

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**TEK AKCİĞER VENTİLASYONU SONRASI OLUŞAN**  
**AKCİĞER HASARI ÜZERİNE KARNOZİNİN KORUYUCU**  
**ETKİSİ**

**Dr.Hacer BOZTEPE**

**Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**

**2014**



**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**TEK AKCİĞER VENTİLASYONU SONRASI OLUŞAN  
AKCİĞER HASARI ÜZERİNE KARNOZİNİN KORUYUCU  
ETKİSİ**

**Dr. Hacer BOZTEPE**

**Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. M. Cumhuri SİVRİKOZ**

**ESKİŞEHİR**

**2014**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Hacer BOZTEPE' ye ait "Tek akciğer ventilasyonu sonrası oluşan akciğer hasarı üzerine karnozinin koruyucu etkisi adlı çalışma jürimiz tarafından Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: .../11/2014

Jüri Başkanı                      Prof. Dr. Cumhuri SİVRİKOZ  
Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye                                      Prof. Dr. Kevser EROL  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye                                      Doç. Dr. Serkan ENÖN  
Göğüs Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nu.....Tarih  
ve .....Sayılı Kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Enver İHTİYAR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince eğitimimle yakından ilgilenen hocalarım Prof. Dr. M. Cumhuri SİVRİKOZ'a ve Yrd. Doç. Dr. Egemen DÖNER'e, bu zorlu süreçte beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, tez aşamasında histopatolojik incelemelerimizi yapan hocamız Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR'a, biyokimyasal analizleri yapan Prof. Dr. Kevser EROL ve Araş. Gör. Çiğdem ÇENGELLİ'ye, istatistiksel değerlendirmemizde yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Araş. Gör. Hülya YILMAZ'a, deney sürecindeki destek ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Kubilay UZUNER ve Araş. Gör. Mete ÖZKURT'a teşekkür eder, sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

## ÖZET

**Boztepe. H. Karnozinin tek akciğer ventilasyonuna bağlı akciğer hasarı üzerine koruyucu rolü. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2014.** Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda tek akciğer ventilasyonu sonrasında oluşan akciğer hasarı üzerine karnozininin koruyucu rolünü araştırmaktır. Çalışma için 20 adet Sprague Dawley cinsi sıçan randomize olarak, eşit sayıda (n=10) iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 60 dakika süreyle tek akciğer ventilasyonu (TAV) devamında 30 dakika süreyle çift akciğer ventilasyonu (ÇAV) uygulandı. Karnozin grubundaki sıçanlara deneye başlamadan 10 dakika önce 250mg/kg dozunda intraperitoneal karnozin verildi ve aynı ventilasyon protokolü uygulandı. Kontrol ve çalışma gruplarından TAV ve ÇAV sonunda biyokimyasal analiz ve histopatolojik inceleme için akciğerden doku örnekleri alındı. Biyokimyasal analizde doku superoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeyleri ölçüldü. Histopatolojik incelemede dokular hemotoksilen eosin ile boyandı ve akciğerlerde oluşan hasar alveolar konjesyon, intraalveoler kanama, lökosit ve lenfosit infiltrasyonu varlığı ve miktarına göre skorlandı. TAV ve ÇAV sonunda çalışma grubu TNF- $\alpha$  düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu görüldü. Ancak TAV ve ÇAV sonunda her iki grupta MDA ve SOD değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı. Histopatolojik incelemede Karnozin verilen grupta PMNL infiltrasyonu ve lenfosit infiltrasyon miktarının istatistiksel olarak anlamlı azaldığı görüldü. Sonuç olarak TAV kullanılarak yapılan göğüs cerrahisi işlemlerinde özellikle TAV ile işlem süresi uzayacak olgularda karnozin kullanımının TAV'nuna bağlı akciğer hasar ve ödemi azaltıcı etki göstereceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Tek akciğer ventilasyonu, Karnozin, MDA, TNF- $\alpha$ , SOD, alveoler konjesyon, polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu, lenfosit infiltrasyonu.

## ABSTRACT

**Boztepe. H. The protective role of carnosine on lung injury due to one lung ventilation. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine Department of Thoracic Surgery Specialization Thesis, Eskisehir, 2014.** The aim of this study was to investigate the protective effect of carnosine on lung injury after one lung ventilation in rats. 20 Sprague Dawley rats were randomly divided into two groups in equal numbers, for the study (n=10). In control group we performed one lung ventilation for 60 minutes, following 30 minutes double lung ventilation. In carnosine group same ventilation procedure was performed, additionally 250 mg/kg intraperitoneal carnosine was administered 10 minutes before the start of the experiment. Tissue samples of the lung from control and study group were taken for biochemical analyse and histopathological evaluation at the end of one and double lung ventilation. Superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) levels were determined biochemically. Tissue samples were stained with hematoxylin-eosin for histopathological evaluation and were scored according to the alveolar congestion, polymorphonuclear leukocytes infiltration, lymphocyte infiltration and intra alveolar hemorrhage amount. At the end of one and double lung ventilation, statistically significant decrease in TNF- $\alpha$  levels were seen in the study group. However no significant difference was found on MDA and SOD level, at the end of the one and double lung ventilation in both groups. On histopathologic examination and lymphocyte infiltration were decreased statistically significant in group received carnosine. In histopathological evaluation, tissue injury in carnosine group was observed lesser than control group. With all these findings carnosine has a protective role on lung injury after one lung ventilation. As conclusion we thought that carnosine usage can show decreased effect on lung impairment and edema due to ventilation in cases whose operation duration will increase by one lung ventilation in lung operations performed with one lung ventilation.

**Key Words:** One lung ventilation, carnosine, MDA, TNF- $\alpha$ , SOD, Alveolar congestion, polymorphonuclear

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Tek Akciğer Ventilasyonu	3
2.1.1.Tek Akciğer Ventilasyonu Uygulama Endikasyonları ve Kontreendikasyonları	3
2.1.2. Tek Akciğer Ventilasyonu Uygulama Yöntemleri	4
2.1.3.Tek Akciğer Ventilasyonu Yöntemlerinin Komplikasyonları	5
2.1.4 Tek Akciğer Ventilasyonunun Patofizyolojisi	5
2.2.Mekanik Ventilasyona Bağlı Akciğer Hasarı	8
2.2.1.Tek Akciğer Ventilasyonuna Bağlı Akciğer Hasarı	8
2.3. İskemi - Reperfüzyon Hasarı	9
2.3.1.Polimorf Nüveli Lökositler	11
2.3.2.Serbest Oksijen Radikalleri	12
2.3.3.Komplemanın Rolü	17
2.3.4.Endotel Hücresinin Rolü	17



2.3.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarını Önlemede Vücudun Savunma Mekanizmaları	17
2.4.Karnozin Yapısı ve Özellikleri	20
2.4.1.Karnozin'in Kimyasal Yapısı ve Metabolizması	21
2.4.2.Karnozinin Tamponlayıcı Aktivitesi	23
2.4.3. Karnozinin Antioksidan Aktivitesi	23
2.4.4.Karnozinin Antiglikasyon Etkisi	24
2.4.5. Karnozinin Membran Koruyucu Özellikleri	24
2.4.6. Karnozinin Diğer Biyolojik ve Fizyolojik Fonksiyonları	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1.Deneklerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik	26
3.2.Biyokimyasal Analizler	27
3.3.Akciğer Dokularının Histopatolojik İncelenmesi	28
3.4.İstatistiksel Değerlendirme	28
4.BULGULAR	29
4.1.Biyokimyasal Analiz	29
4.2.Histopatolojik İnceleme	31
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

ATP	Adenozin trifosfat
CAT	Katalaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
COX-2	Siklooksijenaz-2
ÇAV	Çift akciğer ventilasyonu
ÇLT	Çift lümenli tüp
eNOS	Yapısal nitrik oksit sentaz
ET	Endotelin
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FOB	Fiber optik bronkoskop
FRC	Fonksiyonel Rezidüel Kapasite
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-PX	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HPV	Hipoksik pulmoner vazokonstrüksiyon
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü 1
IL	Lökotrien
İ/R	İskemi Reperfüzyon
KAR	Karnozin
LDP	Lateral Dekübit Pozisyonu
LOO	Lipit peroksit radikali

MCP-1	Monosit kemoatraktan protein
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NO	Nitrik Oksit
NO <sub>2</sub>	Nitrit
NO <sub>3</sub>	Nitrat
O <sub>2</sub> -	Süperoksit radikali
OH-	Hidroksil radikali
P(A-a)O <sub>2</sub>	Alveolo-arteriyel oksijen basıncı
PaCO <sub>2</sub>	Arteryel kan parsiyel karbondioksit basıncı
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PaO <sub>2</sub>	Arteryel kan parsiyel oksijen basıncı
PEEP	Ekspiryum sonu pozitif basıncı
PEGAM	Trombosit endotel hücresi adhezyon molekülü
PG	Prostoglandin
PMNL	Polimorf nüveli lökosit
PSGL-1	P-Selektin glikoprotein1
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TAV	Tek akciğer ventilasyonu
TNF- $\alpha$	Tümör nekrozis faktör
VCAM-1	Vasküler hücre adhezyon molekülü

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Anestezi altında lateral dekübit pozisyonu	6
2.2. Pulmoner vasküler yatakta iskemi reperfüzyon sırasında lökosit aktivasyonu ve sitokin salınımı arasındaki etkileşimin olası mekanizması	11
2.3. Oksijen Paradoksu: Moleküler Oksijenden Serbest Radikal Oluşumu ve Nitrik Oksitle İlişkisi	14
2.4. Lipit peroksidasyonu ve etkileri	16
2.5. L-karnozin	21
2.6. Dokularda KAR sentezi	22
4.1. Kontrol ve karnozin grubunun 60 ve 90. dakikalardaki alveoler konjesyon karşılaştırmalı grafikleri	32
4.2. Kontrol ve karnozin grubunun 60 ve 90. dakikalardaki interstisyel Ödem karşılaştırmalı grafikleri	33
4.3. Kontrol ve karnozin grubunun 60 ve 90. dakikalardaki intraalveolar kanama karşılaştırmalı grafikleri	34
4.4. Kontrol ve karnozin grubunun 60 ve 90. dakikalardaki PMNL karşılaştırmalı grafikleri	35
4.5. Kontrol ve karnozin grubunun 60 ve 90. dakikalardaki lenfosit infiltrasyonu karşılaştırmalı grafikleri	36

**TABLÖLAR**

	Sayfa
2.1. Akciğer rezeksiyonu sonrası ALI-ARDS gelişmesi için sorumlu tutulan olası mekanizmalar	9
2.2. Antioksidanlar	18
4.1. Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu MDA düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri.	29
4.2. Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri.	30
4.3. Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu TNF- $\alpha$ düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri	31

## 1.GİRİŞ

Tek akciğer ventilasyonu (TAV) göğüs cerrahisinde sık kullanılan ve cerrahi girişimi kolaylaştıran bir yöntemdir (1). Akciğerlerin seperasyonu çift lümenli tüp (ÇLT), endobronşial bloker veya endobronşial tüp kullanılarak sağlanır (1,2,3). Bu üç yöntem değerlendirildiğinde her iki akciğerin beraber ve ayrı ayrı ventile ve aspire edilebilmesi açısından akciğer seperasyonunda ÇLT öncelikle tercih edilir.

TAV sırasında meydana gelen en önemli fizyolojik değişiklik hipoksemidir. Kollabe olan akciğerde hipoventilasyon ve hipoperfüzyon etkisiyle iskemi süreci başlarken, ventile olan akciğerde de hiperventilasyona, yüksek basınca ve artan perfüzyona bağlı hasar oluşur (1,4). TAV'nun sonlanması ile iskemik akciğere doğru kan akımı tekrar başlar. Oluşan reperfüzyon ile hücre içine moleküler oksijen yeniden girer ve hücrede serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşur. Serbest radikaller tek sayıda, çiftleşmemiş elektrona sahip, stabil olmayan moleküllerdir (6,7,8). Hücre membranlarının üzerinden lipit peroksidasyonu reaksiyonlarını uyarırlar (9,10,11). Yine reperfüzyon döneminde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adhezyon moleküllerinin, biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A2) yapımında artış olurken koruyucu gen ürünlerinin (yapısal nitrik oksit sentaz (eNOS), siklooksijenaz-2 (COX -2)) ve bu enzimlerin ürünlerinin (nitrik oksit (NO), prostasiklin) sentezi baskılanır (5). Yine bu dönemde başlayan inflamasyon süreciyle immün sistemler ve koagülasyon sistemleri aktive olarak endotel disfonksiyonuna ve apoptotik hücre ölümüne yol açarlar (6).

Karnozin (KAR) endojen olarak sentezlenen beta-alanin ve L-Histidinden oluşmuş multifonksiyonel bir dipeptittir (12,13,14,15).Özellikle beyin, iskelet ve kalp kası gibi uyarılabilen dokularda yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına karşın, lenste, midede ve böbrekte de yaygın olarak bulunur (15,16,17). Antioksidan özelliğinin yanı sıra, interlökin-1 yapımını artırdığı, apoptozisi baskıladığı, B ve T lenfositleri aktive ettiği, kan hücrelerinin membranları üzerine koruyucu etkiye sahip olduğu, inflamasyonu azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Antiinflamatuvar, antineoplastik, immünmodülatuvar ve nöroprotektif etkileri nedeniyle poliartrit, mide ve düodenal ülser, esansiyel hipertansiyon, iskemik kalp hastalıkları için klinik kullanımı da söz konusudur (12, 18,19,20, 21,22, 23,24).

Ancak KAR'nin akciğer üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu nedenle çalışmamızda KAR'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden yola çıkarak göğüs cerrahisinde sıkça kullanılan bir ventilasyon tekniği olan TAV sonrasında oluşan akciğer hasarı üzerine koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Tek Akciğer Ventilasyonu

TAV göğüs cerrahisinde sık olarak kullanılan ve cerrahi girişimi kolaylaştıran bir yöntemdir. İlk olarak 1935 yılında Gale ve Waters tarafından tanımlandı. TAV endikasyonları hasta ve cerrahi uygulama türü ile ilgili olmak üzere 2 başlık altında toplanır (1). Hasta ile ilgili endikasyonlar kesin endikasyonlar olarak kabul edilir. Cerrahi uygulama türü ile ilgili endikasyonlar ise cerrahi işlemi kolaylaştıran rölatif endikasyonlar olarak kabul edilir (1,25, 26).

#### 2.1.1.Tek Akciğer Ventilasyonu Uygulama Endikasyonları ve Kontreendikasyonları

##### A-Kesin Endikasyonlar

1. Bulaşmayı engellemek için iki akciğerin birbirinden ayrılması
  - Enfeksiyon
  - Akciğer kist hidatiği
  - Masif kanama
2. Ventilasyonun etkin bir şekilde devamının sağlanması
  - Bronkoplevral fistül
  - Trakeobronşial rüptür
  - Tek taraflı dev akciğer kisti
3. Tek taraflı akciğer lavajı
  - Pulmoner alveolar proteinozis

##### B-Rölatif Endikasyonlar

- 1.Cerrahi girişimin kolaylaştırılması
  - Torasik aort anevrizması
  - Pnömonektomi
  - Lobektomi
  - Segmentektomi
  - Torakoskopi
  - Özefagus rezeksiyonu



Mediastinal girişim

2.Tam tıkanma yapan kronik embolilerin çıkarılması

### **C-Kontrendikasyonlar**

1.Ciddi akciğer hastalığı

2.Preoperatif solunum rezervinin kısıtlı olması

3.Trakeal ve ana bronşial sistemde lümeni daraltan kitle bulunması

4.Akciğer rezeksiyon operasyonu geçirilmiş olması

#### **2.1.2. Tek Akciğer Ventilasyonu Uygulama Yöntemleri**

Akciğerlerin seperasyonu ÇLT, endobronşial bloker veya endobronşial tüp kullanılarak sağlanır (1,2,3). Endobronşial bloker ucunda balon bulunan kataterdir. Trakea ve bronşların anatomik yapısındaki değişikliklerin bronş içi tüplerin kullanımını engellediği durumlarda uygulanabilir. Tek lümenli endobronşial tüp ise ucunda bulunan balon ana bronşu, daha proximaldeki balon ise trakeayı kapatacak şekilde tasarlanmıştır. Çift lümenli bronş içi tüplerde ise ana bronş içine giren bir lümen ve distal trakea içinde kalan ikinci bir lümen vardır ve tüpün ana bronş içine giren ve trakea içinde kalan bölümlerinde birer balon bulunur (1). Bu üç yöntem değerlendirildiğinde her iki akciğerin beraber ve ayrı ayrı ventile ve aspire edilebilmesi açısından akciğer seperasyonunda ÇLT öncelikle tercih edilir (1).



**Resim 2.1.** Robert Shaw tipi çift lümenli tüp

Tüm ÇLT 'lerin 90° yakın iki eğilimi vardır. Distaldeki eğim yerleştirilmek istenen ana bronşa uygundur, proximaldeki eğim ise orofarinkse göre dizayn edilmiştir. Günümüzde en sık kullanılan ÇLT, disposabl Robert –Shaw tipidir(27). (Resim 2.1.)

Erişkin trakeası yaklaşık olarak 11-12 cm civarındadır. Daha geniş olan sağ ana bronş trakeadan 25° açıyla sol ana bronş ise 45° ile ayrılır. Sağ ana bronş üst, orta ve alt lob bronşlarına; sol ana bronş ise üst ve alt lob bronşlarına ayrılır. Sağ üst lob bronşunun orifisi karinadan yaklaşık 2,5 cm, sol üst lob bronşunun orifisi ise yaklaşık 5 cm uzaklıktadır. Sağ ve sol ana bronşun bu anatomik farkları nedeniyle sağ ve sol ÇLT'lerde birbirinden farklıdır. Sağ ÇLT'lerin endobronşial segmentlerinde, sağ üst lob ventilasyon açıklığı vardır.

Entübasyon sonrası iki akciğerin de ventile olduğundan emin olunmalıdır. Bir lümen klemlenir, klemlenen tarafta solunum seslerinin ve göğüs hareketlerinin kaybolması, karşı tarafta ise devam etmesi beklenir. Tüpün kesin pozisyonu fiberoptik bronkoskopa (FOB) belirlenir(27).

### **2.1.3. Tek Akciğer Ventilasyonu Yöntemlerinin Komplikasyonları**

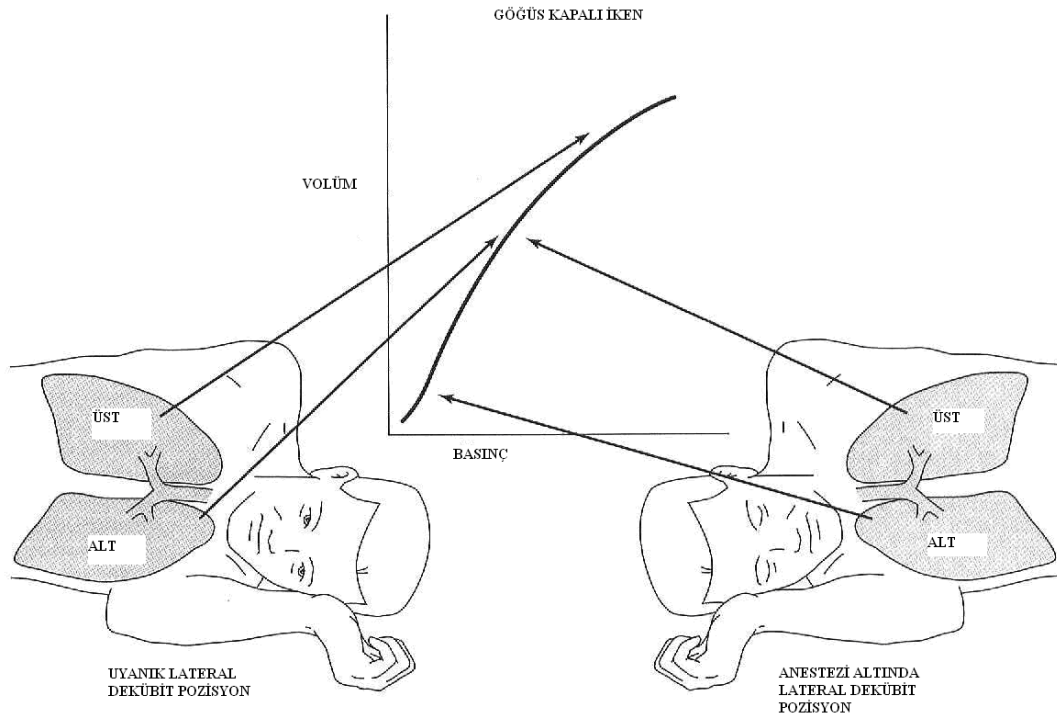
1)Hava yollarında travma (orofarenks ve larenkste yumuşak doku yaralanması, trakeobronşial rüptür)

2)Yanlış yerleşme (sağ üst lob atelektazisi)

3)Hipoksi (26)

### **2.1.4 Tek Akciğer Ventilasyonunun Patofizyolojisi**

Akciğer ameliyatları sıklıkla lateral dekübitüs (LDP) pozisyonunda posterolateral torakotomiyle yapılır ve torakotomi sonrası TAV' a geçilir (28). (Şekil2.1.)



**Şekil 2.1.** Anestezi altında lateral dekübit pozisyonu

LDP’da uyanık ve spontan solunum sırasında yerçekimi etkisiyle kan akımı yani perfüzyon altta kalan akciğerde fazladır. Aynı zamanda ventilasyon da altta kalan akciğerde daha iyidir. Genel anestezi altında ise kan akımı yani perfüzyon yerçekiminin etkisiyle altta kalan akciğerde daha iyi iken; ventilasyon mediasten, abdominal organlar ve diafragmanın basısı nedeniyle- altta kalan akciğerde daha kötüdür. Dolayısıyla LDP’da uyanık ve spontan solunumu olan hastalarda ventilasyon/perfüzyon oranı değişmez iken genel anestezi altında ventilasyon/perfüzyon oranı bozulur. Sonuç olarak; genel anestezi altında, LDP’de üsteki akciğer iyi ventile olup kötü perfüze olmakta iken, alttaki akciğer iyi perfüze olup kötü ventile olur( 28,29,30).

TAV sırasında ise meydana gelen en önemli fizyolojik değişiklik hipoksidir (1, 4). TAV ile opere edilen taraftaki akciğer kollabe edilir. Kollabe olan akciğerde hipoventilasyon sonucu alveolar hipoksi gelişir. Hipoksi diğer sistemlerin aksine pulmoner damarlarda vazokonstriksiyona neden olur. Kollabe olan akciğerin vasküler direnci artar ve iskemi gelişir. Böylece kan akımı ventile olmayan akciğerden ventile olan akciğere doğru yönelir. Ventile olmayan akciğerde perfüzyonun azalmasına neden olan bu duruma “hipoksik pulmoner

vazokonstrüksiyon (HPV)’’ denir. HPV sayesinde kan akımının yönünün değiştirilmesi ile hipoksik akciğerde şant oranı azalır. TAV’da arteriyel kan parsiyel oksijen basıncında (PaO<sub>2</sub>) düşme olurken arteriyel kan parsiyel karbondioksit basınç (PaCO<sub>2</sub>) düzeyi değişmez. Çünkü CO<sub>2</sub>’in difüzyon kapasitesi O<sub>2</sub>’e göre daha fazladır. TAV sırasında ventile olan akciğer ventile olmayan akciğeri kompanse edecek kadar CO<sub>2</sub> atılımını sağlar (30,31).

HPV’yi artıran faktörler;

- Hiperkapni
- Aşırı volüm
- Lateral dekübit pozisyonu
- Vazopressörler
- Mitral stenoz
- Lidokain
- Yüksek frekanslı pozitif basınçlı ventilasyon
- Almitrin
- Orta derecede düşmüş mikst venöz oksijenasyon

HPV’yi azaltan faktörler

- Pulmoner enfeksiyonlar
- Metabolik veya respiratuar alkaloz
- Hipokapni
- Çok yüksek veya çok düşük pulmoner arter basınçları
- İnhalasyon anesteziikleri
- Beta adrenerjik agonistler
- Kalsiyum kanal blokerleri
- Nitrogliserin ve nitropurissit gibi vazodilatörler
- Hipotermi
- Yaşlılık

## **2.2.Mekanik Ventilasyona Bağlı Akciğer Hasarı**

Normal olan akciğerde mekanik ventilasyon sonrası hasar oluşmasına mekanik ventilasyona bağlı akciğer hasarı denir (32). Bu hasarın oluşmasında etkili olan mekanizmalar;

1.Barotravma: Mekanik ventilasyon ile aşırı basınç verilmesi ile oluşan alveol hasarıdır.

2.Volütravma: Yüksek volüm verilmesi ile ventilasyon sonrası oluşan alveolar hasarıdır. Bu hasarlanma sonucu mikrovasküler permeabilite artarak ödeme neden olur.

3.Atelektazi travması: Mekanik ventilasyon sırasında alveollerin açılıp kapanması ile oluşan hasara denir.

4.Biyotravma: Barotravma ve volütravma etkisiyle proinflamatuvar sitokinlerin sistemik dolaşıma geçmesi neden olur.

### **2.2.1.Tek Akciğer Ventilasyonuna Bağlı Akciğer Hasarı**

TAV ile operasyon esnasında kollaps ve reekspansiyon periyodları uygulanmaktadır. TAV ile kollabe olan akciğerde hipoventilasyon ve HPV'nin yarattığı hipoperfüzyon etkisiyle iskemi süreci başlar. ÇAV'a geçilmesiyle birlikte kollabe olan akciğer yeniden ventile edilerek re-ekspansiyon sağlanır. Re-ekspansiyon sürecini takiben kan akımının artması ise alveolar hasarın devamına neden olur (1). TAV'ın akut akciğer hasarı (ALI) yapabileceği ve patofizyolojisinin ise akut respiratuvar distress sendromu (ARDS) ile benzerlik gösterdiği düşünülmektedir (30). TAV ile gerçekleştirilen akciğer rezeksiyonu sonrası ALI ve ARDS gelişmesi için sorumlu tutulan olası mekanizmalar Tablo 2.1. de özetlenmiştir

**Tablo 2.1.** Akciğer rezeksiyonu sonrası ALI – ARDS gelişmesi için sorumlu tutulan olası mekanizmalar

Ventile Olan Akciğer *Hiperoksijenizasyon Oksijen toksititesi Reaktif oksijen türleri *Hiperperfüzyon Endotelyal hasar Artmış pulmoner vasküler direnç *Ventilasyona Bağlı Barotravma Atelektazi travması Volütravma	Kollabe Olan Akciğer *TAV İ/R Re-ekspansiyon Sitokin salınımı  *Cerrahi Majör rezeksiyon Akciğer transplantasyonu	SİSTEMİK Sitokin salınımı Fazla hidrasyon Kemo/radyoterapi SOR
--	---	--

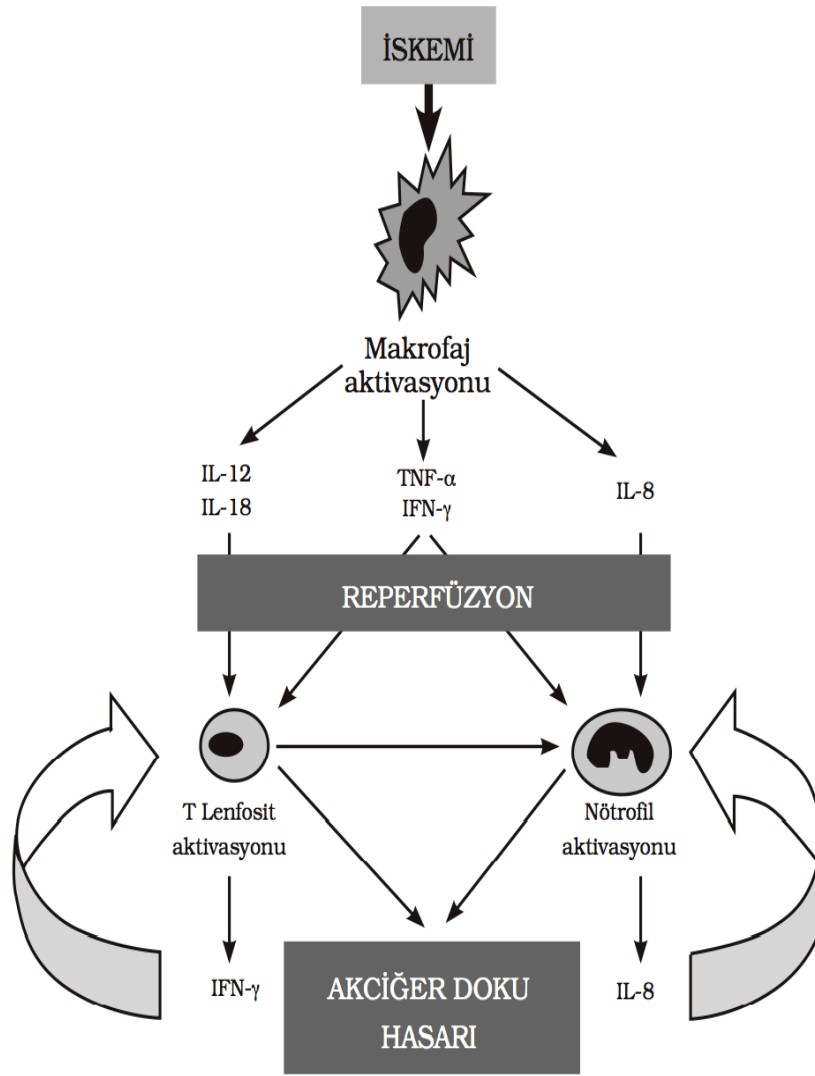
### 2.3. İskemi - Reperfüzyon Hasarı

İskemi, kan akımındaki yetersizlik sonrası gelişen hipoksinin, doku ve organlarda meydana getirdiği geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesidir (33).

İskemi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşur. Bunlardan birisi; iskeminin hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak hücre içi adenozin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açmasıdır (34). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz pompası inhibe olur. Sonuçta; hücre içinde Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>+</sup> iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca<sup>+</sup> iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksik etki yaratır (35). İskemi sonrasında gelişen reperfüzyon ile hücre içine moleküler oksijenin yeniden girmesi ile hızlıca SOR oluşur. Yine bu dönemde hücrede iyon

konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, l6kosit adhezyon molek6llerinin, biyoaktif bileşiklerin (endotelin, tromboksan A2) yapımında artış olurken koruyucu gen 6r6nlerinin (yapısal nitrik oksit sentaz (eNOS) , siklooksijenaz-2 (COX -2)) ve bu enzimlerin 6r6nlerinin (nitrik oksit (NO) , prostasiklin ) sentezi baskılanır (5). (şekil 2.2.)

Akciğerler diğer organlarla karşılaştırıldığında iskemiye daha dayanıklıdır. Bunun nedeni oksijeni gerek alveolar sistemdeki gaz değişiminden gerekse bronşial arteriel dolaşım sisteminden karşılamasıdır. Alveolar oksijenizasyonun ve kan dolaşımının bozulduğu durumlarda akciğerde iskemi meydana gelir. TAV bu duruma 6rnek olabilir. TAV sırasında kan akımının kısıtlanması ve ventilasyonun azalmasıyla akciğerde iskemi oluşur. İskemik akciğer dokusuna AV ile kan akımının tekrar başlaması ve serbest oksijen molek6llerinin h6cre içine girmesi sonucu SOR meydana gelir. Yine bu d6nemde başlayan inflamasyon s6reciyle imm6n sistemler ve koag6lasyon sistemleri aktive olarak endotel disfonksiyonuna ve apoptotik h6cre 6l6m6ne yol açarlar (6).



**Şekil 2.2.** Pulmoner vasküler yatakta iskemi-reperfüzyon sırasında lökosit aktivasyonu ve sitokin salınımı arasındaki etkileşimin olası mekanizması

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisinde polimorf nüveli lökositler (PMNL), SOR'leri, kompleman sistemi ve endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör yer alır (36,37).

### 2.3.1. Polimorf Nüveli Lökositler

İ/R hasarıyla aktive olan lökositler endotel hücresiyle etkileşime girerek damar dışına ulaşarak hasar bölgesine doğru göç etmeye başlar (38,39).

Aktive olan lökositlerler ulaştıkları bölgede aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya neden olur. Meydana gelen tromboz ve ödem ise apoptozisin derecesini artırır (40,41,42). Ayrıca iskemi makrofajlardan



tümör nekrozis faktör, Interlökinler gibi faktörlerinde salınmasına neden olarak erken reperfüzyon hasarına yol açarlar. Bu da SOR üretimini başlatır (43,44).

Akciğerlerde oluşan İ/R hasarına lenfositler, pulmoner endotel hücreleri, alveoler makrofajlar, pulmoner alveolar tip II hücreleri aracılık etmektedir (45).

### **2.3.2.Serbest Oksijen Radikalleri**

Günümüzde kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (29,30).

SOR'leri tek sayıda, çiftleşmemiş elektrona sahip, stabil olmayan ve bundan dolayı da son derece reaktif olan basit moleküllerdir (7,8). SOR elektronları kararlı duruma geçme eğiliminde olduklarından kararlı halde bulunan bileşiklerden elektron alarak yeni serbest radikaller oluştururlar (46). SOR'leri antioksidanlar tarafından engellenmediği takdirde, en yakınındaki, yağ, protein, karbonhidrat, RNA ve DNA molekülü ile reaksiyona girerek, hücrede yapı ve fonksiyon bozukluklarına yol açarlar (8,47).

SOR'leri oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılır (48).

Endojen SOR üretim kaynakları;

- Hücresel oksijen metabolizması (mitokondriyal elektron transportu)
- Fagositoz
- Lipit peroksidasyonu
- Enzimatik aktivite (oksidazlar, dehidrogenazlar)
- Otooksidasyon
- Çeşitli hastalıklar (yangı vs.)
- Bazı metabolik olaylar (hipoksi, iskemi )

Ekzojen SOR üretim kaynakları;

- Radyasyon
- Sigara dumanı
- Zehirli gazlar

- İlaçlar
- Karsinojen maddeler
- Pestisitler

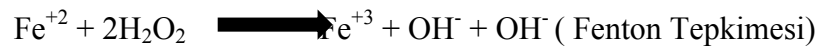
### **Serbest Oksijen Radikal Türleri**

#### **Süperoksit Radikal (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

Hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Süperoksit tarafından başlatılan reaksiyonlar OH<sup>-</sup> ve peroksil radikallerini oluşturur. Nitrik oksit ile reaksiyona girerek reaktif oksijen türevi olan peroksinitriti meydana getirirler. Peroksinitritin doğrudan proteinler üzerine zararlı etkileri bulunur (49,50).

#### **Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) meydana getirir. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. Dismutasyon reaksiyonu ya kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyine sahip reaktif demir formlarını oluşturur.



Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir (51,52).

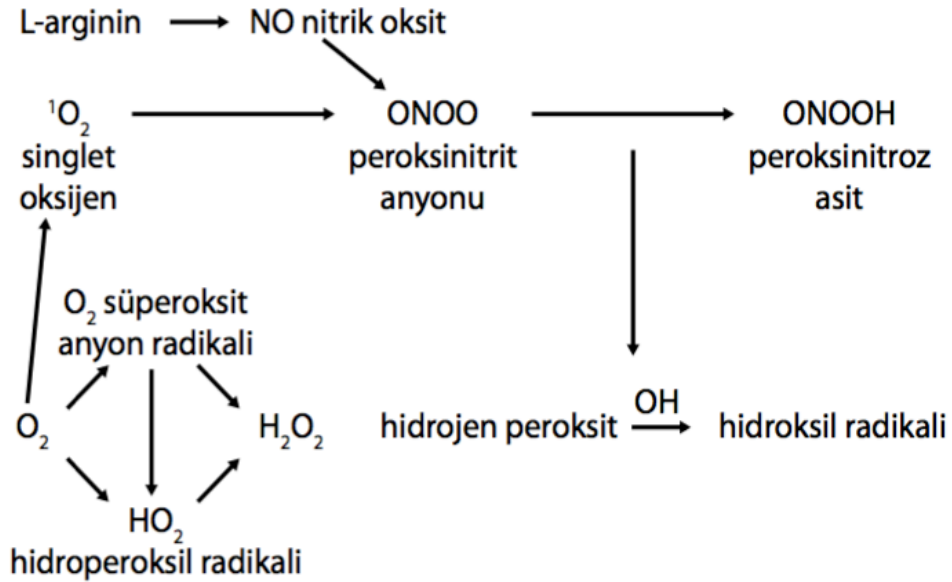
#### **Hidroksil Radikali(OH<sup>-</sup>)**

Tüm biyomoleküllerle reaksiyona girebilen çok reaktif bir radikaldir. En çok bilinen hasarı lipit peroksidasyonudur. OH<sup>-</sup> biyomembranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomunun kopmasına ve lipit peroksidasyonunun başlamasına neden olur (52,53).

#### **Nitrit Oksit (NO)**

NO gaz yapısında ve radikal özelliğinde bir moleküldür (54). NO, nötrofiller, aktive makrofajlar ve endotel hücrelerinin uyarılmasıyla L-arjinin'den üretilir (55).

L-arginin oksijen varlığında nitrik oksit sentaz enziminin katalizörlüğünde L- sitrulin ve NO'ya dönüşür (56). NO, sentezlendikten sonra hızla hedef dokulara yayılarak hücre içinde guanilat siklaz enzimini aktive eder, siklik guanozin monofosfat (cGMP) miktarını artırır ve düz kaslarda gevşemeye neden olur (54).(Şekil 2.3.)



**Şekil 2.3.** Oksijen Paradoksu: Moleküler Oksijenden Serbest Radikal Oluşumu ve Nitrik Oksitle İlişkisi

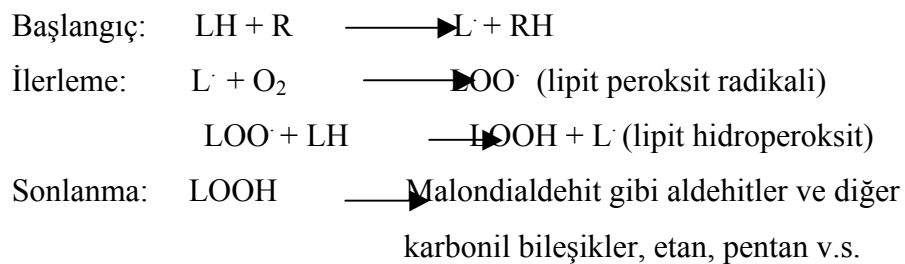
### Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Serbest radikaller vücutta bir çok fizyolojik reaksiyonda görev alır. Aşırı miktarda üretildiklerinde veya antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında biyomoleküllere ve doku componentlerine zarar verir.

- **Serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkileri :** Peptid bağları, prolin, lizin gibi amino asitler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenir. Protein oksidasyonu, histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde olur. Lipit peroksidasyonunun aldehit yapıdaki ürünleri sisteinin sülfhidril grupları ile veya lizin ve histidinlerde kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalara neden olur. Bu olaylar proteinlerin fonksiyonlarında bozulmalara yol açar (52,57,58).

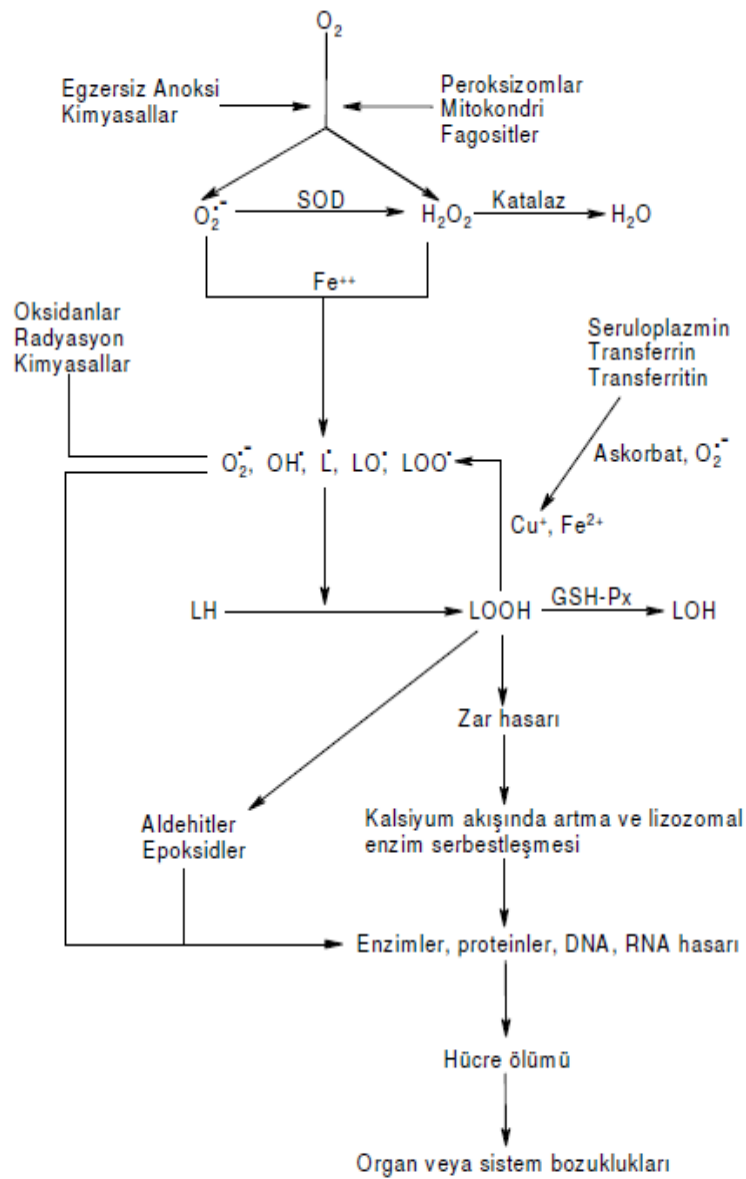
- **Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine olan etkileri :** Serbest radikallerin etkisi ile pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, zincir kırılmaları, DNA denatürasyonu gibi çeşitli olaylar meydana gelir (52,57).
- **Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri:** Monopolisakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki ederler. Bu olaylar kanser ve yaşlanmaya neden olabilir (59).
- **Serbest radikallerin lipitler üzerine etkileri:** Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar (10).

Lipid peroksidasyonu; organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkisiyle, doymamış yağ asidi zincirindeki  $\alpha$ -metilen karbonundan bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar. Hidrojen molekülünün ayrılması, ayrıldığı yağ asidi zincirinin radikalleşmesine neden olur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir yapıya sahip olduğu için spontan değişikliğe uğrar. Lipid radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu bir lipid peroksit radikali (LOO) meydana gelir. Bu radikallerde membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına sebep olur ve açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerinin aldehit (malondialdehit), aklenler, lipit epoksit ile etan ve pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile sona erer (9).(Şekil 2.4. )



Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan aldehitler en toksik ürünlerdir. Malondialdehit (MDA) hücrelerin daha uzak bölümlerine ya da diğer hücelere ulaşabilir. Böylece lipid peroksidasyonu direkt olarak peroksidatif hasara maruz kalmayan dokulara da zarar verebilir (11).

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksidasyonunun indikatörü



Şekil 2.4.Lipit peroksidasyonu ve etkileri olarak kullanılır (9,10,11).

### 2.3.3.Komplemanın Rolü

İ/R hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman isteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur. Bu durum ise inflamatuvar yanıtı artırır (60,61).

### 2.3.4.Endotel Hücresinin Rolü

İ/R hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stres endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. İ/R hasarında endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur (62,63).

TAV sonrası akciğerlerde oluşan inflamatuvar yanıt İ/R hasarı ile benzer özellikler gösterir. İskemi sonrası akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artar, lökositler aktive olur ve dokuyu invaze eder. Reperfüzyonun başlamasıyla kapiller permeabilite ve hidrostatik basınç artar ve alveolokapiller bariyer hasar görür. Bu hasar ise SOR 'nin oluşumuna yol açar (64).

### 2.3.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarını Önlemede Vücudun Savunma Mekanizmaları

Hücrenin İ/R hasarından kendini korumak amacıyla geliştirdiği mekanizmalara antioksidan mekanizmalar adı verilir (65). Organizmanın prooksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "antioksidan savunma sistemi" dört yolla etki gösterir (66,67).

1. Süpürücü etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutar ve yok eder. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler (68,69).
2. İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler (70).

3. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller “zincir kırıcı etki” gösterirler (71).
4. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde etki gösterirler (72).

Antioksidan savunma sisteminde görev yapan moleküller; yapı ve işleyiş mekanizmalarına göre endojen veya eksojen olarak ayrılır. Endojen olan savunma mekanizmaları ise enzimatik ve enzimatik olmayan olarak ayrılır. Görev aldıkları yapılara göre ise intrasellüler, ekstrasellüler ve membran antioksidanları olarak da sınıflandırılabilirler (73,74,75). (Tablo 2.2.)

**Tablo 2.2.** Antioksidanlar

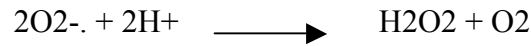
<b>Antioksidanlar</b>		
<b>Endojen</b>		<b>Eksojen</b>
<b>Enzimatik</b>	<b>Enzimatik olmayan</b>	
1) Süperoksit dismutaz	1) Melatonin	1) Vitaminler
2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	2) Seruloplazmin	* $\alpha$ -tokoferol (Vit E)
3) Glutasyon S-Transferazlar (GST)	3) Transferrin	* $\beta$ -karoten(Pro-vit A)
4) Katalaz (CAT)	4) Myoglobin	* Askorbik asit (Vit C)
5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi	5) Hemoglobin	* Folik asit (folat)
6) Hidroperoksidaz	6) Ferritin –	2) İlaçlar
	7) Bilirubin	*Ksantin oksidaz inh.
	8) Glutasyon	-Allopürinol
	9) Sistein	-Oksipürinol
	10) Metiyonin	*NADPH oksidaz inh.
	11) Ürat	-Adenozin
	12) Laktoferrin	-Lokal anestezipler
	13) Albümin	-Kalsiyum kanal blokerleri
		-NSAİD
		* Mannitol
		*Albümin

**Tablo 2.2.** Antioksidanlar (Devamı)

		*Demir selatörleri *Desferroksamin *Barbitüratlar *Sitokinler(IL-1, TNF) *N-asetil sistein(NAC) 3) Gıdalar
--	--	---

**Süperoksit dismutaz (SOD)**

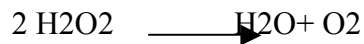
Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir (76).



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da isimlendirilir. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki  $O_2^{\cdot-}$  düzeyleri kontrol altında tutulur (77).

**Katalaz (CAT)**

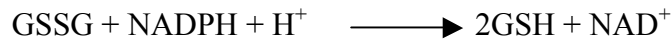
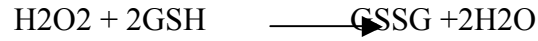
Katalaz, peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir. SOD aracılığı ile oluşan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif tür olan  $OH^{\cdot}$  radikalinin öncüsü olması nedeniyle en fazla oksidatif hasara sebep olur (77). Katalaz hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar.





### Glutasyon Peroksidaz (GSH-px)

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur (78). GPx, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG, glutasyon disülfür) oksidasyonunu katalize ederken, hidrojen peroksiti de suya dönüştürür (77,78,79,80).



### 2.4.Karnozin Yapısı ve Özellikleri

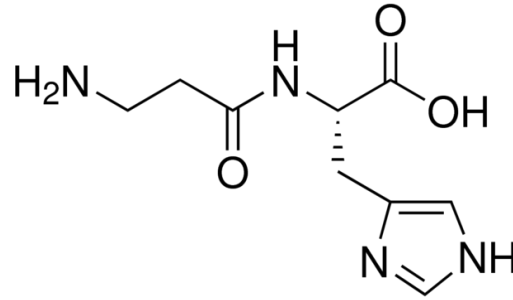
Karnozin (KAR), 1900 yılında, ilk olarak Gulewitsch ve Amiradzibi adlı Rus bilim adamları tarafından et ekstraktlarından saflaştırılmıştır. (12) KAR'ın antioksidan etkisi 1984'de ilk kez gösterildi. KAR, suda erime özelliğine bağlı olarak, suda çözünen oksidasyon mediatörlerinin (metaller ve oksijen radikalleri) yüksek olduğu sitozolde fonksiyon görür. Aktif oksijen radikallerini temizleyen biyolojik fonksiyonuna bağlı olarak antioksidan özelliğe sahiptir. Hidroksil ve süperoksit radikallerinin ve çok kuvvetli olarak da singlet oksijen molekülünün temizleyicisidir. Bu özelliği nedeniyle beyin, böbrek ve iskelet kası İ/R hasarında karnozinin koruyucu etkisi bulunduğu saptanmıştır (81,82,83,84).

Endojen olarak sentezlenen bu dipeptit beta-alanin ve L-Histidinden oluşmuş multifonksiyonel bir dipeptittir (12,13,14,15). Özellikle beyin, iskelet ve kalp kası gibi uyarılabilen dokularda yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına karşın, lenste, midede ve böbrekte de yaygın olarak bulunur (15,16,17).

Nöroprotektif ve nöromodülatör bir etkiye sahip olan KAR'in iskelet kasındaki etkisinin laktik asidi nötralize edici önemli bir sitozolik tampon görevi olduğu sanılır (20).

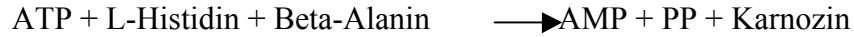
### 2.4.1.Karnozin'in Kimyasal Yapısı ve Metabolizması

Karnozin,  $\beta$ -alanil-L-histidin yapısında, suda çözünebilen bir fizyolojik dipeptiddir ve homokarnozin ( $\gamma$ -amino-bütiril-histidin, GABA-histidin), anserin ( $\beta$ -alanil-L-metilhistidin) gibi aminoaçil histidin dipeptitlerin en basit üyesidir (82,86). İskelet kası ve beyin gibi uyarılabilir, bölünmeyen ve uzun ömürlü dokularda 20mM gibi yüksek konsantrasyonlarda bulunur (87).



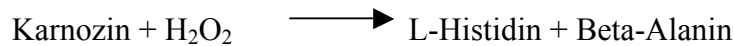
Şekil 2.5. L-karnozin

Beta alanin ve L-histidinden oluşan basit bir dipeptit olan KAR' de, beta-alaninin karboksil grubu, histidinin amino grubu ile amid bağı ile bağlanır (76). Karnozin dokularda metabolik kontrol altındadır. Karnozin, karnozin sentetaz enzimi tarafından (beta-alanin ve L-histidinden) sentezlenir (88,89).



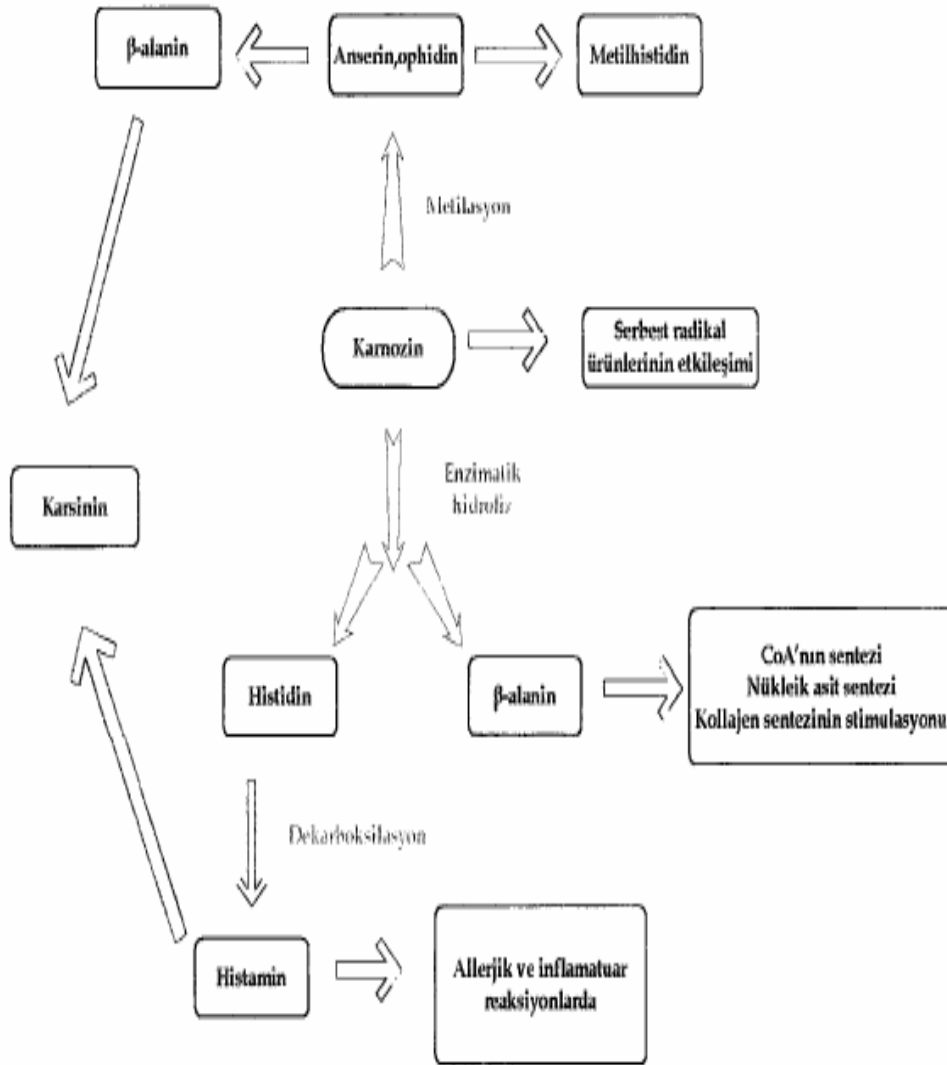
Protein yapısına girmeyen  $\beta$ -alaninin ve urasilinin karaciğerde yıkımı sonucu oluşur. Karnozin sadece  $\beta$ -alanin'i hücre içine taşıyabilecek transport sistemine sahip hücreler tarafından sentezlenebilir. Bu taşıyıcı sistemin sadece iskelet kası ve oligodentrosit gibi farklılaşmış hücrelerde bulunduğu ve hücre farklılaşması arttıkça  $\beta$ -alanin alımının arttığı gösterilmiştir (90).

KAR sentetaz enzimi % 98 sitozolik aktiviteye sahiptir (91). Enzim genel substrat özgülüğü gösterir ve farklı aminoaçil histidin dipeptidleri (homokarnozin ve anserin gibi) sentezleme yeteneğine sahiptir (88,89,92). KAR' in yıkımı karnozinaz enziminin 2 izoformuyla sağlanır. Bu izoformlar, doku (aminoaçil-histidin dipeptidaz) ve serum karnozinaz (Beta-Ala-His dipeptidaz)' dır (93-96).



Dokulardaki KAR metabolik kontrol altındadır. Karnozinaz enzimi tarafından parçalanır (12,20,21,22). Bu enzim tek bir enzim olmayıp, geniş bir metalloproteaz ailesine dahil intraselüler ve ekstraselüler dipeptidaz grubundan oluşur (21). Karnozin, metilasyon ile anserine ve ophidine'e yıkılırken, hidrolizasyonu ile histidin ve  $\beta$ -alanin oluşur (22).

Fizyolojik şartlarda, karnozinaz beyinde homokarnozinin; dolaşımında da karnozin ve anserinin yıkılmasından sorumlu olduğu öne sürülmüştür (97). Serum karnozinaz aktivitesinin yaşla birlikte yükseldiği; 10 aydan küçük çocuklarda az ya da tespit edilemeyecek düzeyde olduğu; 15 yaşına kadar aktivitesinin giderek arttığı ve erişkin düzeyine ulaştığı ifade edilmiştir (98).



Şekil 2.6. Dokularda KAR sentezi (96)

Doku KAR düzeyleri diyetten etkilenir. Histidinden fakir diyetle beslenen ratlarda doku karnozin seviyeleri düşerken, diyete histidin eklenmesinden sonra düşen doku karnozin seviyeleri artar. Kas dokudaki KAR düzeyleri; açlık, enfeksiyon, travma ve şoktan sonra düşer (22).

#### **2.4.2.Karnozinin Tamponlayıcı Aktivitesi**

Fizyolojik pH'da hem karnozin hem de anserin olağanüstü bir tamponlayıcı etki gösterir (99). KAR, zayıf alkali pH'de lipid peroksidasyonunu kolaylıkla baskılayabilir. Kas aktivitesi esnasında, hücre içinde oluşan asidifikasyon durumunda tamponlayıcı etkisi ile kas hücrelerini korur. Kaslarda KAR tüm pH tampon kapasitesinin % 60'ı kadarını yapabilir. Bu şekilde karnozin, peroksidasyonu baskılayarak hücrel homeostazinin korunmasını sağlar. Bunun yanı sıra karnozin ağır metal iyonlarını bağlayıcı özellikleriyle bazı enzimatik reaksiyonları durdurur (98). Karnozin değişken değerlikli metal iyonlarını bağlayabilir. Bakır, çinko, demir iyonlarına bağlı reaksiyonları durdurur. Ayrıca KAR birçok enzimi ağır metal hasarından korur. KAR demir iyonları ile şelasyon yaparak lipid peroksidasyonunu inhibe eder (99).

#### **2.4.3. Karnozinin Antioksidan Aktivitesi**

Karnozin, suda eriyebilen hayvansal dokuların doğal bir metabolitidir. Reaktif oksijen türlerini temizleyici fonksiyonundan dolayı, antioksidan özelliğe sahiptir. Antioksidan özelliğinin yanı sıra, membran koruyucu rolü de vardır. Suda çözünebilen serbest radikalleri temizlerken, hücre membranını lipid peroksidasyonundan korur (100-102). KAR, suda erime özelliğine bağlı olarak, suda çözünen oksidasyon mediatörlerinin (metaller ve oksijen radikalleri) yüksek olduğu sitozolde fonksiyon görür. Hidroksil ve süperoksit radikallerinin ve çok kuvvetli olarak da serbest oksijen molekülünün temizleyicisidir (62-63).

Birçok antioksidanın amacı, dokulara serbest radikallerin girişini engellemektir, fakat ilk savunmanın aşılmasından sonra etkili değildirler. KAR sadece korumada değil, serbest radikallerin reaksiyonlarıyla oluşan tehlikeli bileşiklere karşı da etkilidir. Böylelikle dokuları ikinci bir kimyasal etkiden korur (103). Örneğin; yüksek reaktiviteye sahip lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA, serbest radikal reaksiyonlarının tehlikeli bir ürünüdür ve KAR tarafından

bloke edilebilir. MDA, eğer kontrol edilemezse, enzimleri, lipitleri ve DNA' yı hasara uğratarak; eklem inflamasyonu, ateroskleroz, katarakt oluşumu ve yaşlanmaya yol açabilir. Karnozin, MDA ile reaksiyona girerek MDA' yı inaktifleştirir ve böylece proteinlerdeki aminoasitleri korur (104,105,106).

Karnozinin antioksidan etkinliği özellikle histidinin karboksil grubundan kaynaklanır, demir veya bakır gibi elementlerle şelasyon yapması da buna katkıda bulunur. Böylece peroksil radikallerine hidrojen atomu veren karnozin oksidatif zararlanmayı engeller (107).

#### **2.4.4.Karnozinin Antiglikasyon Etkisi**

Karnozinin belki de en önemli görevi antiglikasyon etkisidir. Serbest radikal hasarından bağımsız olarak yaşlanmanın ana süreçlerinden birisi glikasyondur. İleri glikasyon ürünleri olan AGE'ler (Advanced Glycosylation Endproducts- İleri Glikasyon Son ürünleri ) organizmaya geniş çapta zarar verirler (81). Karnozin bu etkiyi bloke eder. Sonuç olarak Karnozin, aldehit ve ketonları inaktive eder ve protein glikasyonu ve AGE oluşumunu azaltır. Ayrıca var olan AGE'lere bağlanıp onları inaktive eder.

#### **2.4.5. Karnozinin Membran Koruyucu Özellikleri**

Sarkoplazmik membran fragmentleri ile yapılan çalışmalarda, karnozin eklenmesiyle lipid peroksidasyonun neden olduğu  $Ca^{+}$  pompasına  $Ca^{+}$  bağlanma ve Ca-ATPaz inhibisyonunun ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (13). Karnozin molekülü membranın çift tabakalı lipid yapısındaki hasarlara bağlanabilmekte ve hasarın yanında oluşan peroksidasyon ürünlerinin giderilmesinde etkili olabilmektedir (22).

#### **2.4.6. Karnozinin Diğer Biyolojik ve Fizyolojik Fonksiyonları**

Karnozin, interlökin-1 yapımını artırır, apoptozisi baskılar, B ve T lenfositleri aktive eder. Kan hücrelerinin membranları üzerine koruyucu etkiye sahiptir. İnflamasyonu azaltır, yara tedavi edici özelliği vardır. Karnozinin, myeloperoksidaz aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçüldüğünde, belirgin inhibitör etkinlikleri olduğu bulunmuştur (82).

Karnozinin, iskemik hasarlanma sonucu kardiyak yetmezlik gelişen ratlarda, antioksidan özelliğinin yanı sıra direkt  $Ca^{+}$  kanalına (R<sub>YR2</sub>) etki ederek, hücre içi kalsiyum dengesini değiştirdiği ve böylece kardiyak kontraktiliteyi iyileştirdiği, ayrıca siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyini arttırarak vazodilatatör etkinliği olduğu gösterilmiştir (18,19).

Karnozin lenste katarakt oluşumunu engelleyici etki yapar. Karnozin, yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan görme bozukluklarını geciktirir ve kataraktı da etkili bir şekilde önler (87). Bu yüzden, KAR belki de insanlarda, yaşlanmaya karşı bir ilaç olarak uygulanabilir. Kataraktlı hayvanlarda karnozin konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Düşük KAR konsantrasyonunda, kataraktın şiddeti yüksektir. Yüksek oranda kolesterol içeren diyetle beslenen tavşanlara, KAR yüklemesi yapılırsa, ateroskleroz ve katarakta karşı koruma bir hayli artmaktadır (108).

Deneysel çalışmalarda gastrik mukozayı koruyucu etkinliği gösterilmiş, bu etkinin hücresel direnci arttırarak ve / veya lipid peroksidasyonu engelleyerek olabileceği belirtilmiştir (23,24). Karnozinin yaşlanmaya karşı etkisi, diyetle karnozin alındığında, hem hücre kültürlerinde, hem de çeşitli hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (109). KAR, protein modifikasyonlarını inhibe eder. Karnozinin in vitro ortamda yaşlanmayla ilişkili olan protein karbonillerinin oluşumu ve çapraz bağlanmaların oluşumunu inhibe eder. Glike edilmiş lizin (glikoz+lizin) öldürücü iken, glike edilmiş KAR (glikoz+KAR) öldürücü değildir. KAR; asetaldehit ve formaldehit kaynaklı DNA/protein çapraz bağlanmalarının oluşumunu önler (87,99,103).

KAR; kültüre edilmiş insan fibroblastlarının maksimum hücre bölünme kapasitesini arttırarak, olgun/yaşlanmış hücreleri genç hücrelere dönüştüren birkaç ajandan biridir. Karnozin, kültüre edilmiş insan fibroblast DNA'sında bulunan 8-hidroksiguanin (DNA oksidasyon ürünü) düzeylerini azaltır (110). KAR, bulunduğu yıldan bu yana poliartrit, mide ve düedenal ülser, esansiyel hipertansiyon, iskemik kalp hastalıkları ve katarakt tedavisinde, yara iyileşmesinde, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antineoplastik, immünmodülatuvar ve nöroprotektif etkileri nedeniyle kullanılır (12,18,19 20, 21,22,23,24).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'nun 28.12.2012 tarih 306 / 2012 kayıt numaralı onayı sonrasında yapıldı. Deneş hayvanları Tıbbi ve Cerrahi Deneşsel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edildi. Ortalama ağırlıkları 250-370 gr. olan 20 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan (her iki cins) randomize olarak eşit sayıda (n = 10) iki gruba ayrıldı. Denekler deneş süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan ısısı ve nemi (%45-%50) otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm denekler şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

#### 3.1.Deneklerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik

Çalışma öncesi tüm denekler deneşden 8 saat önce aç bırakılarak sadece su içmelerine izin verildi.

Tüm denekler kontrol (n=10) ve karnozin grubu (n=10) olarak iki gruba ayrıldı. Tüm deneklere 8 saat açlık sonrasında 40mg / kg ketamin (Eczacıbaşı Sağlık Ürünleri Sanayi ve Ticaret AŞ, Lüleburgaz, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazinin (Provet Veteriner Ürünleri Sanayi ve Ticaret AŞ, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal yolla verilerek anestezi sağlandı. Anestezi sonrasında tüm denekler tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Gerekli olduğunda deneş süresince bir kez olmak üzere ek doz anestezik yapıldı. Deneş süresince tüm deneklere sıvı resüsitasyonu amacıyla 10 ml/kg % 0,9'luk NaCl ve antikoagülasyon amaçlı 100 ü/kg heparin (Nevparin 25000 IU 5ml. flakon, Mustafa Nevzat) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Elektrokardiyografik monitörizasyon yapıldı ve noninvaziv olarak kuyruklarından tansiyon ölçümü gerçekleştirildi.

Kontrol grubunda denekler anestezi uygulamasının ardından ısıtıcı masa üzerinde supin pozisyonda masaya yatırıldı. %10'luk povidon iodin ile bölge temizliği ardından trakeostomi açılarak 16 G intraket trakeaya yerleştirildi ve buradan sol ana bronş içerisine ilerletildi. İnspeksiyon ve oskültasyon yöntemleriyle sol akciğerin havalanmadığı, sağ akciğerin havalandığı teyit edildikten ve tek akciğer ventilasyonunun sağlandığından emin olunduktan sonra intraket tespit edildi. Tidal volüm 6ml/kg, solunum frekansı 80 /dk, FiO<sub>2</sub>:1.0, olacak şekilde ventilatör (Rodent Ventilatör 7025 Hugo Sachs Electronics, Almanya) ayarları yapılarak 60 dk TAV

gerçekleştirildi. 60 dakika sonunda torakotomi yapılarak sağ akciğerde gelişen atelektazi kontrol edildi. Tüm deneklerde selektif entübasyon başarı ile gerçekleştirildiği teyid edildi, denek kaybı yaşanmadı. Atelektazik olan sağ akciğerin alt lobu çıkarılarak biyokimyasal analizler ve histopatolojik çalışma için doku örnekleri alındı. Örnekleme işleminin ardından intraket sol ana bronş içerisinden karina üzerine kadar geri çekilerek tesbit edildi ve çift akciğer ventilasyonuna (ÇAV) geçildi. Ventilatör ayarları tidal volüm 8 ml/kg, solunum frekansı 60/dk, FiO<sub>2</sub>:1.0, olacak şekilde tekrar düzenlenerek 30 dakika süre ile ÇAV gerçekleştirildi. 30 dakikalık sürenin sonunda sağ akciğerin kalan üst lobu çıkarılarak biyokimyasal analizler ve histopatolojik çalışma için doku örnekleri alındı.

Karnozin grubundaki denekler için cerrahi işlemden 15 dakika önce karnozin 250mg/kg (L-carnosine, Sigma-Aldrich, CAS no: 305-84-0 ) dozunda intraperitoneal yolla uygulandı. Daha sonra kontrol grubunda uygulanan prosedür aynen uygulanarak doku örnekleri elde edildi. Çalışma bitiminde tüm denekler yüksek doz anestezi verilerek sakrifiye edildi.

TAV ve ÇAV sonrası alınan doku örneklerinin bir kısmı %10'luk formaldehit içerisinde saklanarak histopatolojik çalışmaya ayrıldı. Diğer kısmı ise -80 derece sıvı azot içerisinde saklandı. Doku örneklerinden SOD, MDA, TNF  $\alpha$  çalışıldı.

### **3.2.Biyokimyasal Analizler**

TAV sonrası gelişen akciğer hasarını belirlemede alınan doku örneklerinden SOD (Superoxide Dismutase Assay Kit - Item No:706002 – Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, U.S.A), MDA(TBARS Assay Kit – Item No: 10009055 – Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, U.S.A) ve TNF- $\alpha$  (RAT TNF-  $\alpha$  ELISA KIT - KRC3011 – Invitrogen Corporation 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, U.S.A) çalışıldı. Doku örnekleri tartıldıktan sonra üretici firma tarafından verilen talimatlara uygun olarak hazırlandı ve ölçümler yapıldı



### 3.3.Akciğer Dokularının Histopatolojik İncelenmesi

Histopatolojik inceleme için sıçan akciğer dokuları ayrı ayrı % 10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Örneklerden parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom yardımı ile 4 mikrometrelik kesitler alınarak hematoksilin eozin ( H + E ) ile boyandı. histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı. Her örnekte en az iki farklı kesit incelendi.

Akciğerlerde oluşan hasar 10x, 20x ve 40x büyütmelemlerle, alveolar konjesyon, PMNL infiltrasyonu, lenfosit infiltrasyonu, intraalveoler kanama, interstisyel ödem varlığı ve miktarına göre skorlandı.

Skorlama sisteminde:

0: Değişiklik yok

1: Fokal minimal değişiklik

2: Multifokal orta derecede değişiklik

3: Multifokal ileri derecede değişiklik olarak kabul edildi.

### 3.4.İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veri analizlerinin yapılmasında Minitap 16 ve IBM SPSS 21 paket programları ek olarak da Student's t test kullanıldı. Sonuçlar Standart Sapma olarak verildi. Gruplar ve işlemler arası karşılaştırmalar tek faktör tekrarlı 2 yönlü varyans analizi (Two way ANOVA one factor repitition) ile yapıldı. P<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1.Biyokimyasal Analiz

Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu MDA düzeyleri kendi aralarında değerlendirildi.

Kontrol grubunda TAV ve ÇAV sonu MDA değerleri ile karşılaştırıldığında; ÇAV sonu MDA değerinde çok az artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu MDA değerleri karşılaştırıldığında; ÇAV sonu MDA değerinde çok az artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV sonu MDA değerleri karşılaştırıldığında; karnozin grubunda TAV sonu MDA değerlerinde düşüş görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda ÇAV sonrası çalışılan MDA değerleri karşılaştırıldığında; İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.1.)

**Tablo 4.1.** Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu MDA düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri.

MDA	Kontrol grubu	Karnozin grubu	p
TAV SONU (60.DK)	3,0385±0,9549	2,8509±1,2908	<b>P&gt;0,05</b>
ÇAV SONU (90.DK)	3,0981±0,9692	3,2008±1,0284	<b>p&gt;0,05</b>
<b>P</b>	<b>p&gt;0,05</b>	<b>p&gt;0,05</b>	

Kontrol ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD değerleri kendi aralarında değerlendirildi.

Kontrol grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; ÇAV sonu SOD değerinde düşme görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; ÇAV sonu SOD değerinde düşme görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; karnozin grubunda TAV sonu SOD değerlerinde düşüş görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda ÇAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; karnozin grubunda ÇAV sonu SOD değerlerinde düşüş görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.2.)

**Tablo 4.2.** Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri.

SOD	Kontrol grubu	Karnozin grubu	p
TAV SONU (60.DK)	1,1170±0,4517	0,934±0,387	<b>p&gt;0,05</b>
ÇAV SONU (90.DK)	0,8356±0,4386	0,8254±0,3301	<b>p&gt;0,05</b>
P	<b>p&gt;0,05</b>	<b>p&gt;0,05</b>	

Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu TNF- $\alpha$  düzeyleri kendi aralarında değerlendirildi.

Kontrol grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; ÇAV sonu TNF- $\alpha$  değerinde artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu SOD değerleri karşılaştırıldığında; ÇAV sonu TNF- $\alpha$  değerlerinde düşüş görüldü. Bu düşüş TAV sonrası TNF- $\alpha$  değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı fark bulundu. ( $p < 0,001$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV sonu TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ )

Kontrol grubu ve karnozin grubunda ÇAV sonrası çalışılan TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırıldığında; karnozin grubunda ÇAV sonrası TNF- $\alpha$  değerlerinde düşüş mevcut olup, istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark bulundu. ( $p < 0,001$ ) (Tablo 4.3.)

**Tablo 4.3.** Kontrol grubu ve karnozin grubunda TAV ve ÇAV sonu TNF- $\alpha$  düzeylerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri.

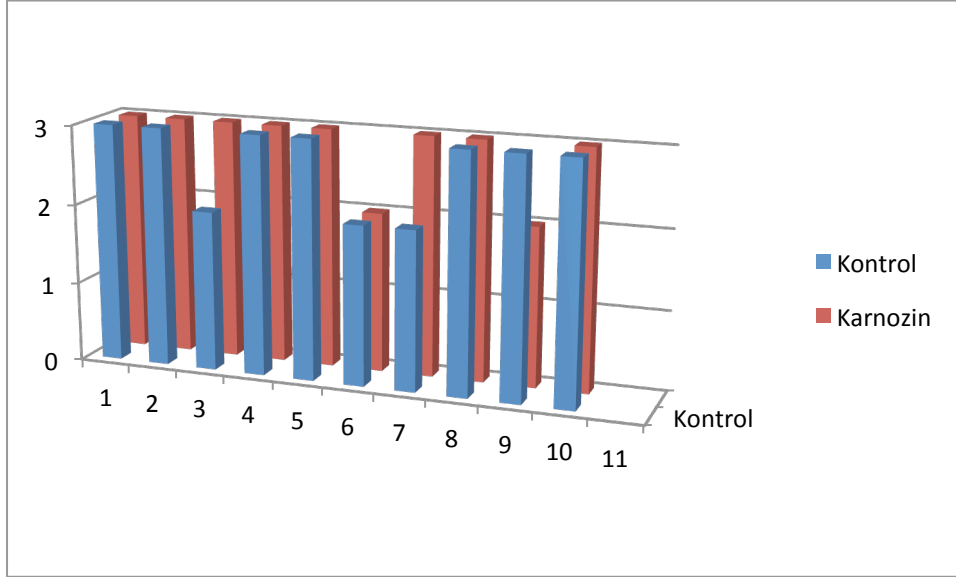
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>Karnozin grubu</b>	<b>p</b>
<b>TAV SONU (60.DK)</b>	65,4936 $\pm$ 16,9996	76,8367 $\pm$ 19,1498	<b>p&gt;0,05</b>
<b>ÇAV SONU (90.DK)</b>	79,2040 $\pm$ 29,3728	23,2184 $\pm$ 12,8246	<b>P&lt;0,001</b>
<b>P</b>	<b>p&gt;0,05</b>	<b>P&lt;0,001</b>	

#### 4.2.Histopatolojik İnceleme

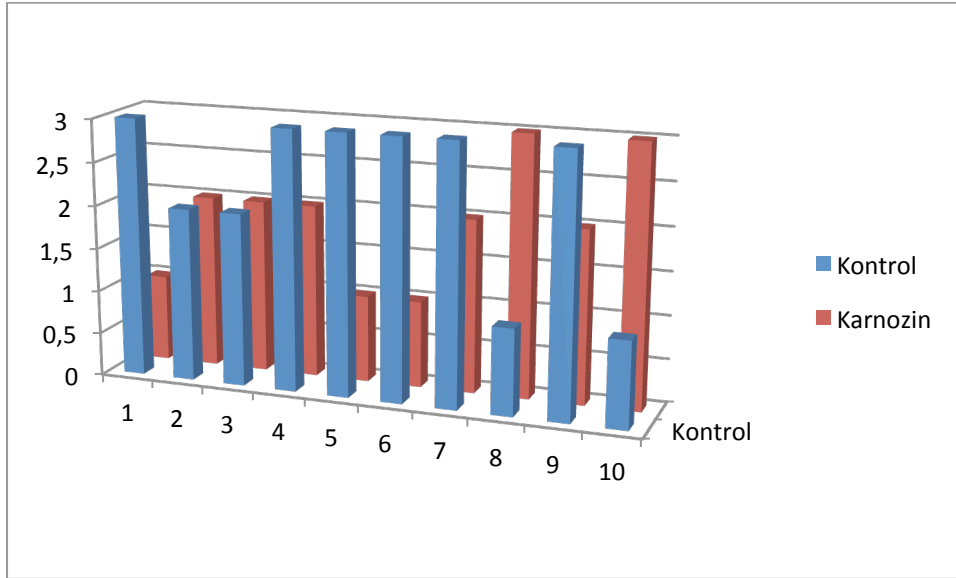
Bütün akciğer dokuları alveolar konjesyon, interstisyel ödem, intraalveolar kanama, polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu ve lenfosit infiltrasyonu varlığına ve miktarına göre incelendi.

Doku örnekleri alveolar konjesyon için değerlendirildiğinde; ÇAV sonunda karnozin verilen grupta konjesyonun daha az olduğu görülmekle birlikte; istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.1.)( Resim 4.1.,4.2.)

#### TAV Sonu (60. Dakika)



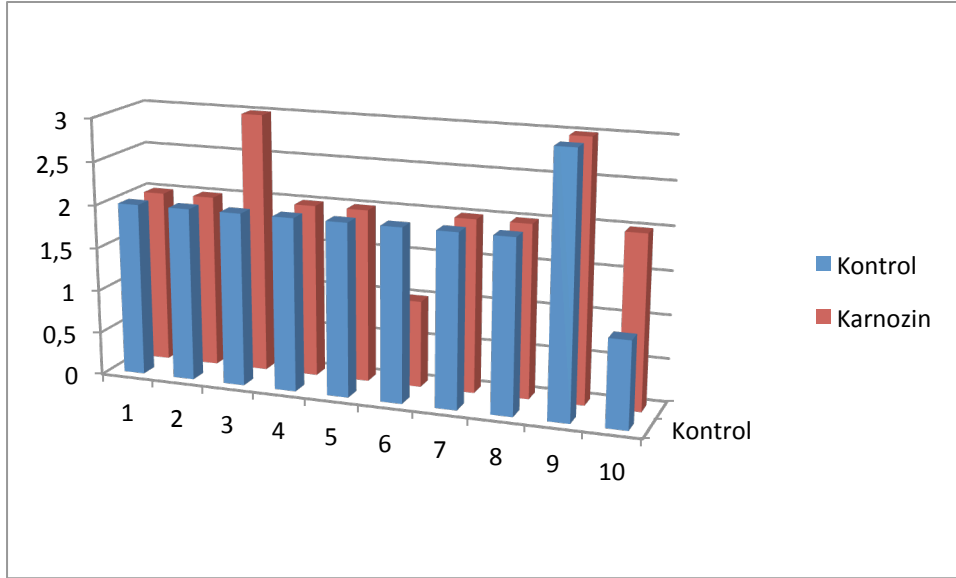
#### ÇAV Sonu ( 90. Dakika)



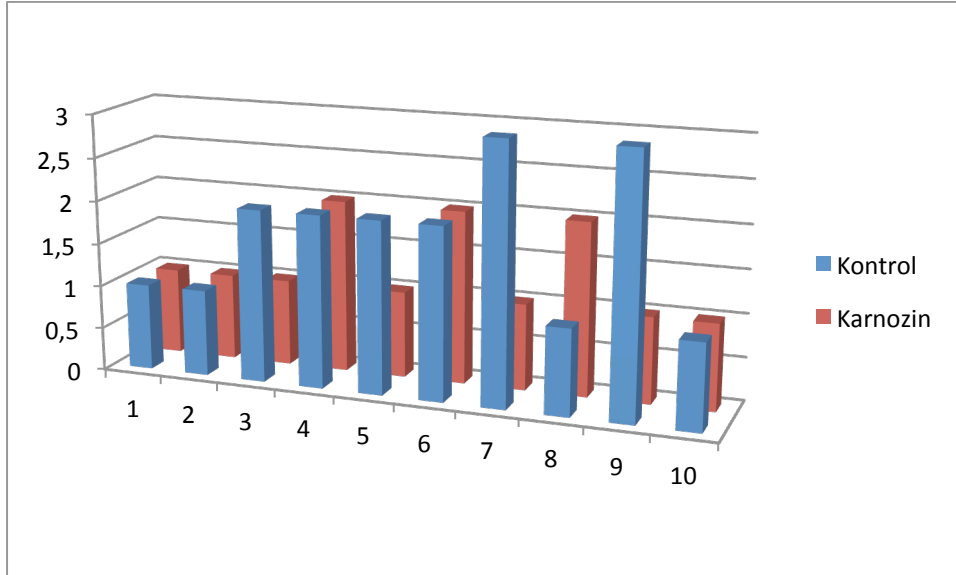
**Şekil 4.1.** Kontrol ve karnozin grubu TAV (60. dakika) ve ÇAV (90. dakika) sonu alveoler konjesyon karşılaştırmalı grafikleri.

Doku örnekleri interstisyel ödem açısından incelendiğinde; özellikle ÇAV sonrasında karnozin grubunda interstisyel ödemin azaldığı izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.2. ) (Resim 4.1.,4.2.)

#### TAV Sonu ( 60. Dakika )



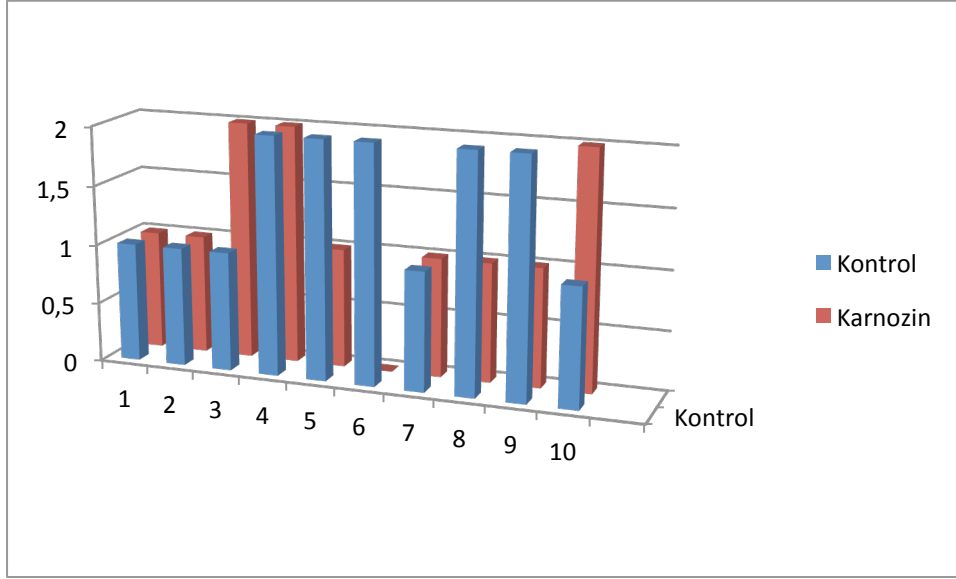
#### ÇAV Sonu (90. Dakika)



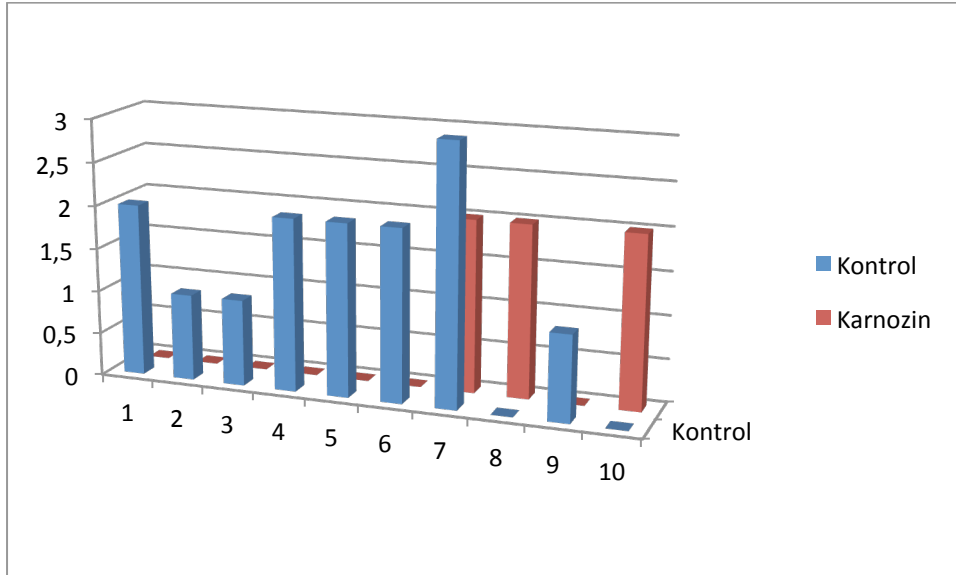
Şekil 4.2. Kontrol ve karnozin grubu TAV (60. dakika) ve ÇAV (90. dakika) sonu interstisyel ödem karşılaştırmalı grafikleri.

Doku örnekleri intraalveolar kanama düzeyi açısından incelendiğinde; TAV sonunda karnozin grubunda intraalveolar kanama düzeyi azalmakla beraber, özellikle ÇAV sonunda kontrol grubuna göre karnozin grubunda daha fazla azalmaktadır. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.3.) (Resim 4.1.,4.2.)

#### TAV Sonu (60. Dakika)



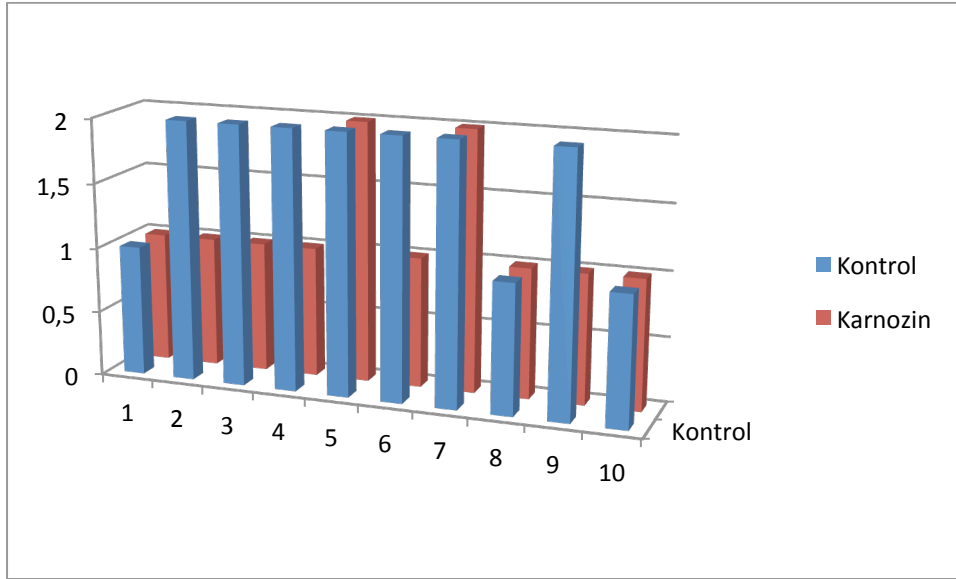
#### ÇAV Sonu (90. Dakika)



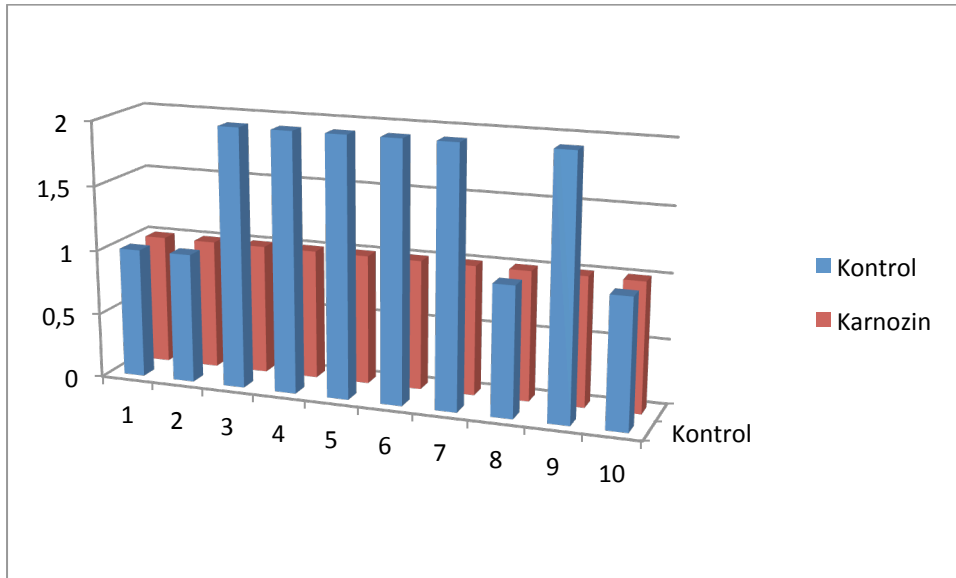
**Şekil 4.3.** Kontrol ve karnozin grubu TAV (60. dakika) ve ÇAV (90. dakika) sonu intraalveolar kanama karşılaştırmalı grafikleri.

Doku örneklerinde PMNL infiltrasyonu açısından yapılan değerlendirmede; TAV ve ÇAV sonu örneklerinde PMNL infiltrasyonunun karnozin verilen grupta kontrol grubuna göre daha az olduğu izlendi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.4.) (Resim 4.1.,4.2)

#### TAV Sonu (60. Dakika)



#### ÇAV Sonu (90. Dakika)

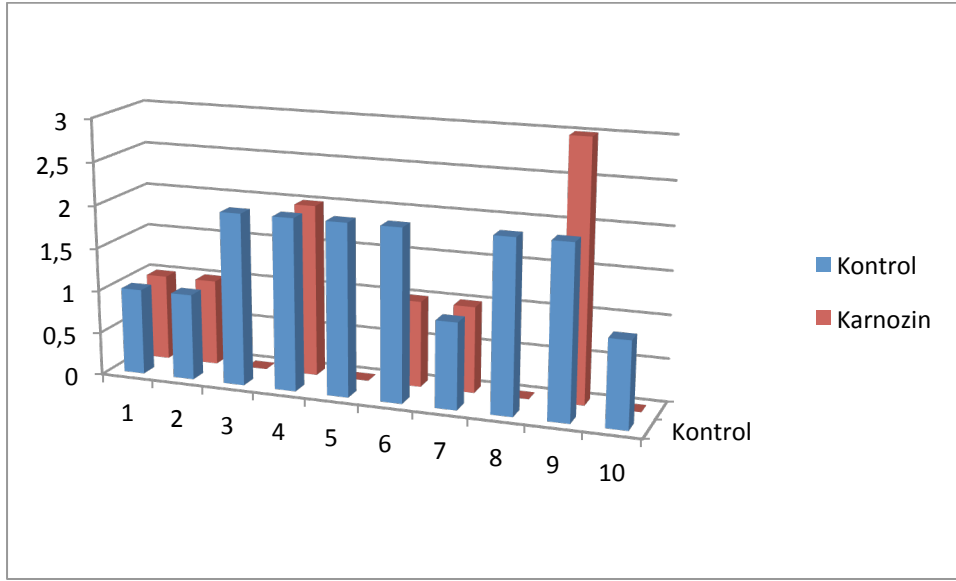


**Şekil 4.4.** Kontrol ve karnozin grubu TAV (60. dakika) ve ÇAV (90. dakika) sonu PMNL infiltrasyonu karşılaştırmalı grafikleri.

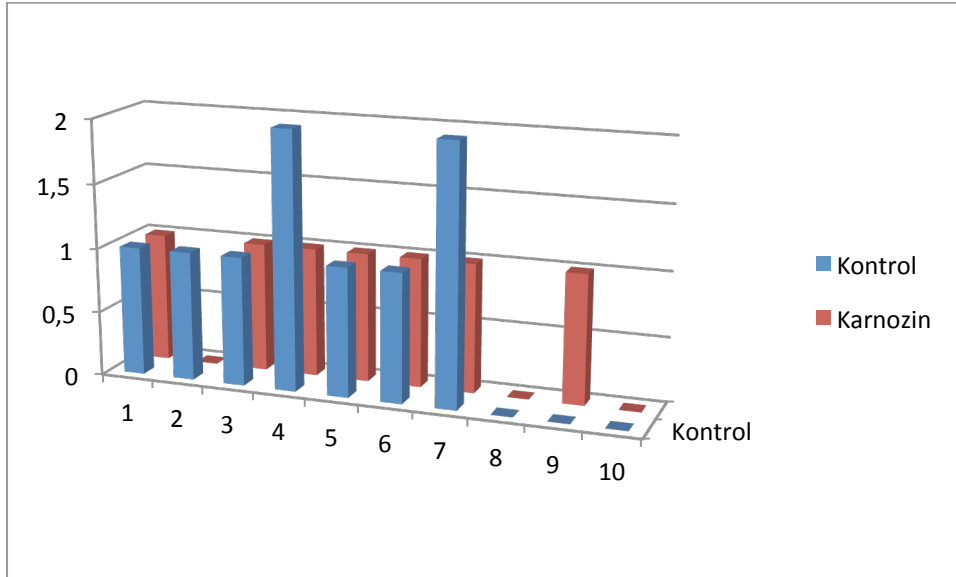


Doku örneklerinde lenfosit infiltrasyonu açısından yapılan değerlendirmede; TAV ve ÇAV sonu örneklerinde lenfosit infiltrasyonunun karnozin verilen grupta kontrol grubuna göre daha az olduğu izlendi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ( $p < 0,05$ ) (şekil 4.5.) (Resim 4.1.,4.2.)

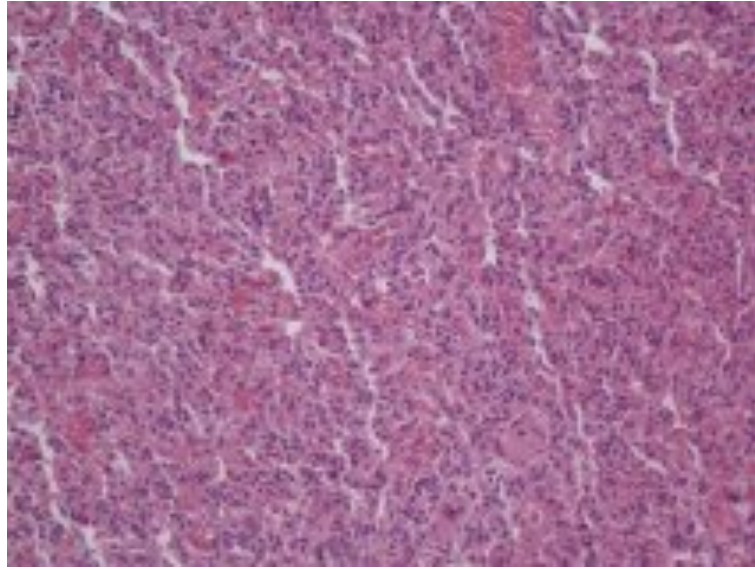
#### TAV Sonu ( 60. Dakika)



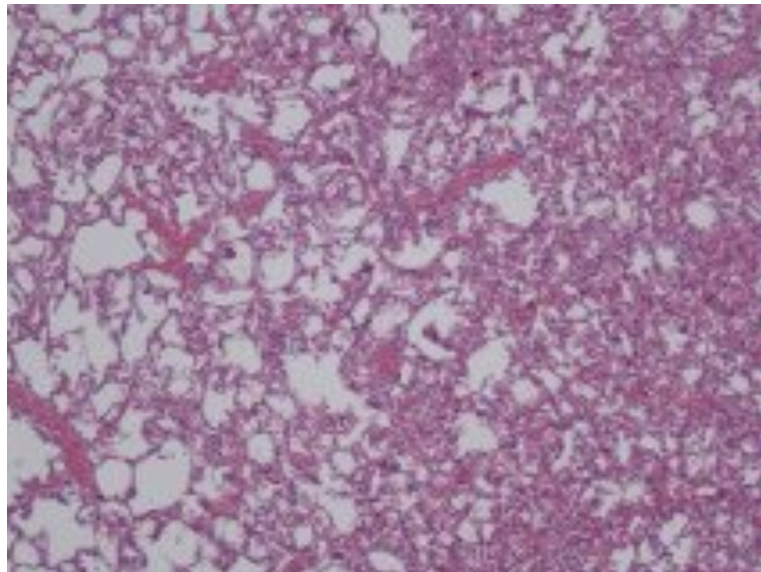
#### ÇAV Sonu ( 90. Dakika )



**Şekil 4.5.** Kontrol ve karnozin grubu TAV (60. dakika) ve ÇAV (90. dakika) sonu lenfosit infiltrasyonu karşılaştırmalı grafikleri.



**Resim 4.1.** ÇAV sonu kontrol grubunda akciğer parankiminde artmış interstisyel ödem, konjesyon, intraalveoller kanama ile intersitisyumda PMNL ve lenfosit infiltrasyonu. (H&Ex20)



**Resim 4.2.** ÇAV sonu karnozin grubunda, ÇAV sonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kısmen gerilemiş interstisyel ödem, konjesyon, intraalveoller kanama ile intersitisyumda PMNL ve lenfosit infiltrasyonu alanları. (H&Ex20)

## 5. TARTIŞMA

Tek akciğer ventilasyonu toraks cerrahisinde sık olarak kullanılan ve cerrahi girişimi kolaylaştıran bir yöntemdir. TAV sırasında meydana gelen en önemli fizyolojik değişiklik ise hipoksemidir. (1,4) Bu değişikliklere karşı oluşan kompensasyon mekanizmaları vardır. Bu kompensasyon mekanizmalarından en önemlisi HPV' dur. Bu sayede kan akımı hipoksik alandan daha iyi ventile edilen akciğere yönelir. Kan akımının yönünün değiştirilmesi, hipoksik akciğerde şant oranını azaltır. (30,31) Kollabe olan akciğerde hipoventilasyon ve HPV'nin yarattığı hipoperfüzyon etkisiyle iskemi süreci başlarken, ventile olan akciğerde de hiperventilasyona, yüksek basınca ve volüm fazlalığına bağlı alveolar hasar oluşmaktadır.(1)

Hipoperfüze akciğer dokusuna ÇAV ile kan akımının tekrar başlaması ve serbest oksijen moleküllerinin hücre içine girmesi sonucu SOR meydana gelir. Yine bu dönemde başlayan inflamasyon süreciyle immün sistemler ve koagülasyon sistemleri aktive olarak endotel disfonksiyonuna ve apoptotik hücre ölümüne yol açarlar.(6)

Türkyılmaz ve ark. (34) tek akciğer ventilasyonu ile yapılan cerrahi uygulamalarda postoperatif akciğer hasarının daha fazla olduğunu belirtmiştir. Bu durumun havalanmayan akciğerde gelişen atelektazi, bu bölgede biriken toksik oksijen radikallerin tekrar dolaşımın sağlanmasıyla kana karışması ve ventile edilen akciğere daha fazla basınçla oksijen verilmesiyle açıklamışlardır.(111)

Licker ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif çalışmada, 100 dakikadan fazla süren TAV sonrası akciğer hasarının geliştiği görülmüştür. (112). Tekinbaş ve ark.'nın yaptığı çalışmada sıçanlarda 1,2 ve 3 saatlik TAV ve arkasından 2 saatlik ÇAV uygulanmış. Deney sonrasında oluşan akciğer hasarının TAV süresi uzadıkça arttığı, doku MDA seviyeleri ve histopatolojik inceleme ile gösterilmiştir (113).

Misthos ve ark.'nın yaptığı TAV çalışmasında 212 hasta prospektif olarak akciğer re-ekspansiyon-reperfüzyon hasarı açısından incelenmiş. Cerrahi işlem uygulanan hastaların preoperatif, intraoperatif ve postoperatif plazma MDA seviyeleri ölçülmüş. TAV uygulanan gruplarda TAV süresi arttıkça re-ekspansiyon hasarının ve MDA değerlerinin arttığı görülmüştür. Kanserli akciğer

reexpansiyonunun ciddi oksidatif strese neden olduğu, oluşan SOR miktarının TAV süresi ile ilişkili olduğu, akciğer kanserli olguların normal popülasyondan daha fazla SOR ürettiği, tümör dokusunun çıkarılmasının organizmadaki serbest oksidatif yükü azalttığı, mekanik ventilasyon ve cerrahi travmanın zayıf SOR üreticisi olduğu, manüple edilen akciğer dokusunda SOR kaynağı olduğu ve bunun sadece intraoperatif değil ameliyattan saatler sonra da olduğu sonuçlarına varılmıştır (114).

Karnozin endojen olarak sentezlenen bir dipeptittir.(12,13) Özellikle beyin, kalp ve iskelet kası gibi uyarılabilen dokularda yüksek konsantrasyonda bulunmasına karşın, lens, mide ve böbrekte yaygın olarak bulunur. (15,16) Karnozin reaktif oksijen türevlerini temizleyici fonksiyonundan dolayı antioksidan özelliğe sahiptir. Antioksidan özelliğinin yanı sıra, membran koruyucu rolü de vardır. Suda çözünebilen serbest radikalleri temizlerken hücre membranını lipid peroksidasyonundan korur.(98,99) KAR sadece korumada değil, serbest radikallerin reaksiyonlarıyla oluşan tehlikeli bileşiklere karşı da etkilidir. Böylece dokuları ikinci bir kimyasal etkiden korumaktadır. (103)

MDA, serbest radikal reaksiyonlarının tehlikeli bir ürünüdür ve KAR tarafından bloke edilebilir. Eğer kontrol edilemezse; enzimleri, lipitleri ve DNA yı hasara uğratarak, eklem inflamasyonu, ateroskleroz, katarakt oluşumu ve yaşlanmada rol oynar. KAR, MDA ile reaksiyona girerek MDA ' yı inaktifleştirir ve böylece proteinlerdeki aminoasitleri korur. (104,105)

Karnozin interlökin-1 yapımını artırır, apoptozisi baskılar, B ve T lenfositleri aktive eder. İnflamasyonu azaltır, yara tedavi edici özelliği vardır (82).

Fujii ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ratlarda İ/R modeliyle akut renal yetmezlik oluşturulmuş. İskemiden 5 dakika önce ve reperfüzyondan 5 dakika sonra 10µg/kg dozda verilen karnozinin her iki grupta da, tedavi verilmeyen akut renal yetmezlikli gruba göre artmış olan sempatik aktiviteyi anlamlı şekilde azaltarak renal fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir (82).

Stvolinsky ve arkadaşlarının karotid arter oklüzyonu ile global beyin iskemisi oluşturdukları ratlarda, oklüzyondan 30 dakika önce 150 mg/kg dozda verilen karnozinin, yaşam süresini anlamlı olarak arttırdığı tespit edilmiştir. Bu etkinin karnozinin antioksidan özelliğinin yanında, Na/K-ATPase ve monoaminooksidaz B

enzimini arttırarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (81). Rajanikant ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, kalıcı serebral iskemi oluşturdukları farelere iskemi öncesi ve sonrası uygulanan karnozinin serbest oksijen radikallerini azalttığı, ekstraselüler matriksi parçalayarak doku yıkımına neden olan matriks metallo proteinaz enzim aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (115). Hipkiss ve arkadaşlarının çalışmasında karnozinin, rat beyin endotel hücrelerini MDA toksisitesine karşı koruduğu gösterilmiştir (103). Nicoletti ve arkadaşlarının çalışmasında ise rat astroglial hücre kültürlerinde, karnozinin NO ile direkt etkileşime girerek NO'in zararlı etkilerinden koruduğu saptanmıştır (116).

Baykara ve arkadaşları İ/R modeli ile ratlarda oluşturdukları karaciğer hasarında iskemiden 30 dakika önce ve reperfüzyondan hemen sonra 250 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanan karnozinin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda karnozinin, iskemi-reperfüzyon grubuna göre karaciğer hasarında histopatolojik olarak belirgin düzelme sağladığı, GSH düzeyini anlamlı olarak arttırdığı, oksidatif strese yanıt olarak lökositlerden salınan miyeloperoksidaz enzimini belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir(83).

Bilge ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada rat modelinde abdominal aortanın klemplenmesi ile oluşturulan İ/R modelinde akciğerde ortaya çıkabilecek doku hasarına karşı karnozinin koruyucu etkisini araştırmışlar. Grup 1'deki ratlarda batin açılarak abdominal aortaları explore edildikten sonra hiçbir girişim yapılmadan tekrar kapatılmış. Grup 2'de abdominal aortaya klemp konulmuş, 30 dakika iskemi süresinin sonunda klemp kaldırılmış ve 60 dakika reperfüzyon gerçekleştirilmiş. Grup 3' e ise 2. gruptaki işlemin aynısı uygulanarak klemp kaldırılmadan 10 dakika önce intraperitoneal yolla 250 mg/kg karnozin verilerek histopatolojik inceleme ve biyokimyasal analizler için doku örnekleri alınmış. Akciğer dokusunda grup 2'ye ait MDA, SOD, myeloperoksidaz ve okside glutatyon değerleri kontrol grubundaki değerlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Grup 3'e ait MDA ve okside glutatyon değerleri aortik iskemi reperfüzyon grubundaki değerlere göre anlamlı derecede düşük bulunmuş. İmmünohistokimyasal değerlendirmede ENOS için immünoaktivitenin grup 1' de olmadığı, grup 2' de şiddetli düzeyde olduğu, grup 3'de ise hafif düzeyde olduğu görülmüş. Bu çalışmada karnozinin, abdominal

aortanın geçici iskemi reperfüzyon hasarına bağlı olarak akciğerlerde oluşan patolojik değişiklikleri önlemede yararlı etkileri olduğu sonucuna varılmış. (117)

Yukarıda bahsettiğimiz çalışmalarda karnozin verilen gruplarda verilmeyen gruplara göre MDA ve SOD değerlerinde anlamlı düşüşler saptanmış ve karnozinin antioksidan etkisi gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise kontrol grubunda TAV ve ÇAV sonu değerleri karşılaştırıldığında MDA seviyesinde anlamlı bir artış saptanmadı ayrıca gruplar arası TAV ve ÇAV sonu değerleri karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde yine anlamlı değişiklikler saptanmadı. Bu durumda MDA için bir endojen cevap olan SOD düzeylerinde de anlamlı farklılığın oluşmadığı görüldü. Çalışmamızda MDA ve SOD değerleri için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamasının nedeni iki şekilde açıklanabilir. TAV İ/R modeli için bir örnektir ancak TAV sırasında kollabe akciğerde oluşan hipoperfüzyon tam bir iskemik period olarak kabul edilemez. Dolayısı ile iskemiye dayanıklı akciğer dokusunda oksidatif stres oluşturabilmek için daha uzun hipoperfüzyon süresine ihtiyaç duyulabileceği düşünülebilir. Bu noktada yapılan çalışmalar TAV'nunda akciğer hasarının TAV süresi uzadıkça arttığını göstermektedir. Çalışmamızda ortalama ameliyat sürelerine bağlı kalınarak 60 dakika TAV süresi belirlendi. 60 dakikalık TAV süresi doku üzerinde oksidatif stres etkisi yaratmamış ve doku MDA düzeyleri stabil kalmıştır. Dolayısı ile karnozinin antioksidan etkisi tespit edilememiştir. Ancak TAV süresinin uzatıldığı ek çalışmalar ile karnozinin TAV'na bağlı akciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkisinin ortaya konulabileceğini düşünüyoruz.

TNF- $\alpha$  inflamasyon sırasında mononükleer fagositlerden ve T lenfositlerden sentezlenip, salgılanan bir moleküldür ve doku enflamasyonunun bir göstergesidir. Mekanik ventilasyon sonucu oluşan akciğer hasarında yükseldiği bilinmektedir (58).

Leite ve ark.'nın yaptığı çalışmada sıçanlara ilk iki gruba 1 ve 3 saatlik TAV sonrası 1 saatlik ÇAV uygulanmış, diğer iki gruba ise sadece 1 ve 3 saatlik TAV uygulanmış, kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmamış. Deney sonrasında TAV+1 saatlik ÇAV uygulanan sıçanlardan alınan örneklerdeki TNF-  $\alpha$  değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiş (58).

Yan ve arkadaşları farelerde asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarından önce dört hafta boyunca oral verilen karnozinin ve histidinin etkisini

araştırmışlar. Çalışmanın sonucunda karnozinin ve histidinin, belirgin olarak GSH'yi arttırdığı, GSSG, MDA, SOR 'ni azalttığı böylece asetaminofenin neden olduğu oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada karnozinin, asetaminofen tarafından arttırılan, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 ve monosit kemoatraktan proteinini anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre karnozinin antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajan olduğu belirtilmiştir (118).

Bizim çalışmamızda kontrol grubu TAV sonu ve ÇAV sonu değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmamakla beraber inflamasyonun belirtisi olan TNF- $\alpha$  düzeyinde artış vardır. Karnozin grubu TAV ve ÇAV sonu değerleri karşılaştırıldığında ÇAV sonu TNF- $\alpha$  değerinin istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı şekilde azaldığını saptadık. Yine ÇAV sonunda gruplar arası karşılaştırmada TNF- $\alpha$  değerinin ileri derecede anlamlı şekilde düştüğünü gördük. Bu bulgular literatür bilgisi ile paralel şekilde TAV'nunda karnozinin güçlü anti enflamatuvar etki gösterdiğini biyokimyasal olarak kanıtlamaktadır.

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapiller lökosit tıkaçlarının oluşmasına, sıvı filtrasyonunun artmasına, postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur.(26,28) Akciğerlerde i/R hasarına lenfositler, pulmoner arteriyel endotel hücreleri, alveolar makrofajlar ve pulmoner alveolar Tip II hücreleri aracılık eder. (18)

Bizim çalışmamızda histopatolojik inceleme ışık mikroskobu ile yapıldı. Akciğerlerde oluşan hasar alveolar konjesyon, interstisyel ödem, PMNL infiltrasyonu, lenfosit infiltrasyonu, intraalveolar kanama varlığı ve miktarına göre skorlandı. Çalışmamızda karnozin verilen grupta alveolar konjesyon, intraalveolar kanama ve intersitisyel ödem miktarının istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber kontrol grubuna göre azaldığı görülmektedir. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karnozin grubunda PMNL ve lenfosit infiltrasyon miktarında istatistiksel olarak anlamlı düşüş vardır. TNF- $\alpha$ 'nın lenfositlerden sentezlenip salınan ve doku inflamasyonunun göstergesi olan molekül olması elde edilen histopatolojik bulgular ile TNF- $\alpha$ 'ya ait biyokimyasal parametrelerin uyumlu olduğunu

göstermektedir. Mevcut bulgular karnozinin TAV'nuna bağlı akciğer hasarında güçlü antiinflamatuvar rolü olduğunu göstermektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tek akciğer ventilasyonu toraks cerrahisinde sık olarak kullanılan ve cerrahi girişimi kolaylaştıran bir yöntemdir. TAV sırasında meydana gelen en önemli fizyolojik değişiklik hipoksemidir. İskemi sonrasında gelişen reperfüzyonla birlikte hücre içine kan akımının artması, SOR 'nin oluşmasına ve inflamasyona bu durum da akciğer dokusunda hasara neden olmaktadır.

Çalışmamızda kullandığımız karnozinin, TAV uygulaması sonrası akciğerin oksidatif stresi üzerine koruyucu etkisi olmamakla birlikte inflamasyonu belirgin miktarda azalttığını saptadık. Ancak TAV süresinin uzatıldığı ek çalışmalar ile karnozinin TAV'na bağlı akciğer hasarı üzerindeki antioksidan etkisinin ortaya konulabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak TAV kullanılarak yapılan göğüs cerrahisi işlemlerinde özellikle TAV ile işlem süresi uzayacak olgularda karnozin kullanımının TAV'nuna bağlı akciğer hasar ve ödemi azaltıcı etki göstereceğini düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. Anesthesia for Thoracic Surgery. In: Clinical Anesthesiology. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ (eds), 3rd ed., New York: Lange Medical Books / McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2002:525-51
2. Torasik Anestezi. “Klinik Anestezi (3. baskı)”de, Kayhan Z ed. Logos Yayıncılık, 2004:216-28
3. Cohen E, Neustein SM, Eisenkraft JB. Anesthesia for Thoracic Surgery . In: Clinical Anesthesia. Paul G Barash (ed), 5th ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006:813-55
4. Brown DL, Davis RF. A simple device for oxygen insufflation with continuous positive airway pressure during one-lung ventilation. Anesthesiology. 1984;61:481-2
5. Carden, D.L. , Granger, D.N.: Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. J . Pathol ., 190, 255-66 (2000)
6. Weyker PD, Webb CAJ, Kiamanesh D, Flynn BC, Lung Ischemia Reperfusion Injury: A Bench-to-Bedside Review, Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia; 17(1) 28–43, 2012
7. Seven A.Candan G. Antioksidant defense systems. Cerrahpaşa J Med. 1996;27:41-50
8. Rock CL. Jacob RA , Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients : vitamin C , vitamin and the carotenoids. J Am Diet Assoc. 1996;96:693-02
9. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya. Mimoza yayımları 1995:3-95
10. Byung PY. Cellular defences against damage from reactive species. Physiological Review 74:139-172,1994

12. Gulewitsch W, Amiradzibi S. Ueber Das Carnosin, Eine Neue Organische Base Des Fleischextractes, Ber. Dtsch. Chem. Ges., 33,1902-1903. (1900)
13. Boldyrev A, Severin SE. The histidine-containing dipeptides, carnosine and anserine: distribution, properties and biological significance. *Adv. Enzyme Regul* 1990; 30,175-194
14. Decker EA, Livisay SA, Zhou S. A re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 65 (7), 766-770
15. Quinn PJ, Boldyrev AA, Formazuyk VE. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications, *Molec Aspects Med* 1992; 13, 379-444
16. Chan WKM, Decker EA, Chow CK, Boissonneault GA. Effect of dietary Carnosine on plasma and tissue antioxidant concentrations and on lipid oxidation in rat skeletal muscle, *Lipids* 1994; 29,461-466
17. Bonfanti L, Peretto P, De Marchis S, Fasolo A. Carnosine – related dipeptides in the mammalian brain., *Prog. Neurobiol.*1999; 59(4), 333-353
18. Roberts PR, Zaloga GP. Cardiovascular effects of carnosine. *Biochemistry (Moscow)* 2000; 65: 856-861
19. Riri DG, Roberts PR, Shouse MY, Zaloga GP. Vazodilatory actions of the dietary peptide carnosine. *Nutrition* 2000; 16: 168-172
20. Adlini G, Facioni RM, Beretta G, Carini M. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: from structural studies to therapeutic perspectives. *BioFactors* 2005; 24: 77-87
21. Guiotto A, Calderan A, Ruzza P, Borin G. Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review. *Current Medicinal Chemistry* 2005; 12: 2293-2315
22. Garibella SE, Sinclair AJ. Carnosine: physiological properties and therapeutic potential. *Age and Ageing* 2000; 29: 207-210
23. Yoshikawa T, Naito Y, Tanigawa T, Yoneta T, Yasuda M, Ueda S, et al. Effect of zinc carnosine chelate compound (Z-103), a novel antioxidant, on acute gastric mucosal injury induced by ischemic-reperfusion in rats. *Free Radic Res Commun* 1991; 14: 289-296

24. Arakawa T, Satoh H, Nakamura A, Nebiki H, Fukuda T, Sakuma H, et al. Effects of zinc L-carnosine on gastric mucosal and cell damage caused by Ethanol in rats. Correlation with endogenous prostoglandin E2. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 559-566
25. Benumof JL. One lung ventilation and hypoxic pulmonary vasoconstriction: implications for anesthetic management. *Anesth Analg.* 1985;64:821-33
26. Wilson RS: *Cardiothoracic and vascular Anesthesia Update* . vol 1. 1st ed. , W.B. Saunders Comp., Philadelphia , ch 16, 1, 1990
27. Benumof JL. Separation of the two lungs (double-lumen tube and bronchial blocker intubation). In: Benumof JL (ed). *Anesthesia for Thoracic Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995; 330-389
28. Benumof JL: Conventional and differential lung management of one-lung ventilation. *Anesthesia for Thoracic Surgery* 1995; 406–432
29. Morgan E, Michail M, Murray. M.J *Klinik Anesteziyoloji Çeviri* 4. Baskı Güneş Tıp Kitabevi Toraks cerrahisi için anestezi sayfa 585-61
30. Dunn Peter F: Physiology of lateral decubitus position and one-lung ventilation. *International Anesthesiology Clinics* 2000; 38: 25–53
31. Benumof JL, Alfery DD: *Anesthesia For Thoracic Surgery*. In *Anesthesia* Editor: Miller RD, fifth edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000, page: 1665–2000
32. Lachmann B: Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med* 1992; 18: 319–321
33. Siemionow M, Arslan E.: Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24, 468-475 (2004)
34. Maxwell , S.R.J. , Lip , G.Y.H.: Reperfusion injury: a review of the pathophysiology , clinical manifestations and therapeutic options , *Int . j .Cardiol.* , 58, 95-117 (1997)
35. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42:225-246

36. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Postischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997 ;14:195-203
37. Monsinjon t, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion : strategies to inhibit complement , *Fundam Clin Pharmacol* 2001 :15: 293-306
38. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007;97: 738-747
39. Woodfin A, Voisin MB, nourshargh S. PECAM-1: a multifunctional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523
40. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury . *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83
41. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 481-497
42. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386
43. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170
44. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83
45. Benumorf JL: Conventional and differential lung management of one-lung ventilation. *Anesthesia for Thoracic Surgery* 1995; 406–432
46. Kazanc MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom.*1997:14-23
47. Sies H, Stahl W , Sundquist AR. Antioksidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene , and other carotenoids.*Ann N Y Acad Sci.* 1992;30 :669:7-20
48. Arıcıoğlu Aysel (1994) : Serbest Oksijen Radikalleri ve Hücre Hasarı *Doktor* 2/3. P:139-242

49. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system : source , biochemistry and role in human disease Am J Med. 1991; 91:14-22
50. Andrade Junior DR, Souza RB, Santos SA, Andrade DR. Oxygen free radicals and pulmonary disease. J Bras Pneumol 2005;31:60-68
51. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza yayınları, Konya 1995
52. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine (3ed). New York : Oxford University Press. 1999:936
53. Bosgelmez I , Güvendik G, Söylemezoğlu T. Hekzavalan Kromun fare beyin dokusunda indüklediği oksidatif stres üzerine taurinin koruyucu ve antidotal etkisi . Kocatepe Tıp Dergisi 2004; 5:63-67
54. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide : A physiologic Messenger. Annals of internal Medicine. 1994;120:227-37
55. Mulligan MS, Hevel JM , Marletta MA , Ward PA. Tissue injury caused by deposition of immune complexes is L- arjinin dependent. Proc Natl Acad Sci. 1991;88:6342-88
56. Ozkan M , Yüksekol I. Nitrik oksit ve akciğerler. Toraks Dergisi 2003;4:88-94
57. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In: Frei B (ed). Natural Antioxidants in Human Health and Disease. Academic Press, San Diego 1994; p. 25 -62
58. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. Jpn J Physiol 1996; 46: 15- 32
59. Ceballos, P.I., Trivier, J.M., Nicole, A. Age- Correlated modification of copper – zinc superoxide dismutase and glutathione related enzyme activities in human erythrocytes. Clinical Chemistry 38-66, 1992
60. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immuneredundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. Med Hypotheses 2007; 68: 1363-1370

61. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991; 42: 125-138
62. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol*. 2008;48:109-114
63. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170
64. Genofre EH, Vargas FS, Teixeira LR, Vaz MAC, Marchi E. Reexpansion pulmonary edema. *J Pneumol* 2003;29:101-6
65. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 2001; 94, 1133-1138
66. Breitbart GB, Dillon PK. Leukopenia reduces microvascular clearance of macromolecules in ischemia-reperfusion injury. *Curr Surg* 1990; 47:8-12
67. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 2001; 94, 1133-1138
68. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 9: 526-533, 1995
69. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 115:81-103, 2007
70. Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C. Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem*. 15: 1236-1248, 2008
71. Mickle DA, Weisel RD. Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol* 9: 89-93, 1993
72. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 54: 375-429, 2002

73. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 41:1819-1828,1995
74. Byung PY. Cellular defences against damage from reactive species. *Physiological Review* 74:139-172,1994
75. Gutteridge JMC, Peterson SK, Segal AW, Halliwell B. Inhibition of lipid peroxidation by the iron binding protein lactoferrin. *Biochem Journal* 199:259-261,1981.
76. Fridovich I. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 23:239-257, 1983
77. Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clinical Chemistry* 37(11):1932-1937, 1991
78. Özüğür K. Tip-2 diyabet tanısı alan hastalarda ilk altı aylık tedavinin oksidatif stres ve carbohydrate deficient transferrin (cdt) üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Türkiye 2007-021
79. Aygün FÖ. Sıçanlarda deneysel gentamisin nefrotoksitesinde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester'in etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, Türkiye 2010
80. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342 -346
81. Stvolinsky SL, Kukley ML, Dobrota D, Matejovicova M, Tkac I, Boldyrev AA. Carnosine: an endogenous neuroprotector in the ischemic brain. *Cell Mol Neurobiol* 1999; Feb;19(1):45-56
82. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, Kurata H, Tsuruoka N, Ono H, Kiso Y, Tanaka T, Matsumura Y. Preventive effect of L – carnosine on ischemia/reperfusion induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003 Aug 8;474(2-3):261-7
83. Baykara B, Tekmen I, Pekcetin C, Ulukus C, Tuncel P, Sagol O, et al. The protective effects of carnosine and melatonin in ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Acta Histochem* 2009;111: 42-51



84. Zalesova ZS, Kuleva NV. The influence of carnosine on oxidation of skeletal muscle actin in vivo and in vitro. *Pathophysiology* 1998;5;119-119(1)
85. Barger G, Tutin F. Carnosine, constitution and synthesis. *Biochem J.* 1918;12:402-7
86. Teufel M, Saudek V, Ledig JP, Bernhardt A, Boularand S, et al. Sequence identification and characterization of human carnosinase and a closely related non-specific dipeptidase. *J Biol Chem.* 2003; 278:6521-31
87. Hipkiss AR. Carnosine, a protective, antiageing peptide?. *The International Journal of Biochemistry&Cell Biology* 1998; 30: 863-868
88. Winnick RE, Winnick T. Carnosine-anserine synthetase of muscle. *Biochim Biophys Acta* 1959; 31:47-55
89. Horinishl H, Grillo M, Margolis FL. Purification and characterization of carnosine synthetase from mouse olfactory bulbs. *J Neurochem* 1978; 31: 909-919
90. Bakardjiev A, Bauer K. Biosynthesis, release, and uptake of carnosine in primary cultures. *Biochemistry.* 2000;65:779-82
91. Harding JW, Margolis FL. Denervation in the primary olfactory pathway of mice. III. effect of enzymes of carnosine metabolism. *Brain Res* 1976; 110, 351-360
92. Ng RH, Marshall FD. Regional and subcellular distribution of homocarnosine-carnosine synthetase in the central nervous system of rats. *J Neurochem* 1978;30,187-190
93. Murphey WH, Patchen L, Lindmark DG. Carnosinase: a fluorometric assay and demonstration of two electroporetic forms in human tissue extracts. *Clin Chim Acta* 1972; 42, 309-314
94. Murphey WH, Lindmark DG, Patchen LI, Housler ME, Harrod EK, Mosovich L. Serum carnosinase deficiency concomitant with mental retardation. *Pediatr. Res.* 1973; 7, 601-606

95. Wolos A, Piekarska K, Glogowski J, Konieckza I. Two molecular forms of swine kidney carnosinase. *Int. J. Biochem.* 1978; 9: 57-62
96. Lenney JF, Kan SC, Siu K, Sugiyama GH. Homocarnosine: a hog kidney dipeptidase with a broader specificity than carnosinase. *Arch. Biochem. Biophys.* 1977;184, 257-266
97. Jackson MC, Kucera CM, and Lenney JF. Purification and properties of human serum carnosinase. *Clin Chim Acta.* 1991;196:193–205
98. Lenney JF, George RP, Weiss AM, Kucera CM, Chan PWH, Rinzler GS. Human serum carnosinase: characterization, distinction from cellular carnosinase, and activation by cadmium. *Clin Chim Acta.* 1982;1 23: 221–31
99. Bate-Smith EC. The buffering of muscle in rigor: protein, phosphate and carnosine. *J Physiol.* 1938;92:336–43
100. Dahl TA, Midden WR, Hartmann PE. Some prevalent biomolecules as defenses against singlet oxygen damage, *Photochem Photobiol* 1988; 47,357-362
101. Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC, Ames BN. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988; May;85(9):3175-9
102. Pavlov AR, Revina AA, Dupin AM, Boldyrev AA, Yaropolov AI. The mechanism of interaction of carnosine with superoxide radicals in water solutions. *Biochim Biophys Acta.* 1993; Jul 11;1157(3):304-12
103. Hipkiss AR, Worthington VC, Himsforth DT, Herwig W. Protective effects of carnosine against protein modification mediated by malondialdehyde and hypochlorite. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1380,46-54
104. Libondi T, Ragone R, Vincenzi D, Stiuso P, Aurjecchio G, Collona G. In Vitro Cross-Linking of Calf Lens  $\alpha$ - Crystallin by Malondialdehyde. *Int. J. Peptide Protein Res* 1994; 44, 342-347
105. Stadtman, ER.: Protein oxidation and aging, *Science*, 1992; 257, 1220-1224

106. Griffith OW. Glutathione and glutathione disulfide, in: H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1985; 521– 529
107. Babizhayev MA, Seguin MC, Gueyne J, Evstigneeva RP, Ageyeva EA, Zheltukhina GA. L- carnosine ( $\beta$ - alanyl- l- histidine) and carbinine ( $\beta$  - alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl – radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. *Biochem J* 1994; 304: 509-516
108. Michaelis J, Hipkiss AR, Panagiotopoulos S. Method for the treatment of the complications and pathology of diabetes. Approved United States Patent 1996 ; 5, (561,110)
109. Mcfarland GA, Holliday R. Retardation of senescence of cultured human diploid fibroblasts by carnosine. *Exp. Celi Res* 1994; 212, 167-175
110. Khandoga A, Enders G, Biberthaler P, Krombach F. Poly(ADP-ribose) polymerase triggers the microvascular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:553-560
111. Atilla Türkyılmaz, Ziya Kurban Yurt, Atilla Eroğlu. Torakotomiye bağlı akut akciğer yaralanmasında biyolojik belirteçler. *Atatürk Üniversitesi Tıp Dergisi* 2006; 38(3): 107-112
112. Licker M, de Perrot M, Spiliopoulos A, et al. Risk factors for acute lung injury after thoracic surgery for lung cancer. *Anesth Analg* 2003;97:1558–65
113. Tekinbas C, Ulusoy H, Yulug E, et al. One-lung ventilation: for how long? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;134:405–10
114. Misthos P, Katsaragakis S, Milingos N, Kakaris S, Sepsas E, Athanassiadi K, Theodorou D, Skottis I. Postresectional pulmonary oxidative stress in lung cancer patients. The role of one-lung ventilation. *European journal of cardio-thoracic surgery* 2005 ;27(3):379-80)
115. Rajanikant GK, Zemke D, Senut MC, Frenkel MB, Chen AF, Gupta R, et al. Carnosine is neuroprotective against permanent focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2007;38: 3023-3031

116. Nicoletti VG, Santoro AM, Grasso G, Vagliasindi LI, Giuffrida ML, Cuppari C, et al. Carnosine interaction with nitric oxide and astroglial cell protection. *J Neurosci Res* 2007;85: 2239-2245
117. Bilge A, Rauf OE, Yüksel Y, Mukadder S, Nezihe TB, Sadun T. Abdominal aorta iskemi-reperfüzyonuna bağlı gelişen akciğer hasarında karnozinin etkisi *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2010;11(3):41-47
118. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *J Food Sci* 2009;74:H259-265

