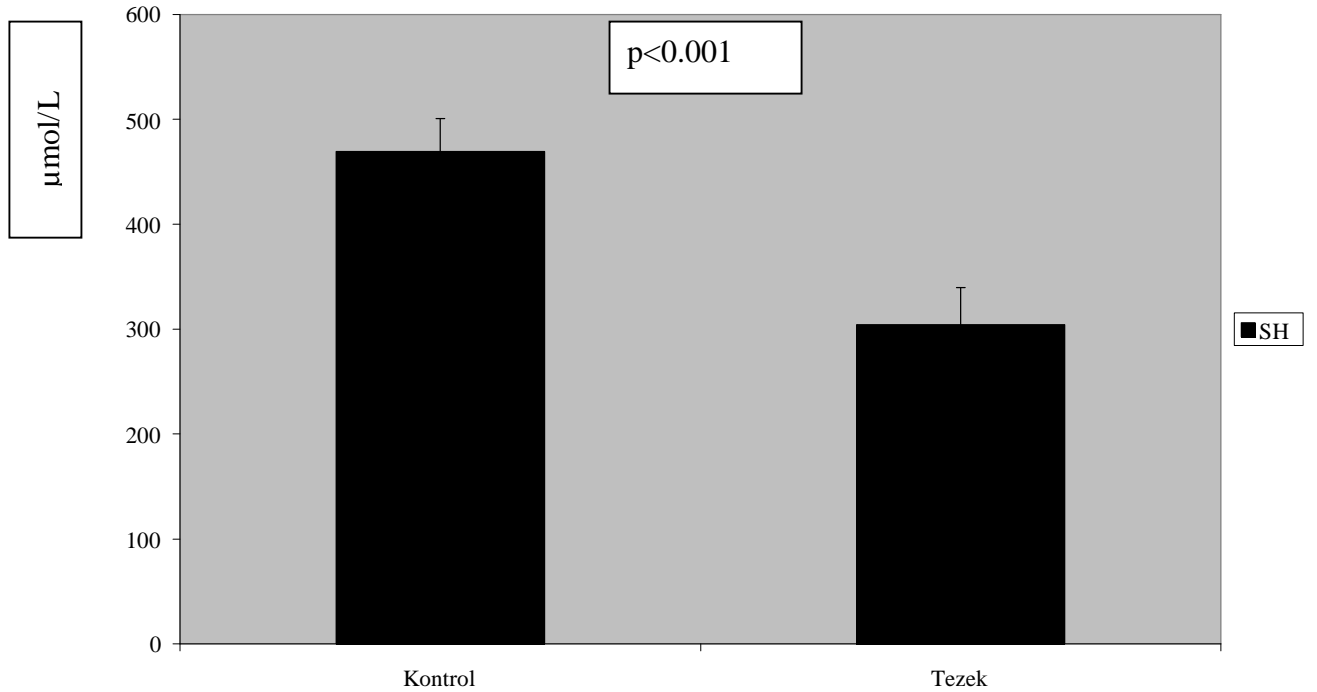
	Kontrol	NAC	Tezek	NAC + tezek	p*değeri	p**değeri
SH ( $\mu\text{mol/L}$ )	469.2 $\pm$ 31.7	240.2 $\pm$ 68.0	304.2 $\pm$ 35.4	266.0 $\pm$ 38.3	<b>0.000</b>	0.563
Karbonil ( $\mu\text{mol/L}$ )	76.4 $\pm$ 11.2	75.3 $\pm$ 5.7	81.9 $\pm$ 11.4	77.0 $\pm$ 11.0	0.825	0.869

SH:Sülhidril grubu (tiyol)

\* Kontrol ve tezek dumanına maruz kalan gruplarının karşılaştırılması

\*\* Tezek dumanına maruz kalan grup ile NAC+tezek dumanı alan gruplarının karşılaştırılması

**Şekil-XII:** Kontrol ve tezek grubunda SH düzeyleri



SH:Sülhidril grubu (tiyol)

## V. TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde biyomas yakıtların yerini büyük oranda petrol ürünleri ve elektrik olsa da gelişmekte olan ülkelerde tarımla uğraşan popülasyonun büyük kısmı hala biyomas yakıt kullanmaktadır. Çevreye daha az zarar veren yakıtların kullanımındaki en büyük engel ise yoksulluktur. Ev içinde yeterli havalandırma koşulları olmayan ortamlarda biyomas kullanıldığında ev içi kirlilik oluşmakta, bunun sonucu olarak da çocukluk çağı akut solunum yolu infeksiyonları, KOAH ve akciğer kanseri riski artmaktadır (8,63). Biyomas dumanının içindeki pek çok madde insan sağlığına zarar verir. Bunlardan en önemlileri; karbonmonoksit, nitrik oksitler, sülfür oksitler, formaldehit, polisiklik organik maddeler, benzopiren gibi karsinojenler ve 10 mikrondan küçük partiküllerdir (64). Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansının 8 saatlik ortalama karbonmonoksit seviyesi standardı 9 ppm'dir (64). İngiltere verilerine göre ölçülen karbonmonoksit için izin verilen maruz kalma seviyesi CO=50 ppm (TWA), 300 ppm (STEL)'dir (1). Gelişmekte olan ülkelerde biyomas yakıt kullanımı sonucu ev içi 24 saatlik ortalama karbonmonoksit düzeyi 2-50 ppm arasında iken Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı'nın raporuna göre yemek pişirme sırasında bu oran 10-500 ppm arasında bulunmuştur (64). Türkiye'de yapılan bir çalışmada kapı kapalıyken oda ortasında CO=270 ppm, kapı yarı açıkken CO=25 ppm seviyesinde bulunmuştur (1).

Çalışmamızda cam kafes içinde karbon monoksit  $352 \pm 25,25$  ppm olarak ölçülmüştür. Bu sonuç yukarıda bahsedilen Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'nın, İngiltere verilerinin, Türkiye'deki çalışmaların bildirdiği sonuçlarla uyumludur.

İç ortam kirliliği kadar dumanı soluyarak geçen zaman da önemlidir. Gelişmekte olan ülkelerde kadınlar ve bunların yanlarındaki çocuklar yemek pişirme nedeniyle günde ortalama 3-7 saat süresince yıllarca, özellikle kış aylarında ve soğuk bölgelerde ise 24 saate yakın bir süre olmak üzere her nefes alışlarında bu dumanı solurlar (65). Büyük miktarda biyomas dumanına maruz kalmanın, sigara dumanına maruz kalma ile ortaya çıkan riske eşit derecede sağlık sorunu oluşturduğu belirtilmektedir (3,4). Bu sağlık sorunlarının dağılımı solunum

yetmezliğinden göz hastalıklarına kadar değişmektedir. Biyomas yanarken ortaya çıkan dumandaki partikülleri ve CO'yu ölçerek bulunan miktar ile gözde kaşınma, sulanma arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak göz belirtilerinin iç ortam hava kirliliğinin önemli sağlık sorunu belirteci olduğu kabul edilmiştir (1). Gelişmekte olan ülkelerde; KOAH büyük oranda sigara içimine bağlı olarak görülmektedir. Bununla birlikte KOAH bölgesel olarak seyrek sigara içilen yerlerde de oluşabilmektedir. Örneğin Yeni Gine'de yapılan bir çalışmada; ev içi biyomas dumanı kirliliği ile kronik akciğer hastalıkları arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yetişkin ve 45 yaş üstü popülasyonda; solunumsal semptom ve hastalık prevalansı yüksek bulunmuştur. Ayrıca erkeklerin %20'sinde kadınların ise %10'unda zorlu ekspiratuar volüm 1. saniye zorlu vital kapasite (FEV<sub>1</sub>/FVC) oranı %60'ın altında bulunmuştur. Klinik olarak KOAH olan birkaç hastada lokal akciğer fibrozisi ve bronşektazi görülmüş, bu da ev içi kirlilik ile buna bağlı gelişen ve tekrar eden infeksiyonlara bağlanmıştır (8). Yapılan pek çok çalışmada, biyomas dumanına maruz kalmakla kronik bronşit ve KOAH arasındaki ilişki gösterilmiştir (1,8,18,66). Nepal'de kronik bronşit prevalansı kadın ve erkeklerde benzer bulunmuştur (%18). Ayrıca bu sonucun sadece sigara içimine bağlamaması gerektiği bildirilmiştir (16). Çok az kadının sigara içtiği Pakistan'da kronik bronşit prevalansı kadınlarda daha fazla bulunmuştur (65). Biyomas dumanı inhalasyonunun insanlarda sıklıkla hava yolu obstrüksiyonu yaptığı hastane kaynaklı vaka-kontrol çalışmaları ve bazı toplum çalışmaları ile bildirilmiştir (67,68). Meksiko şehrinde yapılan bir çalışmada biyomas kullanımı ile FEV<sub>1</sub>/FVC'de % 4'lük bir azalma olduğu bildirilmiştir (66). Hindistan'da yapılan bir çalışmada da biyomas kullananlarda FVC azalması gaz, gaz yağı ve karışık yakıt kullananlardan daha fazla bulunmuştur (8). Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada ise yemek pişirmek için kullanılan yakıtlar ile akciğer fonksiyonları karşılaştırılmış ve yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak akciğer fonksiyonları açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç da muhtemel biyomas kullanan grupta mutfakların iyi havalandırmaya sahip olmasına bağlanmıştır (69). Pandey (70) maruziyet süresi arttıkça FEV<sub>1</sub> ve FVC'nin daha fazla düştüğünü bildirmiştir. Sigara içen ve biyomas dumanına

maruz kalanların %15'den azında kronik bronşit ve KOAH geliştiği bunun sebebinin de maruziyet süresi ve düzeyi ile ilgili olabileceği belirtilmiştir.

Bazı çalışmalarda ortamdaki yüksek partikül düzeyi partikül ölçümleri ile gösterilmiştir (8,66). Yapılan çalışmalarda; yıl boyunca biyomas yakılan mutfaklarda partikül ölçümleri oldukça yüksek bulunmuştur (18,28,66). Bu çalışmalardan birinde biriken partikül zamana bağlı olarak değerlendirilmiştir (18). Norboo (8) mutfaktaki kişilerin ekshale ettiği karbonmonoksit düzeyini göstermiştir. Kronik bronşit genellikle anket soruları ile değerlendirilebilirken KOAH veya hava yolu obstrüksiyonu spirometre ile gösterilebilir. Fakat pek çok çalışmada bu konuda yeterli hassasiyet gösterilmemektedir. Bir çalışmada biyomas dumanı maruziyeti sonucu kronik bronşit gelişmiş 29 hastanın 20'sinde elektrokardiyografik veya PA akciğer grafisi ile pulmoner hipertansiyon gösterilmiştir (71). Biyomas dumanı maruziyeti sonucu hastaneye başvuran hastaların akciğer fonksiyonları, sigara içenlerle benzer özellikler gösterebilir ve normalden şiddetli hava akımı obstrüksiyonuna kadar değişen değerler elde edilebilir. Bazı hastalar amfizemin klasik özelliklerini taşımakla birlikte, restriktif patolojilere de rastlanmıştır (71). Meksiko şehrinde yapılan çalışmada biyomas dumanı inhale eden ve sigara içen kronik bronşitli gruplar karşılaştırıldığında iki grup arasında akciğer fonksiyonları, klinik semptomlar ve radyografik görünümler açısından fark bulunmamıştır (71). Sigara içmeyen kor pulmonalesi olan kadınlarda yapılan nekropsi çalışmalarında bunların çoğunda biyomas maruziyeti olduğu gibi bunların tamamına yakınında amfizem bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmaların pek çoğunda maruziyetin akut veya kronik olması, maruziyetin süresi ile yoğunluğunun da önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Örneğin akut yoğun odun dumanı (biyomas) maruziyeti, orman yangınlarında olduğu gibi hızlı bir şekilde ölüme sebep olabilir. Yoğun biyomas dumanı inhalasyonu asfiksi ve karbonmonoksit intoksikasyonu ile birlikte şiddetli respiratuar epitel hasarı ile pulmoner ödem oluşturabilir. Daha düşük derecede odun dumanına maruz bırakılan Gine domuzlarında bronkokonstrüksiyon görülmüştür. Günde 3 saat odun dumanına maruz bırakılan Gine domuzlarında 3 ay sonra hafif amfizem gelişmiştir (72). Günde 75 dakika, 15 gün boyunca aralıklı olarak odun dumanına

maruz bırakılan ratlarda 15 gün sonra bronşiyolit ve hafif amfizem gelişmiş fakat 30 ve 45 gün sonra bu bulguların şiddetlendiği görülmüştür (8).

Çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda; tezek dumanı maruziyetinin akciğerlerde respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Yapılan pek çok çalışmada buna benzer sonuçlar bulunmuştur. Güney Afrika ve Hindistan'da biyomas dumanı maruziyeti olan akciğer biyopsisi yapılmış vakalardaki histopatolojik bulgular; septaların içinde, perivasküler alanlarda, terminal bronşiyallerin etrafında, karbon pigmenti toplanması (basit antrakozis), içinde karbon pigmenti bulunan makrofaj kümeleri ve fokal amfizem alanları, silikotik nodüller, bronşiyolit ve fibrozistir (1). Bu nedenle yukarıda anlatılan çalışmalarla bizim çalışmamız uygunluk göstermektedir.

Bazı çalışmalarda biyomas maruziyetine bağlı olarak akciğer fibrozisi, progresif masif fibrozis, pnömokonyoz benzeri akciğer hastalığı tarif edilmiştir (1) fakat pek çok vakada bronşiyal hastalık daha baskın görünümündedir. Biyomas dumanının hangi mekanizma ile amfizem ve havayolu hastalığına neden olduğu tam olarak bilinememektedir. Tütün ve biyomas dumanı maruziyeti sonucu inflamatuvar hücrelerden salınan okside radikallerin oluşturduğu oksidatif stres suçlanmaktadır (73,74,3). Biyomas yanmasından meydana gelen en önemli akciğer hastalıklarının kronik bronşit, KOAH ve bronş aşırı duyarlılığı olduğu anlaşılmaktadır. Kronik bronşitli ve astımlı hastaların bir kısmında ileri yıllarda KOAH gelişecektir. Bu hastalıkların morbidite ve mortalitesi yüksek olduğu için, erken yaşta insan kaybının yanında tedavi yönünden büyük yük getirmektedir. En önemli küresel sağlık sorunlarından olan KOAH'ın 2020 yılında Amerika Birleşik devletlerin'de ölümcül hastalıklar sıralamasında üçüncü sıraya yükseleceği tahmin edilmektedir. Yapılan histopatolojik ve fizyolojik incelemelerde KOAH'daki hava yolu obstrüksiyonunun küçük hava yollarından kaynaklandığı gösterilmiştir (1).

Normal metabolizma sırasında açığa çıkan reaktif metabolitler büyük oranda antioksidan savunma komponentlerince ortadan kaldırılır (3,6,53). Normal hücre metabolizması esnasında akciğerler başlıca süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen metabolitlerine bağlı olarak bazal oksidan madde yüküne maruz kalırlar. İnflamasyon, hiperoksi, çevreden inhalasyonla alınan ozon,



nitrojen dioksit ve sigara dumanında bulunan fazla miktardaki oksidanın inhalasyonu gibi durumlarda söz konusu normal oksidan yük artmaktadır. Bunun da hem akut hem de kronik akciğer hasarına yol açabileceği öngörülmektedir . Tezeği de içine alan organik yakıt ürünlerinin zararlı etkileri yandıkları zaman açığa çıkan aldehid, fenol ve toluen gibi önemli hidrokarbonlara bağlı olarak görülür (6,53). Biyomas dumanındaki kirletici maddelerin pek çoğunun insan sağlığına zararlı oldukları bilinmekte ya da suçlanmaktadır (8). Hayvan artıklarının tam yanmaması ile CO, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> ve SO<sub>2</sub> gibi solunumsal iritanların oluşabileceği belirtilmiştir. Bu tür dumanlara maruziyet akciğer hasarına ve daha çok yoksul ve yeterli tıbbi imkanı olmayan kişilerde sık solunumsal enfeksiyona neden olabilir. Sigara dumanı, akciğerlere alınan başlıca yanmış organik materyaldir. Sigara dumanı oksidatif hasarı başlatan veya sürdüren birçok oksidan ve radikalleri içeren çok sayıda bileşik içerir. Ayrıca sigara içimini takiben aktive olmuş veya artmış fagositlerin oluşturduğu reaktif oksijen ürünleri de oksidatif hasara yol açabilir (15). Sigara dumanının doymamış yağ asitlerinde oksidasyona yol açtığı, hücre ve doku yıkımının çoğunun başlatıcısı olan bu reaksiyonlar ile lipid peroksidasyonu ürünlerinin (MDA) arttığı ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda fazla miktarda biyomas dumanına maruz kalmanın, sigara dumanı maruziyeti ile oluşan riske eşit derecede sağlık sorunu oluşturduğu bildirilmiştir (9,10). Gani (6) biyomas maruziyeti olan kişilerde herhangi bir maruziyeti olmayan kişilere göre lipid peroksidasyon aktivitesinin arttığını, antioksidan aktivitenin ise azaldığını ancak sigara kullananlarda bu etkilenmelerin daha da fazla olduğunu saptamıştır.

Çalışmamızda SH grupları, tezek dumanına maruz bırakılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı derecede azalmış olarak bulunmuştur. Bu bulgu tezek dumanına maruz kalan grupta oksidatif strese işaret etmektedir. Oksidatif stresin göstergesi olan MDA ve karbonil düzeylerinde sadece biyomas dumanına maruz bırakılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte artma olduğu görülmüştür. Bu da biyomas dumanına maruz kalmanın oksidatif strese yol açtığı görüşünü desteklemektedir.

Normal metabolik reaksiyonların oluşumunda, serbest radikallerin endojen olarak ortaya çıkmaları nedeniyle, tüm aerobik organizmalar serbest radikallerin doku hasarından korunmak için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Antioksidanlar, okside edilebilir substrata oranla çok düşük konsantrasyonlarda bile, substratın oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen maddelerdir (3,4). Fizyolojik koşullarda hücreler GPx, SOD ve KAT gibi antioksidan enzimler tarafından oksidatif hasardan korunurlar ve serbest radikalleri ortadan kaldırırlar. Şekeroğlu (74) yaptığı çalışmada en az 5 yıldır düzenli sigara içen bireylerde içmeyenlere göre antioksidan aktiviteden sorumlu enzimlerden eritrosit SOD düzeyinin önemli oranda, GPx düzeyinin ise istatistiksel önemde olmamakla birlikte kontrollere göre düşük olduğunu tespit etmiştir. GSH antioksidan defansta çok önemli role sahiptir. GSH sentezinde bir substrat olarak görev alan ve antioksidan bir ajan olan NAC'ın de oksidatif stres göstergelerini azalttığı bildirilmiştir. NAC'ın antioksidan fonksiyonu moleküler yapısı ile açıklanabilir. SH grupları nedeniyle NAC,  $O_2^{-1}$  ve  $H_2O_2$  gibi oksidanlar ile direkt olarak etkileşir. Bu reaksiyonda iki NAC molekülü bir disülfid bağına oksitler. Böylece  $O_2^{-1}$  içeriği düşüş gösterir. NAC, tiyol grubu içeren diğerleri gibi (ör, GSH) bir -OH radikal yakalayıcısıdır (75). NAC'ın antioksidan etkisine ek olarak hücrel GSH sentezinde rol aldığını, hayvan ve hücre kültürlerinde oksidan hasarı önlediği veya azalttığını gösteren pek çok çalışma vardır.  $10^{-5}$  M üstünde NAC alınımı intrasellüler GSH seviyesinde yaklaşık olarak 10 kat artış oluşturur (76). Sığır pulmoner arter epitel hücreleri ve tip 2 epitel hücreleri sisteni sistinden daha iyi transport edebilirler (77). Bu nedenle hücrel GSH sentezinde ana substrat sistein gibi görünmektedir. Tartışılan ek mekanizmalara rağmen hücrel GSH prekürsörleri için anahtar mekanizma NAC'ın N-deasetilasyonu gibi görünmektedir. Wagner (78) 12 köpek üzerinde yaptığı araştırmada oksijen toksisitesine karşı NAC'ın koruyucu etkisine bakmış ve eş zamanlı olarak NAC alanlarda pulmoner vasküler resistansda düşme, alveolar ve interstisyel ödemde azalma, anormal ventilasyon-perfüzyon gelişiminde gecikme görülmüştür. Endotoksin maruz bırakılan ve NAC tedavisi uygulanan ratlarda ARDS benzeri yapısal akciğer hasarında iyileştirici etkisi ile bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında tromboksan  $B_2$  ve 6-keto-PGF $1\alpha'$ da düşüş tespit edilmiştir (79).

Araştırmacılara göre NAC'ın bu etkisi özellikle GSH prekürsörü olmasına bağlıdır. NAC pulmoner oksijen toksisitesi kadar iskemi ve reperfüzyon hasarında da koruyucudur. 54 saat süreyle %100 oksijen solutulan köpeklerde çeşitli fizyolojik ölçümlerin değerlendirilmesinde NAC alan grupta düzelme olduğu bulunmuştur (78). İzole tavşan kalplerinde deneysel olarak oluşturulan iskemi sonrası sadece perfüzyon sırasında NAC verilmiş fakat hücresel GSH düzeyinde değişiklik olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte koroner iskemiden 60 dakika önce verildiği zaman doku GSH düzeyi %40 artmış olarak bulunmuştur (80). NAC'ın akciğerdeki antioksidan fonksiyonu için en önemli olay NAC veya metabolitlerinin konsantrasyonunun akciğer interstisyumu, bronkoepitelyal hücreler ve/veya epitelyal bileşkede yeterli düzeye ulaşmasıdır. Solunum yolu hastalığı olan hastalarda 100 mg oral NAC alımı sonrası plazma ile akciğer dokusu ve bronşiyal sekresyonlardaki toplam radyoaktivite 5 saat sonra ölçülerek karşılaştırılmış (81). Bronşiyal sekresyonlarda sadece küçük miktarlarda radyoaktivite saptanmıştır. Sağlıklı gönüllülere 2 hafta süre ile 200 mg NAC verilmiş ve sonrasında BAL sıvısında ne NAC ne de metabolitleri saptanamamıştır (82). KOAH hastalarına günlük 600-1800 mg NAC oral olarak verilmiş akciğer dokusu ve BAL sıvısında NAC, sistein ve GSH düzeyinde çok az bir artış saptanmıştır (83). Bununla birlikte NAC akciğer hastalıklarında oksidan-antioksidan dengeyi ayarlamak için sıklıkla kullanılmaktadır. Diğer pek çok hastalığa rağmen akciğer hastalıklarında NAC ile ilgili çalışmaların büyük oranda hedefini ARDS, IPF ve KOAH'lı hastalar oluşturur. ARDS; multifaktoriyel orijinlidir ve gelişiminde polimorfonükleer lökosit aktivasyonu ile güçlü oksidatif stres çok önemlidir. Eş zamanlı glutatyon aracılı antioksidan koruma bu hastaların alveolar sıvılarında düşüktür. Yüksek basınçlarda mekanik ventilasyon ROM'nin daha fazla salınmasına neden olur. Oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge, ARDS'li 30 hastaya yüksek doz NAC verilerek incelenmiştir. 150 mg/kg başlangıç dozunu takiben 4 saatte bir 24 mg/kg verilmiş ve başlangıçta düşük olan plazma ve eritrosit GSH seviyesi daha sonra artmış olarak bulunmuştur (55). Ek olarak vasküler rezistans, oksijen dağılımı, oksijen tüketimi ve akciğer radyografik ödeminde düzelmeler elde edilmiştir. Başka bir çalışma bu sonucu plasebo kontrollü bir çalışma ile desteklemiştir. NAC'a cevap veren grupta

hastaların %65'inin septik şokta olduğu ve başlangıçta 15. dk'da 150 mg/kg ve ardından 12,5 mg/kg dozunda NAC aldığı ve daha iyi hayatta kalma oranlarına kavuştukları görülmüştür. 40 mg/kg/gün intravenöz NAC ile yapılan bir çalışmada sistemik oksijenizasyonu artırarak iyileşme sağlamıştır (55). Ayrıca hafif ve orta derecede akut akciğer hasarı ile başvuran hastalarda mekanik ventilatör desteği ihtiyacının azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte ARDS'nin gelişimi ve hastaların sağ kalımı bu tedavi ile anlamlı derecede azaltılamamıştır. NAC alan grup için bir aylık mortalite oranı %22, plasebo grubunda ise %35 bulunmuştur (55). IPF; alveollerin inflamasyonu, ROM'lerinin aşırı salınımı ve BAL sıvısında subnormal GSH seviyesi ile karakterizedir. Aerosol olarak direkt glutatyon verilmesi veya IV olarak NAC verilmesi ile BAL sıvısında glutatyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Biyopsi ile kanıtlanmış IPF'si olan ve sigara içmeyen 17 hastada 3x600 mg/gün 5 gün süre ile NAC verildiğinde BAL sıvısı total GSH seviyesinde anlamlı düzeyde artış saptanmıştır. Ayrıca IPF'i olan hastalara farklı konsantrasyonlarda IV. 1,8 gr NAC uygulandığında BAL sıvısındaki total glutatyon seviyelerini anlamlı artırdığı görülmüştür. Daha yüksek NAC dozlarında ise (4,8 gr) BAL sıvısındaki glutatyon seviyesinde daha fazla artış olmamıştır (84). Total glutatyonun daha yüksek seviyeleri redükte glutatyona (GSH) bağlıdır. Fakat bu sonuçlar tedavinin klinik etkinliğini göstermemektedir. Çünkü bu çalışmalarda sadece biyokimyasal değişiklikler belirtilmiştir. Son zamanlarda akciğer kanseri ve KOAH gibi pek çok hastalığın patogenezinde oksidan stres ve oksidan/antioksidan dengenin bozulmuş olması suçlanmaktadır. Değişik çalışmalarda uzun süreli NAC kullanımının ekshalasyon havasında hidrojen peroksit gibi oksidatif stres göstergelerini azalttığı bildirilmiştir. Bir çalışmada, doğum sonrası 25 günlük ratlara 1 ay süresince içme suyuyla birlikte ginseng ekstresi ve NAC verilmiş. Takiben ratları 1 ay süreyle günde 1 saat sigara dumanına maruz bırakmışlar ve sonuç olarak sigara dumanının akciğerlerde antioksidan enzimleri artırdığı fakat antioksidan enzimlerin artışının akciğerleri oksidatif hasardan korumada yetersiz kaldığı, diyetle antioksidan ilave edilmesinin serbest radikal aracılı akciğer hasarından korunmada etkili olabildiği yorumunu yapmışlardır (84). KOAH hastalığında NAC kullanılmasına rağmen GSH eksikliği görülse de, NAC KOAH tedavisinde 2 dekattan fazla süredir

kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda faydalı etkisi gösterilmiş fakat pekçok çalışma sonuçları bu yönde olmamıştır. Yapılan bir çalışmada bir gruba 5 gün 600 mg/gün NAC diğerine 3 misli dozda NAC verilmiş ve tedavi sonrasında plazma sistin ve GSH seviyelerindeki artış sadece yüksek dozda tedavi edilen grupta gözlenmiştir. Ayrıca ne GSH ne de sistin seviyesi BAL sıvısında artmamıştır. Bu sonuçlar negatif feed back inhibisyon hipotezini desteklemektedir. Glukoz 6 fosfat dehidrojenazın herediter eksikliği olan hastalarda NAC tedavisi başarılı olmuştur. Bu hastalarda NAC tedavisi sadece glukoz 6 fosfat dehidrojenaz aktivitesini artırmakla kalmayıp etkili lipid peroksidasyonu azalması ve oksidatif strese yol açan asetil fenil hidrazin ile inhibe edilen eritrositleri daha dirençli hale getirmiştir. Bununla birlikte bu sonuçlar NAC tedavisinin klinik etkinliğini yansıtmamaktadır ve klinik etkinliğin geniş çalışmalarla gösterilmesi gerekmektedir (55).

Çalışmamızda Grup II ve IV'deki deneklere 30 gün boyunca 150 mg/kg'dan intraperitoneal olarak NAC verildi. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında histopatolojik değişiklikler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuç NAC'ın tezek dumanının oluşturduğu histopatolojik değişiklikler açısından bu değişiklikleri önleyici veya düzeltici etkisi olmadığı yönünde yorumlanmıştır. Çalışmamızdaki tüm gruplar oksidan/antioksidan dengelyi incelemek için yapılan biyokimyasal testlerle kanda SH grupları, karbonil grupları ve MDA bakılarak incelendi. Tezek dumanına maruz bırakılan grupta plazmanın önemli bir antioksidan göstergesi olan SH gruplarının düzeyi oksidatif stres lehine istatistiksel anlamlılık olacak şekilde düşük saptandı. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında karbonil ve MDA açısından istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı. Sadece tezek dumanına maruz kalan grup III ile NAC ve tezek dumanına maruz kalan grup IV karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı. Tezek dumanına maruz bırakılan grupta lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA, protein oksidasyonunun göstergesi olan karbonil gruplarının düzeyi artmış olarak bulunmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı görülmüştür. Çalışmamızda süre 30 gündür. Bu süre oksidan/antioksidan dengelyi aşacak kadar yeterli süre olmayabilir. Bu sürede vücut oksidan/antioksidan dengelyi kurmuş olabilir.

Çalışmamızda MDA istatistiksel anlamlılık oluşturacak kadar artmamıştır. MDA'da istatistiksel anlamlılık oluşturacak kadar artış olmaması da süreye bağlı olabilir. Belki daha uzun bir sürede oluşan serbest radikalleri dengeleyecek antioksidan aktivite yeterli olmayabilir. Plazmanın önemli bir antioksidan göstergesi olan SH gruplarının radikal yakalayıcı özellikleri bulunmaktadır. SH grupları ortaya çıkabilecek radikalleri yakalamış olabileceğinden protein ve lipid yapılarda hasar oluşmamış olabilir. Bunun nedeni vücut antioksidan kapasitesinin yeterli gelmiş olması olabilir. NAC + tezek dumanı alan grupta oksidatif stres göstergelerinde tezek grubuna göre azalma saptanmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı görülmüştür. Belki de yukarıda anlatıldığı gibi vücudun antioksidan kapasitesi yeterli olup oksidan hasar oluşmadığı için NAC'ın yararlı etkisini göremedik.

## VI. SONUÇ

1) Yapılan histopatolojik incelemede sadece tezek dumanına maruz kalan grup III'de respiratuar epitel proliferasyonu derecesi, alveolar destrüksiyon derecesi ve amfizematöz değişikliklerin derecesi kontrol grubu olan grup I ile karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç grup III'de grup I'e göre respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz değişiklikler açısından daha fazla etkilenme olduğunu göstermektedir.

2) Histopatolojik olarak; kontrol grubu olan grup I ile sadece tezek dumanına maruz kalan grup III karşılaştırıldığında, grup III'de alveolar ve bronşiyal lümende makrofaj varlığının derecesi, intraparenkimal vasküler konjesyon ve trombozis derecesi, intraparenkimal inflamasyon derecesi, peribronşiyal inflamasyon derecesi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte tezek grubunda daha yüksekti. Bu sonuç grup III'de grup I'e göre bu değişiklikler açısından istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha fazla etkilenme olduğunu göstermektedir.

3) Kontrol grubu olan grup I ile tezek dumanına maruz kalan grup III karşılaştırıldığında, perivasküler inflamasyon, intraparenkimal fibrozis, intraparenkimal hemoraji, nodüler agregatlar, tip 2 pnömositler, bronkoalveolar hemoraji skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

4) Yapılan biyokimyasal incelemede kontrol grubu olan grup I ile tezek dumanına maruz bırakılan grup III karşılaştırıldığında SH grupları düzeyi arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı olarak bulunmuştur. Bu sonuç tezek dumanının neden olduğu oksidatif stresi göstermektedir.

5) Oksidatif stresin göstergesi olan MDA ve karbonil düzeylerinde sadece tezek dumanına maruz bırakılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte artma olduğu görülmüştür. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte oksidatif stresi göstermektedir.

6) Sadece tezek dumanına maruz bırakılan grup III ile NAC ve tezek dumanı alan grup-IV histopatolojik açıdan karşılaştırıldığında intraparenkimal fibrozis ( $p=0.017$ ) dışında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu sonuç NAC'ın tezek dumanı maruziyetindeki histopatolojik değişiklikler üzerine etkisinin yetersizliğini göstermektedir.

7) Yapılan biyokimyasal incelemede SH grupları, MDA ve karbonil düzeyleri sadece tezek dumanına maruz kalan grup III ile tezek ve NAC alan grup IV karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuç NAC'ın tezek dumanı maruziyetindeki antioksidan etkinliğinin yetersizliğini göstermektedir.

Sonuç olarak; tavşanlarda tezek dumanı maruziyetinin respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz değişikliklere yol açtığı NAC kullanımının bu değişiklikler üzerine belirgin düzeltici etkisi bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca biyomas dumanı maruziyetinin oksidan-antioksidan sistemi olumsuz yönde etkilediği fakat NAC'ın antioksidan etkisinin yetersiz olduğu bulunmuştur.



## VII.ÖZET

### TEZEK DUMANINA MARUZ BIRAKILAN TAVŞANLARDA N-ASETİLSİSTEİNİN HİSTOPATOLOJİK VE OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

**Giriş ve amaç:** Tezek kullanımının çeşitli akciğer hastalıklarına yol açtığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı; tezek dumanına maruz bırakılan tavşanlarda N-asetilsisteinin (NAC) histopatolojik ve oksidan/antioksidan sistem üzerine etkilerini araştırmaktır.

**Yöntem:** Çalışma için herbiri beş tavşandan oluşan 4 grup oluşturuldu. Mays'in tanımladığı yöntemle benzer şekilde (80x80x80 cm) cam kafes kullanıldı. Gruplar: bir ay boyunca günde 1 saat sadece temiz havaya maruz bırakılanlar (grup1=kontrol), sadece NAC verilenler (grup 2=NAC), sadece tezek dumanına maruz bırakılan (grup 3=tezek), hem tezek dumanına maruz bırakılıp hem de NAC verilenler (grup 4=tezek+NAC) olarak belirlendi. Bir ayın sonunda tavşanlar sakrifiye edildi. Akciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi. Kanda protein sülfhidrilleri (SH), karbonil, malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Akciğer dokularının histopatolojik incelemesinde grup 3 (tezek)'de grup 1 (kontrol)'e göre respiratuar epitel proliferasyonu ( $p=0.008$ ), alveolar destrüksiyon derecesi ( $p=0.006$ ) ve amfizematöz değişiklikler ( $p=0.007$ ) açısından anlamlı farklılık saptandı. Grup 4 (tezek +NAC)'de Grup 3 (tezek)'e göre intraparenkimal fibrozisde anlamlı azalma saptandı ( $p=0.017$ ). Grup 3 (tezek)'de grup 1 (kontrol)'e göre SH düzeyinde anlamlı azalma olduğu saptandı ( $p=0.000$ ).

**Sonuç:** Tavşanlarda tezek dumanı maruziyetinin respiratuar epitel proliferasyonu, alveolar destrüksiyon ve amfizematöz değişikliklere yol açtığı ayrıca oksidan-antioksidan sistemi olumsuz yönde etkilediği ancak NAC kullanımının histopatolojik değişiklikler ya da oksidan stres açısından belirgin düzeltici etkisi olmadığı bulundu.

## VIII.SUMMARY

### **EFFECTS OF N-ACETYL CYSTEIN ON HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AND OXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS IN RABBITS EXPOSED TO BIOMASS FUMES**

**Background and Objectives:** Biomass known to cause many pulmonary disorders. In this study we aimed to show the effects of N-acetyl cystein on histopathological changes and oxidant-antioxidant status in rabbits exposed to biomass fumes.

**Methods:** Four groups each with five rabbits were formed. A glass box (80x80x80 cm) similar to the one that Mays defined was used. Group 1 (control) is exposed only to dry air, group 2 (NAC) was given NAC, group 3 (biomass) was exposed only to biomass fumes and group 4 (biomass+NAC) was both exposed to biomass fumes and given NAC in a duration of 1 month for 1 hour daily. At the end of 1 month period rabbits were sacrificed. Lung tissues were examined histopathologically. Protein sulfhydryls (SH), carbonyl, MDA levels in blood were measured.

**Results:** In the histopathological examination of lung tissues scores, for respiratory epithelial proliferation ( $p=0.008$ ), alveolar destruction ( $p=0.006$ ) and emphysematous changes ( $p=0.007$ ) were significantly higher in group 3 (biomass) than group 1 (control). There was a significant difference between group 4 (biomass+NAC) and group 3 (biomass) ( $p=0.017$ ) for intraparenchimal fibrosis. SH levels were significantly decreased in group 3 (biomass) than group 1 (control) ( $p=0.00$ ).

**Conclusions:** Exposure to biomass fumes cause respiratory epithelial proliferation and emphysematous changes and also negatively effects oxidant-antioxidant status. However NAC has no healing effect on histopathological changes and oxidative stress.

## IX.KAYNAKLAR

1. Barış İ.Y. Primitif Biyomasın Neden Olduğu Sağlık Sorunları. Ankara. Toraks Yayınları 2006.
2. Demirbas A. Combustion characteristics of different biomass fuels. Progress in energy and Combustion Science 2004; 30:219-30.
3. Demirtaş N, Seyfikli Z, Topçu S. Sivas bölgesinden hastanemize başvuran kadın hastalarda geleneksel biyomas kullanımını ile KOAH arasındaki ilişki. Solunum Hastalıkları 1999; 10:148-55.
4. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. Am J Med 1991; 91:31-8.
5. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? Crit Rev Food Sci Nutr 1995; 35:21-9.
6. Gani H, Seyfikli Z, Akkurt İ, Abaođlu Ö. Kırsal alandaki kadınlarda biyomas maruziyetinin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisi. Toraks Dergisi 2000;1:13-8
7. Albalak R. Cultural practices and exposure to particles pollution from indoor biomass cooking: Effects on respiratory health and nutritional status among the Aymara Indians of the Bolivian Highlands (Doctoral dissertation). University of Michigan, 1997
8. Bruce N, Perez-Padilla R, Albalak R. Indoor air pollution in developing countries: A major environmental and public health challenge. Bull WHO Geneva 2000; Vol.78, Iss. 9; pg. 1078, 15 pgs

9. Marks J. Wood powder: An upgraded wood fuel. *Forest Prod J* 1992; 42:52–6.
10. Campbell I. Biomass catalysts and liquid fuels. Lancaster:Technomic Publishing Co. Inc; 1983.
11. Demirbas A. Mechanisms of liquefaction and pyrolysis reactions of biomass. *Energy Convers Manage* 2000; 41:633–46.
12. Demirbas A. Recent advances in biomass conversion technologies. *Energy Edu Sci Technol* 2000; 6:19–41.
13. Jensen PA, Sander B, Dam-Johansen K. Pretreatment of straw for power production by pyrolysis and char wash. *Biomass Bioenergy* 2001; 20:431–46.
14. Podczays J, Wei R. Reduction of idonitrotetrazolium violet by superoxide radicals. *Biochem Biophys Res Com* 1988; 150:1294-301.
15. Ching KC. Cigarette smoking and oxidative damage in the lung. *Am NY Acad* 1993; 686:289-98.
16. Pandey MR. Prevalance of chronic bronchitis in a rural community of Hill region of Nepal. *Thorax* 1978; 39:331-6.
17. Robin LF, Less PS, Winget M. Wood-burning stoves and lower respiratory illnesses in Navajo children. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15:859-65
18. Albalak R, Frisancho AR, Keeler GJ. Domestic biomass fuel combustion and chronic bronchitis in two rural Bolivian villages. *Thorax* 1999; 54 :1004-8.
19. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:341-57.

- 20.** Sandoval J, Salas J, Martinez-Guerra M. Pulmonary arterial hypertension and cor pulmonale associated with domestic wood smoke inhalation. *Chest* 1993; 103:12-20.
- 21.** Gupta RC, Purohit SD, Sharma MP. Primary bronchogenic carcinoma: Clinical profile of 279 cases from mid-west Rajasthan. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 1998; 40:109-16.
- 22.** Franco EL, Kowalski LP, Oliviera BV. Risk factors for oral cancer in Brazil: A case-control study. *Int J Cancer* 1989, 43:992-1000
- 23.** Pintos J, Franco E L, Kowalski L P. Use of wood stoves and risk of cancers of the upper aero-digestive tract: A case-control study. *Int J Epidemiol* 1998; 27 :936-40.
- 24.** Boy E, Bruce N, Delgado H. Birth weight and exposure to kitchen wood smoke during pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2002;110:109–14.
- 25.** Ritz B, Yu F. The effect of ambient carbon monoxide on low birth weight among children born in southern California between 1989 and 1993. *Environ Health Perspect* 1999; 107:17-25.
- 26.** Bobak M, Leon D. Pregnancy outcomes and outdoor air pollution: An ecological study in districts of the Czech Republic 1986-8. *Occup Environ Med.* 1999; 56:539-43.
- 27.** Loomis D, Castillejos M, Gold DR. Air pollution and infant mortality in Mexico City. *Epidemiology* 1999; 10:118-23.
- 28.** Ellegard A. Tears while cooking: An indicator of indoor air pollution and related health effects in developing countries. *Environ. Res* 1997; 75:12-22.

- 29.** Mohan M, Sperfuto RD, Angra SK. India-US case control study of age-related cataracts. *Arch Ophthalmol.* 1989; 107:670-6.
- 30.** Shalini VK, Luthra M, Srinivas L. Oxidative damage to the eye lens caused by cigarette smoke and fuel wood condensates. *Indian J Biochem Biophys* 1994; 31:262-6.
- 31.** West S. Does smoke get in your eyes? *JAMA* 1992; 268:1025-1026
- 32.** Mübeccel A, Akkurt İ, Eğılmez H, Atalar M, Salk İ. Biomass exposure and the high resolution computed tomographic and spirometric findings. *Eur J Radiol* 2004; 52:192-9.
- 33.** Ozbay B, Uzun K, Arslan H, Zehir I. Functional and radiological impairment in women highly exposed to indoor biomass fuels. *Respirology* 2001; 6:255-8
- 34.** Fridovich I. The Biology of Oxygen Radicals. *Science wash* 1978; 201:875-80.
- 35.** Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995
- 36.** Weisiger R A. Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 1986; 90:494-6.
- 37.** Koch O R, Pani G, Borrello S, Colavitti R, Cravero A, Fare S, Galeotti T. Oxidative stress and antioksidant defenses in ethanol-induced cell injury. *Mol Asp Med* 2004; 25:191-8.
- 38.** Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91:11-2.

- 39.** McCord J M. Human disease, free radicals and oxidant balance. Clin Biochem 1992; 26:351-7.
- 40.** Halliwell B, Gutteridge J M C. Role of free radical and catalytic metal ion in human disease: An overview. Methods Enzymol 1990; 186:1-85.
- 41.** Ünlü M. Reaktif oksijen metabolitleri ve akciğer hastalıkları. Solunum hastalıkları. 1999; 10:207-11
- 42.** Halliwell B. Free radicals and antioxidants: A personal view. Nutr Rev 1994; 52:253-63
- 43.** Aalt B, Haenen R M, Doelman J A. Oxidant and antioxidant. State of The Art. Am J Med 1991; 91:3-13.
- 44.** Fridovich I. Superoxide dismutase. Annu Rev Biochem 1975; 44:147-59.
- 45.** Marklund S L. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. Biochem J 1984; 220:269-72.
- 46.** Cai Q, Tian L, Wei H. Age dependent increase of indigenous DNA adducts in rat brain is associated with lipid peroxidation product. Exp Gerontol 1996; 31:373-85
- 47.** Evans P, Lyras L, Halliwell B. Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. Methods Enzymol 1999; 300:145-56
- 48.** Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. Afyon:Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, 2000
- 49.** Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. Prog. Lipid Res 2004; 43:200-27.

- 50.** Tuma D J. Role of Malondialdehit-Asetaldehit adducts in liver injury. *Free Radic Biol Med* 2002; 32:303-8.
- 51.** Stadtman E R. Oxidation of free aminoacids and aminoacids residues in protein by radiolysis and metal catalyzed reactions. *Annu Rev Biochem* 1993; 62:797-821.
- 52.** Stadtman E R. Protein oxidation and aging. *Science* 1992; 257:1220-4.
- 53.** Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence? *Free Rad Antiox* 1994; 344:721-4.
- 54.** Doealman DJA, Leurs R, OosteromWC. Mineral dust exposure and free radical mediated lung damage. *Exp Lung Res* 1990; 16:41-55.
- 55.** Gillissen A, Nowak D. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in anti-oxidant therapy. *Topical Reviews Resp Med* 1998; 92:609-23
- 56.** Rubio ML, Martin-Mosquero MC, Ortega M. Oral N-acetylcysteine elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Chest* 2004; 125:1500-6.
- 57.** Mays BW, Freischlag JA, Eginton MT, Cambria RA, Seabrook GR, Towne JB. Ascorbic acid prevents cigarette smoke injury to endothelium-dependent arterial relaxation. *J Surg Res.* 1999; 84:35-9.
- 58.** Sehirli ÖA, Sener G, Satiroglu H, Ayanoglu-Dülger G. Protective effect of N-acetylcysteine on renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Nephrol* 2003; 16:75-80.
- 59.** Songur A, Akpolat N, Kus İ. The effects of the inhaled formaldehyde during postnatal period in the hippocampus of rats: A morphological and immunohistochemical study. *Neurosci Res Commun* 2003; 33:114-23.



- 60.** Okhawa, H, Ohishi N and Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal Biochem* 1979; 95:351-8.
- 61.** Levine RL, Garland D, Oliver CN. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990; 186:464-78.
- 62.** Koster JF, Biemond P, Swaak AJ. Intracellular and extracellular sulfhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1986; 45:44-6.
- 63.** Chen BH et al. Indoor air pollution in developing countries. *World Health Stat Q* 1990; 43: 1385-27.
- 64.** United States Environmental Protection Agency. Revisions to the National Ambient Air Quality Standards for Particles Matter. *Fed Regist*, July 18 1997; 62: 38651-701
- 65.** Qureshi K. Domestic smoke pollution and prevalence of chronic bronchitis/asthma in a rural area of Kashmir. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 1994; 36:61-72.
- 66.** Regalado J, Perez-Padilla R, Sansores R. The effect of biomass burning on respiratory symptoms and lung function in rural Mexican women. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: A701.
- 67.** Shah N, Ramankutty V, Premila PG. Risk factors for severe pneumonia in children in south Kerala: A hospital-based case-control study. *J Trop Pediatr* 1994; 40:201-6.
- 68.** Lal K, Dutta KK, Vachhrajani KD. Histomorphological changes in lung of rats following exposure to wood smoke. *Indian J Exp Biol* 1993; 31:761-4.

69. Reddy T S, R Guleria, Sanjeev Sinha, Sharma and J N Pande. Domestic cooking fuel and lung functions in healthy non-smoking women. *Indian J Chest Dis Allied sci* 2004; 46:85-90.
70. Pandey MR, Regmi HN, Neupane RP. Domestic smoke pollution and respiratory function in rural Nepal. *Tokai J Exp Clin Med* 1985; 10:471-81.
71. Moran AO. Lung disease associated to wood smoke inhalation. A clinical radiologic, functional and pathologic description [Thesis]. Mexico City, UNAM, 1992.
72. Hsu TH, Lai YL, Kou YR. Smoke-induced airway hyperresponsiveness to inhaled wood smoke in guinea pigs: Tachykininergic and cholinergic mechanisms. *Life Sci* 1998; 63:1513-24
73. Carrillo GR. Chronic wood smoke exposure: does it play a role in the development of pulmonary histiocytosis X? *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 157:A503.
74. Şekeroğlu MR, Recep A, Algün E. Sigara kullananlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1997; 45:105-9
75. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, et al. The antioxidant action of N-acetylcysteine: Its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6:593-7.
76. Gillissen A, Jaworska M, Orth M, et al. Nacystelyn and N-acetylcysteine augment cellular antioxidant defense in two distinctive ways. *Respir Med* 1997; 1:159-68.

77. Phelps DT, Deneke SM, Daley DL, et al. Elevation of glutathione levels in bovine pulmonary artery endothelial cells by N-acetylcysteine. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7:293-9.
78. Wagner PD, Mathieu-Costello O, Bebut DE, et al. Protection against pulmonary O<sub>2</sub> toxicity by N-acetylcysteine. *Eur Respir J* 1989; 2:116-26.
79. Feddersen CO, Barth P, Piichner A, et al. N-acetylcysteine vermindert funktionelle und strukturelle, ARDS-typische Lungenschädigungen bei endotoxinbehandelten ratten. *Med Klin* 1993; 88:198-206.
80. Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, et al. The role of glutathione status in the protection against ischaemic and reperfusion damage: Effects of N-acetylcysteine. *Mol Cell Cardiol* 1988; 20:5-13.
81. Rodenstein D, De Coster A, Gazzaniga A. Pharmacokinetics of oral acetylcysteine absorption, binding and metabolism in patients with respiratory disorders. *Clin Pharmacokinet* 1978; 3:247-54.
82. Cotgreave I, Eklund A, Larsson A, et al. No penetration of orally administered N-acetylcysteine into bronchoalveolar lavage fluid. *Eur J Respir Dis* 1987; 73-77.
83. Bridgeman MME, Marsden M, Selby C, et al. Effect of N-acetylcysteine on the concentrations of thiols in plasma, bronchoalveolar lavage fluid, and lung tissue. *Thorax* 1994; 49:670-5.
84. Meyer A, Buhl R, Magnussen H. The effect of oral N-acetylcysteine on lung glutathione levels in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 1994; 7:431-6.
85. Sohn HO, Lim HB, Lee YG, Kim YT. Effect of subchronic administration of antioxidants against cigarette smoke exposure in rats. *Arch Toxicol* 1993; 67:667-73.