

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KÜNT TORAKS TRAVMASI İLE AKCİĞER
KONTÜZYONU OLUŞTURULAN RATLARDA
BOSENTANIN AKCİĞER HASARI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Gonca GERÇEL
UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL
Nisan, 2018

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KÜNT TORAKS TRAVMASI İLE AKCİĞER
KONTÜZYONU OLUŞTURULAN RATLARDA
BOSENTANIN AKCİĞER HASARI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Gonca GERÇEL
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Burhan AKSU

İSTANBUL
Nisan, 2018

Yazar Bildirimi

“KÜNT TORAKS TRAVMASI İLE AKCİĞER KONTÜZYONU OLUŞTURULAN RATLARDA BOSENTANIN AKCİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” isimli uzmanlık tezinde Dr. Gonca GERÇEL,

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir
- Tezin hazırlanmasında katkısı olanlar “Bilgilendirme” bölümünde eksiksiz olarak belirtmiştir
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisine alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır

Mart, 2018

Dr. Gonca GERÇEL

İmza:

- Tezin hazırlanmasında katkısı olanlar; Doç. Dr. Burhan AKSU
- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim yoktur.

Dr. Gonca GERÇEL

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, tecrübe ve eğiticiliğiyle her zaman örnek aldığım, disiplinli ve düzenli çalışma anlayışına saygı duyduğum, desteğini hep hissettiğim, sevgili ablam, değerli hocam, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Çiğdem Ulukaya Durakbaşı'ya;

Tez çalışmam sürecinde en büyük desteği gördüğüm, en zora düştüğüm zamanlarda hep yanımda olan, manevi abim, tez danışmanım, hocam Doç. Dr. Burhan Aksu'ya;

Birlikte çalışma şansı yakaladığım ve eğitimimde önemli yer tutan, deneyimlerinden faydalandığım, hoşgörüsü ve saygınlığıyla örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Hamit Okur'a;

Eğitimim süresince, bana her konuda bilgi ve tecrübelerini aktaran değerli uzmanlarım Prof. Dr. Ş. Kerem Özel, Uzm. Dr. Murat Mutuş, Uzm. Dr. Meltem Çağlar, Uzm. Dr. Neslihan Gülçin ve Uzm. Dr. Ersan Uzun'a;

Tez çalışmam sürecinde yardım ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. S. Şeyma Özkanlı ve Prof. Dr. Hafize Uzun'a;

Uzun ve zor bir süreç olan asistanlık dönemimde birlikte çalışmaktan onur duyduğum, iyi-kötü günleri birlikte göğüslediğimiz başta Dr. Erdem Özatman olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve şu anda uzman olan kıdemlilerime;

Saygı, sevgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, klinik ve ameliyathanenin yükünü beraber omuzladığımız başta Sedef Çağlar Güleç ve Serpil Azizağaoğlu olmak üzere tüm hemşire arkadaşlarıma, bilgi işlem ekibimize ve yardımcı sağlık personellerine;

Bu günlere gelmemde çok büyük emekleri olan, beni hep destekleyen, bana inanan ve güvenen canım ailem, annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürler...

Dr. Gonca GERCEL

goncagercel@hotmail.com

Özet

KÜNT TORAKS TRAVMASI İLE AKCİĞER KONTÜZYONU OLUŞTURULAN RATLARDA BOSENTANIN AKCİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Giriş ve Amaç: Akciğer kontüzyonu, künt toraks travmalarında en sık görülen yaralanma türüdür. Bu çalışmada künt toraks travması ile akciğer kontüzyonu oluşturulan ratlarda, bir endotelin reseptör antagonisti olan bosentanın, akciğer hasarı üzerindeki erken ve geç dönem etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 38 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Kontrol grubu dışında kontüzyon ve tedavi gruplarına, anestezi sonrası yüksekte ağırlık düşürme metoduyla tek taraflı akciğer kontüzyonu yapıldı. Randomize olarak 5 grup belirlendi. Gruplar sırasıyla, AK 3: akciğer kontüzyon grubu (3 gün) (n=8), B 3: akciğer kontüzyon + bosentan grubu (3 gün) (n=8), AK 7: akciğer kontüzyon grubu (7 gün) (n=8), B 7: akciğer kontüzyon + bosentan grubu (7 gün) (n=8), K: kontrol grubu (n=6) olarak düzenlendi. Tedavi gruplarına 100 mg/kg/gün olacak şekilde oral yolla bosentan verildi. 3. ve 7. günden sonra gerçekleştirilen sakrifikasyon sonrası elde edilen akciğer dokularında, biyokimyasal olarak malondialdehit, superoksit dismutaz ve nitrik oksit düzeyleri, histopatolojik olarak alveolar ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu, fibrozis, indüklenabilir nitrik oksit sentaz, endotelial nitrik oksit sentaz ve TUNEL boyama ile apoptozis çalışıldı. Çalışma verileri, Kruskal Wallis ve Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılarak birbiriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Grupların histopatolojik incelemelerinde, alveolar ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonu skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$). Alveolar ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonu skorlarının gruplar arası değerlendirmelerinde, AK 3, AK 7, B 3 ve B 7 gruplarının skorlarının, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Bosentan tedavisi alan B 3 ve B 7 gruplarının skorlarında ise, sırasıyla AK 3 ve AK 7 gruplarına göre iyileşme saptandı ($p<0,05$). Grupların fibrozis skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$). Yedinci günde fibrozis gelişimi gösterildi.

AK 7 ve B 7 grupları fibrozis skorları, sırasıyla AK 3 ve B 3 grupları ile karşılaştırıldığında fibroziste anlamlı artış saptandı ($p<0,05$). Bosentan tedavisi alan B 7 grubu ile AK 7 grubu arasında ise, fibrozis skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). TUNEL boyama ile yapılan apoptozis değerlendirmesinde, grupların TUNEL skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$). AK 3 ve AK 7 grupları TUNEL skorları, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,05$). Bosentan ile tedavi edilen B 3 ve B 7 gruplarının TUNEL skorlarının AK 3 ve AK 7 gruplarına göre anlamlı düzeyde düştüğü görüldü ($p<0,05$). Grupların iNOS ve eNOS skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$). iNOS skorlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 grubu iNOS skoru, B 3 ve kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,05$). Bosentan tedavisi alan B 7 grubu ile AK 7 grubu arasında ise, iNOS skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). eNOS sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3, AK 7, B 3 ve B 7 grupları eNOS skorlarının, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Bosentan tedavisi alan B 3 ve B 7 gruplarının eNOS skorları, ilaç tedavisi almayan AK 3 ve AK 7 grupları ile karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grupların NO ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Grupların MDA ve SOD ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$). SOD sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 ve AK 7 grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı ($p<0,05$). İlaç tedavisi alan B 3 ve B 7 grupları, sırasıyla AK 3 ve AK 7 grupları ile karşılaştırıldığında, ilaç tedavisi alan gruplarda sonuçlarda anlamlı bir yükseklik olduğu görüldü ($p<0,05$). MDA sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 ve AK 7 grupları ile kontrol grubu arasında MDA ölçümleri açısından anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$). AK 7 grubu MDA değerleri, AK 3 grubu ile karşılaştırıldığında, AK 7 grubunda MDA değerlerinin belirgin yüksek olduğu görüldü ($p<0,01$). AK 3 ve B 3 grubu olgular arasında MDA ölçümleri açısından anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,05$), bosentan tedavisi alan B 7 grubunda, AK 7 grubu MDA değerlerine göre anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$).

Sonuç: Akciğer kontüzyonu, akciğer dokusunda ilerleyici bir doku hasarına neden olmaktadır. Bosentanın, akut inflamatuvar yanıtı baskıladığı ve

inflamasyona ikincil olarak gelişen oksidatif stresi dolaylı olarak azaltarak doku hasarını önlediği gösterildi. İnsanlarda çeşitli hastalıklarda kullanım alanı olan bosentanın, klinik çalışmalar sonucunda pulmoner kontüzyonun sekonder hasarını önlemede kullanılabilecek bir tedavi ajanı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kontüzyonu, künt toraks travması, deneysel, bosentan, rat

Abstract

INVESTIGATION OF BOSTERAN EFFECTS ON LUNG CONTUSION IN RATS CREATED WITH BLUNT THORACIC TRAUMA

Introduction and Aim: Pulmonary contusion, is the most common type of injury seen in blunt chest trauma. In this study, it was aimed to evaluate the early and late effects of bosentan, an endothelin receptor antagonist, on lung injury in rats with blunt thoracic trauma induced lung contusion.

Materials and Methods: A total of 38 Sprague-Dawley male rats were enrolled to the study. Lung contusion created by dropping weight to unilateral hemithorax in contusion and treatment groups after anesthesia. 5 groups were created randomly. Respectively, the groups were arranged as AK 3: lung contusion group (3 days) (n = 8), B 3: lung contusion + bosentan group (3 days) (n = 8), AK 7: lung contusion group (7 days) (n = 8), B 7: lung contusion + bosentan group (7 days) (n = 8), K: control group (n = 6). Bosentan was given orally to treatment groups at dosage of 100 mg/kg/day. Lung tissue obtained after sacrifice performed after 3 and 7 days. Malondialdehyde, superoxide dismutase and nitric oxide levels were studied biochemically. Alveolar edema, congestion, leukocyte infiltration, fibrosis, inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase, and apoptosis with TUNEL staining were studied histopathologically. Study data were compared statistically using Kruskal Wallis and Bonferroni corrected Mann Whitney U test.

Results: There was a statistically significant difference between alveolar edema, congestion and leukocyte infiltration scores on the histopathological examinations of the groups ($p < 0,01$). The scores of AK 3, AK 7, B 3 and B 7 groups were significantly higher than the control group when the scores evaluated between the groups ($p < 0,05$). The scores of the B 3 and B 7 groups that received bosentan treatment were improved according to the AK 3 and AK 7 groups, respectively ($p < 0,05$). A statistically significant difference was found between the fibrosis scores of the groups ($p < 0,01$). Fibrosis development was shown on the seventh day. A significant increase in fibrosis was detected when the fibrosis scores of the AK 7 and B 7 groups were compared with the AK 3 and B 3 groups, respectively ($p < 0,05$). There was no significant difference in fibrosis scores between B 7 group treated

with bosentan and AK 7 group ($p > 0,05$). In the evaluation of apoptosis by TUNEL staining, there was a statistically significant difference between the TUNEL scores of the groups ($p < 0,01$). TUNEL scores of AK 3 and AK 7 groups were significantly higher than control group ($p < 0,05$). It was seen that TUNEL scores of B 3 and B 7 groups treated with bosentan were significantly lower than AK 3 and AK 7 groups ($p < 0,05$). There was a statistically significant difference between the iNOS and eNOS scores of the groups ($p < 0,05$). iNOS score of the AK 3 group was significantly higher than B 3 and control groups when iNOS scores were compared between the groups ($p < 0,05$). There was no significant difference in iNOS scores between AK 7 group and B 7 group that received bosentan treatment ($p > 0,05$). eNOS scores of AK 3, AK 7, B 3 and B 7 groups were found to be significantly higher than control group when eNOS results were compared between the groups ($p < 0,05$). When eNOS scores of the B 3 and B 7 groups were compared with AK 3 and AK 7 groups, no significant difference was observed ($p > 0,05$). There was no statistically significant difference between the NO measurements of the groups ($p > 0,05$). There was a statistically significant difference between MDA and SOD measurements of the groups ($p < 0,01$). There was a significant difference in AK 3 and AK 7 groups compared to the control group, when SOD results were compared between the groups ($p < 0,05$). It was shown that a significant increase in outcome in groups receiving medication, when the drug treatment groups B 3 and B 7 were compared with AK 3 and AK 7 groups, respectively ($p < 0,05$). When MDA results were compared between the groups, there was a significant difference in MDA measurements between AK 3 and AK 7 groups compared to the control group ($p < 0,05$).

It was seen that MDA values were significantly higher in AK 7 group compared with AK 3 group ($p < 0,01$). There was no significant difference between the groups of AK 3 and B 3 in terms of MDA measurements, but a significant decrease was observed in B 7 group receiving bosentan treatment compared to AK 7 group MDA values ($p < 0,05$).

Conclusion: The lung contusion causes progressive tissue damage in lungs. It has been shown that bosentan prevents tissue damage by inhibiting acute inflammatory response and it reduces oxidative stress secondary to inflammation indirectly. Bosentan, which is used in various diseases in

Abstract

humans, may be a treatment agent that can be used to prevent secondary damage of pulmonary contusion with results of more clinical trials.

Keywords: Lung contusion, blunt thorax trauma, experimental, bosentan, rat

İçindekiler

Şekil Listesi	xiii
Tablo Listesi	xv
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. AKCİĞER	2
2.1.1. Toraks ve Akciğer Anatomisi	2
2.1.2. Akciğer Embriyolojisi	4
2.1.3. Akciğer Histolojisi ve Fizyolojisi	6
2.1.3.1. Kan-Hava Bariyeri	8
2.1.3.2. Dokular ve Akciğerler Arasında Gaz Değişimi	9
2.2. TARİHÇE	10
2.3. AKCİĞER KONTÜZYONU	11
2.3.1. Akciğer Kontüzyonunda Hücresel ve Moleküler Yanıt	14
2.4. TRAVMADA OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER	16
2.5. NİTRİK OKSİT	17
2.5.1. Nöronal ve endoteliyal NOS izoformları (nNOS ve eNOS)	19
2.5.2. İndüklenebilir NOS (iNOS)	19
2.5.3. Nitrik Oksit ve Akciğerler	21
2.5.3.1. Vasküler Etkiler	21
2.5.3.2. Hava yolu etkileri	22
2.5.3.3. İnflamasyondaki etkileri	22
2.6. ANTİOKSİDANLAR	23
2.6.1. Enzimatik antioksidanlar	23
2.6.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar	23
2.6.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)	24
2.6.4. Oksidatif Stresin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler	24
2.7. AKCİĞER KONTÜZYONUNA KLİNİK YAKLAŞIM	25
2.8. ENDOTELİNLER	27
2.9. BOSENTAN	29

GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. ANESTEZİ	31
3.2. TRAVMA MODELİ	32
3.3. DENEY GRUPLARI	33
3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	34
3.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME	35
3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER	36
3.6.1. Doku Süperoksit Dismutaz Düzeyinin Ölçümü	37
3.6.2. Doku Malondialdehit Düzeyinin Ölçümü	37
3.6.3. Doku Nitrik Oksit Düzeyinin Ölçümü	37
3.7. İSTATİKSEL ANALİZ	38
BULGULAR	39
4.1. MAKROSKOBİK BULGULAR	39
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	41
4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	51
4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR	60
TARTIŞMA ve SONUÇ	63
5.1. SONUÇLAR	76
Kaynaklar	77
Etik Kurul Onay Formu	91
Tez Değerlendirme Formu	92

Şekil Listesi

2.1.	Toraks duvarı anatomisi	3
2.2.	Akciğer anatomisi	3
2.3.	Akciğer gelişiminin şematik gösterimi	5
2.4.	Solunum epitelinin ana bileşenlerini gösteren ışık mikroskop fotoğrafı pararozanilin-toludin mavisi boyası (20).....	7
2.5.	Respiratuvar sistem hücre tiplerinin şematik görünümü	8
2.6.	Solunum membranının ince yapısının enine kesiti	9
2.7.	Kontüzyon sonrası alveoldeki değişikliklerin şematik görünümü	12
2.8.	Alveolokapiller membran hasarı ve solunum yetmezliği	14
2.9.	Nitrik oksit sentezlenmesi (L-Arjinin - Nitrik oksit yolu)	18
2.10.	Nitrik oksit vazodilatör etki mekanizması	20
2.11.	Pulmoner arterlerdeki endotelin sisteminin şematik gösterimi	28
2.12.	Bosentanın moleküler yapısı.....	29
3.1.	Travma modeli.....	32
3.2.	NO ölçümü standart eğrisi.....	37
4.1.	Künt toraks travması sonrası ölen sıçanların akciğer bulguları	39
4.2.	Akciğer kontüzyonu grubunda 48. saatte eksitus olan sıçanda yaygın kontüzyon ve plevral efüzyon bulguları	40
4.3.	Akciğer kontüzyonu uygulanıp, 3. günde sternotomi sonrası değerlendirilen akciğer dokularının makroskopik görünümü	40
4.4.	Grupların alveolar ödem skorlarının dağılımı	41
4.5.	Kontrol grubu: kontüzyon uygulanmayan normal akciğer dokusu alveolar boşluk (ince ok), alveolar septa (ok başı), bronşiol (kalın ok) ve damar yapısı (yıldız)görünümü (H&E)(10X)	43
4.6.	AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, yoğun alveolar ödem, konjesyon ve hemoraji (oklar) görünümü (skor 4), bronşiol yapısı (*) (H&E)(20X)	43
4.7.	Grupların konjesyon skorlarının dağılımı.....	44
4.8.	AK 7 grubu: kontüzyondan sonra 7. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon görünümü (skor 2), (H&E)(10X)	45

4.9.	B 7 grubu: bosentan tedavisi alan ratların 7. günde örneklenen akciğer dokusu, daha az yoğunlukta konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon (skor 1), (H&E)(10X)	45
4.10.	Grupların lökosit infiltrasyonu skorlarının dağılımı	47
4.11.	AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, yoğun lökositik infiltrasyon (oklar) görünümü (skor 4), bronşiol yapısı (*) (H&E)(40X)	48
4.12.	B 3 grubu: bosentan tedavisi alan ratların 3. günde örneklenen akciğer dokusu, daha az yoğunlukta konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon (skor 1), (H&E)(10X)	48
4.13.	Grupların fibrozis skoru dağılımı	49
4.14.	Kontrol grubu: kontüzyon uygulanmayan normal akciğer dokusu, MTK ile boyanma yok, alveolar septa (ince oklar), bronşiol (kalın ok) ve damar yapısı (yıldız) görünümü (MTK)(10X)	50
4.15.	AK 7 grubu: kontüzyondan sonra 7. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu. MTK ile boyanan intraalveolar septalarda kalınlaşma ve kollajen birikimi (oklar) (MTK)(40X)	50
4.16.	Grupların TUNEL skoru dağılımı	52
4.17.	Kontrol grubu: normal akciğerde TUNEL boyaması. (skor 0) (TUNEL)(20X).....	53
4.18.	AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirmesi, apoptotik hücrelerin (oklar) görünümü (skor 4), (TUNEL)(40X).....	53
4.19.	B 3 grubu: bosentan tedavisi alan ratlarda 3. günde TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirmesi. TUNEL (+) (ok) hücre sayısında kontüzyon grubuna oranla anlamlı bir azalma mevcut (skor 1),(TUNEL)(40X)	54
4.20.	Ratlarda 7. günde TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirmesi ...	54
4.21.	Grupların iNOS skoru dağılımı	55
4.22.	Kontrol grubu: normal akciğerde iNOS boyaması (iNOS)(20X).....	56
4.23.	AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda iNOS değerlendirmesi kahverengi sitoplazmik iNOS boyanmanın gösterilmesi (oklar) (iNOS)(20X).....	56
4.24.	Grupların eNOS dağılımı.....	58
4.25.	Kontrol grubu: normal akciğerde eNOS boyaması (eNOS)(40X)	58

4.26. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda eNOS değerlendirilmesi kahverengi sitoplazmik eNOS boyanmanın gösterilmesi (oklar) (eNOS)(40X).....	59
4.27. Grupların SOD dağılımı	60
4.28. Grupların MDA dağılımı.....	63

Tablo Listesi

2.1.	Nitrik Oksit Sentezleyen Enzimler	18
2.2.	Nitrik Oksitin Etkileri	22
4.1.	Grupların Alveolar Ödem Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	41
4.2.	Alveolar Ödem Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları.....	42
4.3.	Grupların Konjesyon Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi	44
4.4.	Konjesyon Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları.....	46
4.5.	Grupların Lökositik İnfiltrasyon Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	46
4.6.	Lökositik İnfiltrasyon Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları.....	47
4.7.	Grupların Fibrozis Skoru Sonuçlarının Değerlendirilmesi	48
4.8.	Fibrozis Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları	50
4.9.	Grupların TUNEL Skoru Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	51
4.10.	TUNEL Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları	52
4.11.	Grupların iNOS Skoru Sonuçlarının Değerlendirilmesi	53
4.12.	iNOS Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları	56
4.13.	Grupların eNOS Skoru Sonuçlarının Değerlendirilmesi	57
4.14.	eNOS Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları.....	59
4.15.	Grupların SOD, MDA ve NO Ölçümlerinin Değerlendirilmesi.....	60
4.16.	SOD Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları	61
4.17.	MDA Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları	62

Metin İçinde Geçiş Sırasına Göre

AK.....	Akciğer Kontüzyonu
ARDS	Akut Respiratuar Distress Sendromu
ET	Endotelin
ET-A.....	Endotelin A
ET-B.....	Endotelin B
ET-1.....	Endotelin-1
ET-2.....	Endotelin-2
ET-3.....	Endotelin-3
O ₂	Oksijen
CO ₂	Karbondioksit
MÖ	Milattan Önce
pO ₂	Parsiyel Oksijen Basıncı
SOR.....	Serbest Oksijen Radikali
O ₂ ⁻	Süperoksit Anyonu
OH ⁻	Hidroksil Anyonu
HOCl	Hipoklorik Asit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
NO	Nitrik oksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
NO ₂	Nitrojen Dioksit
NO ₃	Nitrat
SOD.....	Süperoksit Dismutaz
PMNL.....	Polimorf Nüveli Lökositler
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor (<i>Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü</i>)

Kısaltmalar

NOS.....	Nitrik Oksit Sentaz
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS.....	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
nNOS.....	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	Entotelyal Nitrik Oksit Sentaz
cGTP	Siklik Guanidin Trifosfat
cGMP	Siklik Guanidin Monofosfat
iNANC	İnhibitör Nonadrenerjik Nonkolinerjik
eNANC.....	Eksitatör Nonadrenerjik Nonkolinerjik
MDA	Malondialdehit
ATLS.....	Advanced Trauma Life Support (<i>İleri Travma Yaşam Desteği</i>)
FDA.....	Food and Drug Administration (<i>Gıda ve İlaç İdaresi</i>)
PAH.....	Pulmoner Arteryal Hipertansiyon
IACUC	Institutional Animal Care and Use Committee (<i>Kurumsal Hayvan Bakım ve Kullanım Kurulu</i>)
J	Joule (<i>Jul</i>)
NBT.....	Nitro Blue Tetrazolium
Cu	Bakır
Zn	Çinko
NAC	N-asetilsistein
HCL.....	Hidroklorik Asit
HYP.....	Hidroksiprolin

GİRİŞ ve AMAÇ

Travmalar, tüm dünyada önemli halk sağlığı problemlerinden olup, özellikle genç nüfusta önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Genel vücut travmasına bağlı ölüm nedenleri arasından toraks travmaları, kafa travmalarının ardından ikinci sırada yer alır (1). Toraks travmaları, tüm travmaların %10-15'ini oluşturmakta olup, mortalite %10-25 arasında değişmektedir (2, 3).

Akciğer kontüzyonu (AK), toraks yaralanmalarının %30 ile %75'inde ortaya çıkan ve en sık görülen yaralanma türüdür (4). En sık nedeni künt travmadır. AK' nin sebebi travmaya göğüs duvarının direnç göstermesi ve absorbe ettiği kinetik enerjiyi akciğere iletmesidir. AK patofizyolojisi, inflamasyon, artmış alveolo-kapiller permeabilite, pulmoner ödem, ventilasyon/perfüzyon dengesizliği ve kompliyans kaybını içermektedir (5). AK' de ilk hasar, travma sonucu oluşur. İkincil hasar ise erken dönemlerden itibaren gelişmeye başlar. İkincil hasara oksidatif stres ve inflamatuvar cevap neden olur (6, 7). AK' de aşırı inflamatuvar reaksiyon gelişmesi, pnömoni, akut akciğer hasarı ve akut respiratuvar distress sendromu (ARDS) gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (8). Akut akciğer hasarı, ARDS ve pnömoninin önlenmesi, kontüzyon sonrası gelişen inflamatuvar yanıtın etkilerinin ortaya konulabilmesi ve geri döndürülebilmesine bağlıdır.

AK ile ilgili tanımlanan bu patofizyolojik mekanizmalardan yola çıkılarak tedavi edici etkisi olduğu düşünülen pek çok ajan deneysel hayvan modellerinde denenmiş ve olumlu sonuçlar yayınlanmıştır (9).

Endotelin (ET), damar düz kaslarındaki endotelde yapılan, bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküldür. İnflamasyon, düz kas proliferasyonu ve fibrozis oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-

B) olmak üzere başlıca iki reseptörü vardır (10). Bosentan ET reseptörlerinin mikst ve kompetitif bir antagonistidir. Bosentan, ET reseptörlerini bloke ederek antiinflamatuvar, antioksidan ve antiproliferatif etki göstermektedir (11).

Bu çalışmada, künt toraks travması ile AK oluşturulan ratlarda bosentanın akciğer hasarı üzerindeki, erken ve geç dönem etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

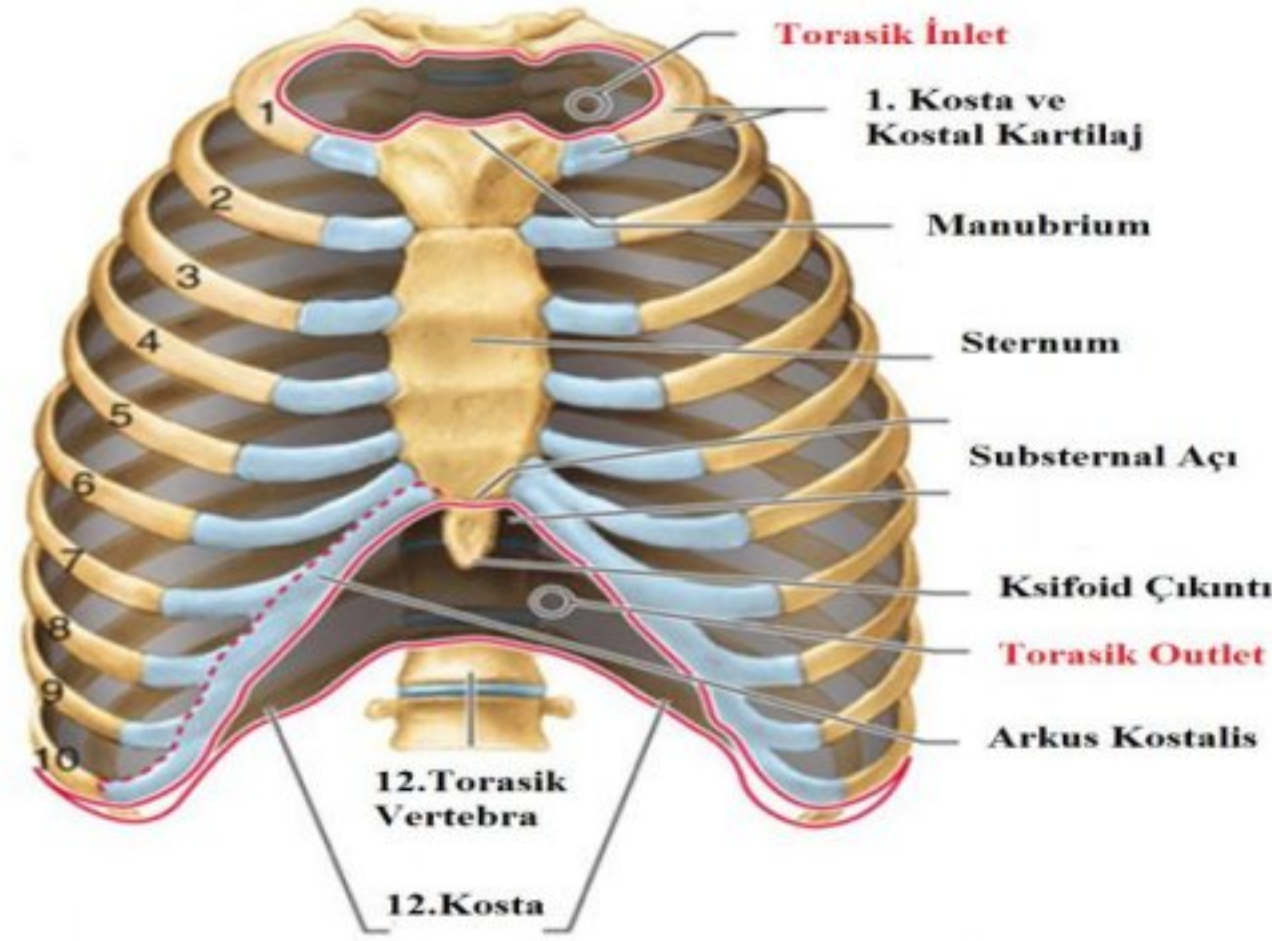
2.1. AKCİĞER

2.1.1. Toraks ve Akciğer Anatomisi

Toraks, akciğer ve kalbi içeren, gövdenin üst tarafında boyun kökü ile diyafram arasında kalan vücut bölümüdür. Bu yapıyı çevreleyen kafese ise toraks duvarı adı verilir. Toraks boşluğunu oluşturan kemik yapılar; vertebralar, kotlar ve sternumdur.

Birinci kaburga, skapula ve klavikula altında korunaklı bir halde kontrolateral birinci kaburga ile torasik inlet oluşturur. Torasik outlet ise 6, 7, 8, 9 ve 10. kaburgaların anteriorda kıkırdak yapılarının birleşmesi ile oluşan kostal marjinler, posteriordan 11, 12. kosta ve torakal 12. vertebra hizasında diyaframın oluşturduğu yapıdır (Şekil 2.1).

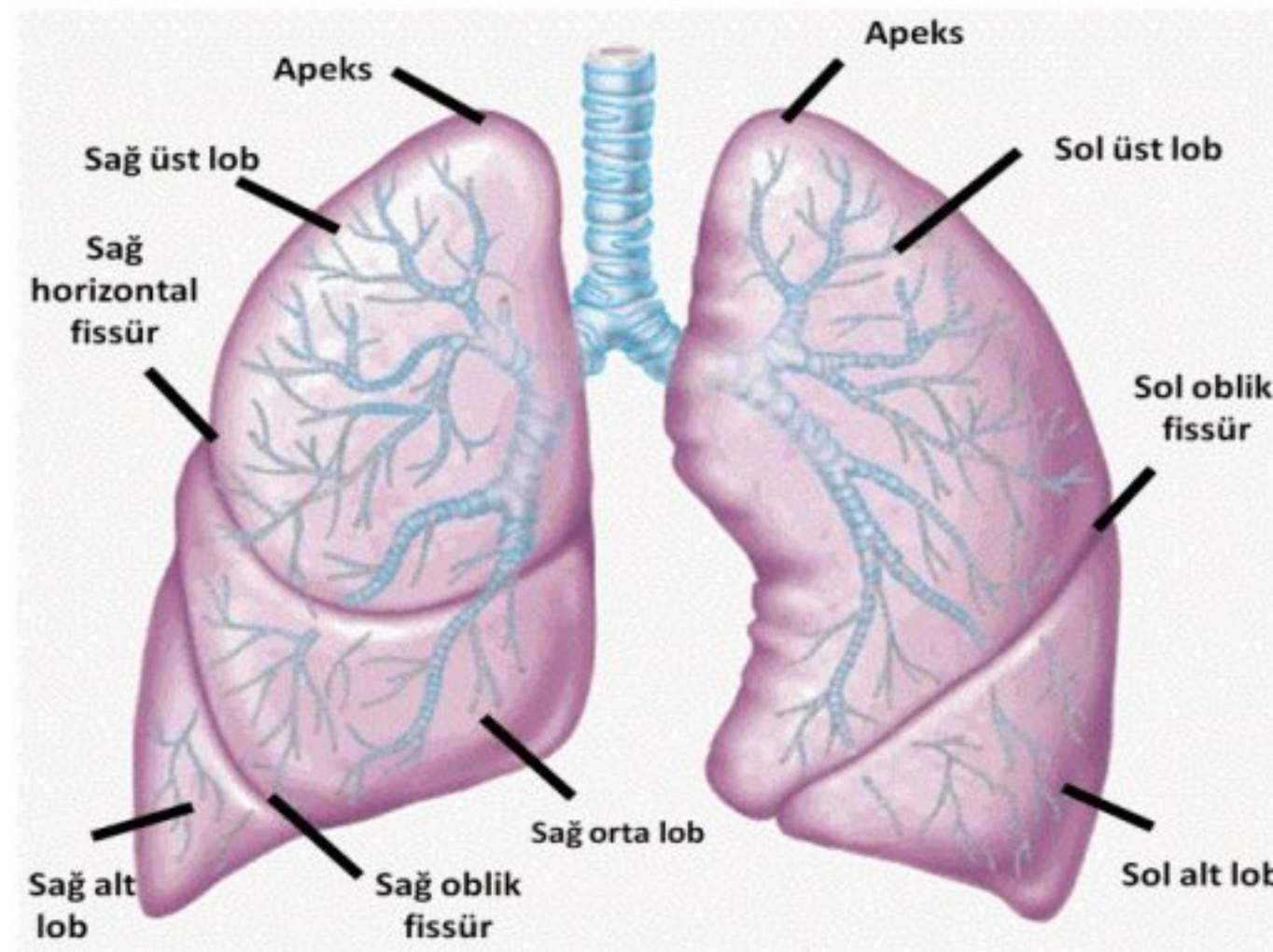
Kaburgalar arka tarafta vertebraların korpus ve transvers süreçleri ile baş ve boyun kısımları aracılığı ile sıkı bir bağlantı halindeyken ön tarafta korpus sterni ile kostakondral ve sternokondral bileşkeleri oluşturarak daha esnek ve yumuşak bir birleşim göstermektedir. Toraks esnekliğiyle akciğerin kompliyansına yardımcı olmaktadır. Toraks içi organları koruyan bilateral on iki adet kaburga, akciğer kompliyansı için kova sapı hareketi yaparak toraks çapını genişletmektedir (12).



Şekil 2.1. Toraks duvarı anatomisi

(www.alignedforlife.co.uk'dan (13) uyarlanmıştır)

Akciğerler, göğüs boşluğu içinde yer alır ve toraks içerisinde hareket edebilen bir organdır. Medialde kalp ve trakea ile tespit edilmiştir. Diyaframdan klavikulanın biraz üzerine kadar uzanır. Sağ akciğer 3 lobdan, sol akciğer 2 lobdan oluşur. Akciğerin, sağ ve sol lobda oblik ve sağ lobda horizontal fissürü bulunur (Şekil 2.2). Hilus, akciğerin bronşlarının ve damarların girip çıktığı mediastinal yüzeydeki bölgedir. Akciğerlerin üzerini visseral plevra ve parietal plevra zarları örter (14).



Şekil 2.2. Akciğer anatomisi

(www.legacy.owensboro.kctcs.edu'dan (15) uyarlanmıştır)

Akciğerlerin mediastinal yüzünde hilus pulmonis bulunur. Buradan sağ ve sol ana bronşlar, sinirler, ana pulmoner damarlar ve lenf damarları geçmektedir. Bu yapıların bağ dokusu ile sarılarak oluşturduğu yapıya radiks pulmonis denir.

Pulmoner arter ve venler gaz değişimini, bronşial arter ve venler ise akciğer parankimin beslenmesini sağlar. Sağ ve sol pulmoner arter, sağ ventrikülden çıkan pulmoner trunkusun dallarıdır. Sağ ve sol birer çift halindeki pulmoner venler sol atriuma dökülür. Bronşial venler sağda azigos venine, solda hemiazigos venine veya sol superior interkostal vene drene olur.

Akciğerlerin yüzeysel lenfatikleri visseral plevra altı ve interlober septumda, derin lenfatikleri damar ve bronş çevresindeki lenfatikler yoluyla hilusa drene olurlar.

Akciğerlerin sempatik inervasyonu 5. torasik gangliondan, parasempatikleri vagus sinirinden gelir. Periyetal plevra, interkostal ve frenik sinirler yoluyla, ağrı ve dokunma duyusunu taşıyan, somatik duyuşal inervasyon alır (14).

2.1.2. Akciğer Embriyolojisi

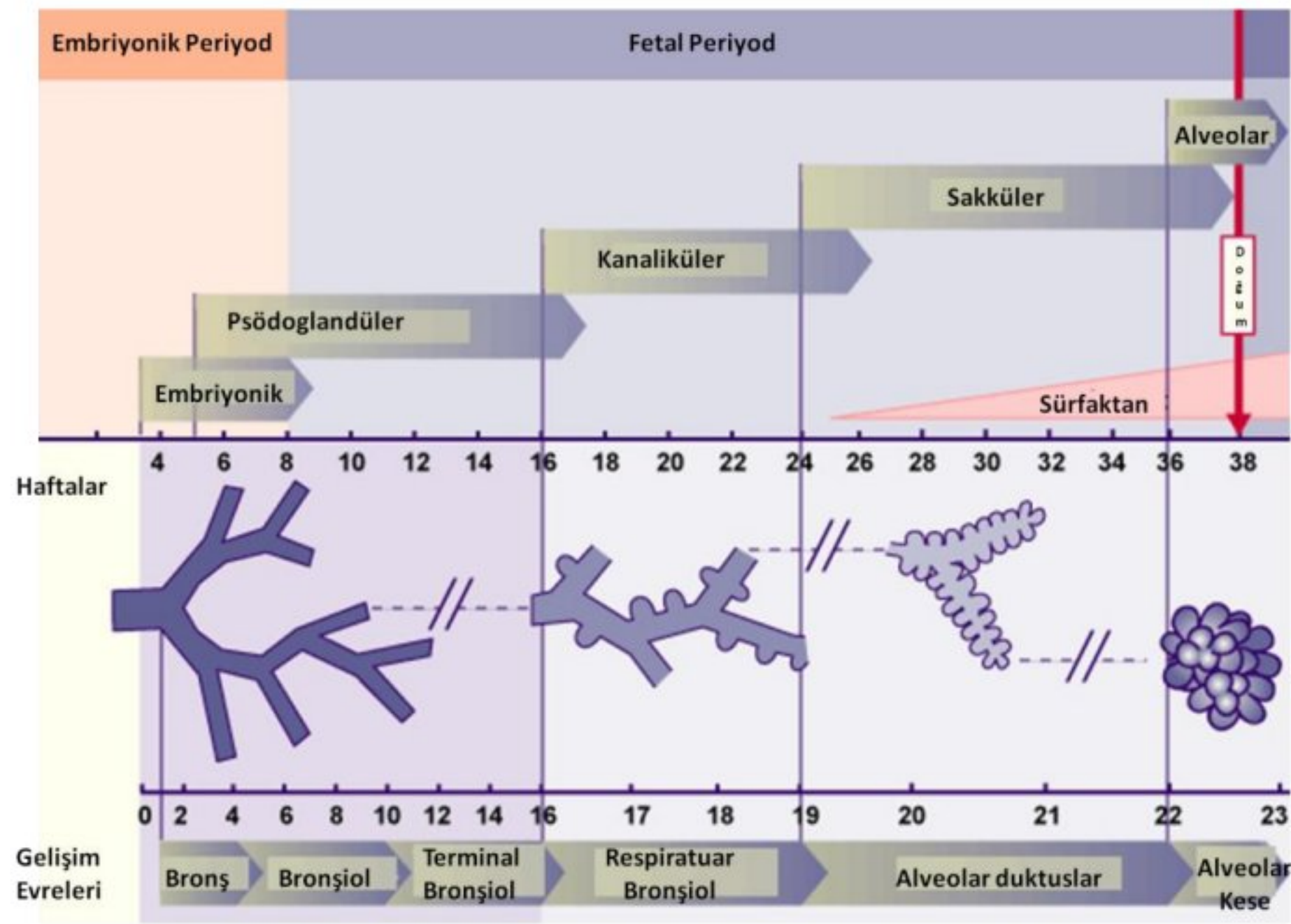
Embriyo yaklaşık olarak 4 haftalık olduğunda, ön bağırsağın ventral duvarından respiratuvar divertikulum (akciğer tomurcuğu) bir çıkıntı olarak gelişmeye başlar. Akciğer tomurcuğunun yerleşim yeri bu bölgedeki bağırsak tüpünün endoderminde eksprese edilen transkripsiyon faktörü TBX4 ile belirlenir. TBX4, tomurcuğun oluşumunu, büyümesini ve akciğerlere farklılaşmasını uyarır. Bu yüzden larinks, trakea, bronşlar ve akciğerlerin epiteli endodermal kökenlidir. Larinks, trakea ve akciğerlerin kıkırdak, kas ve bağ dokusu ise ön bağırsağı çeviren splanknik mezodermden gelişir.

Başlangıçta, akciğer tomurcuğu ön bağırsağa açılır. Kısa bir zaman sonra ilkel farenksten ayrılır ve ayrıldığı bölgede uzunluğuna katlantılar meydana gelir. Bu katlantılara "trakeoözefajiyal katlantılar" adı verilir. Bu katlantılar birbirlerine yaklaşarak trakeoözefajiyal septum adı verilen bir yapıyı meydana getirir. Bu septum, ön bağırsağın ön kısmını ventral (trakea ve akciğer tomurcukları) ve dorsal parçaya (özofagus) ayırır (16).

Ön bağırsağın bölünmesi sırasında, akciğer tomurcuğu, trakea ve 2 lateral çıkıntı olan bronşiyal tomurcukları oluşturur. 5. haftanın başında bu tomurcuklar genişleyerek sağ ve sol birincil bronşu oluşturur. Sağdaki daha sonra 3, soldaki 2 tane ikincil bronşu oluşturur. Bu da gelecekte sağda 3 akciğer lobu, solda ise 2 lob oluşacağını gösterir.

Daha ileri gelişim sırasında sekonder bronşlar birbiri ardına dikotomik bölünme (ikiye çatallanma) ile, sağ akciğerde 10 tane, sol akciğerde ise 8 tane üçüncül (segmental) bronşa dallanarak erişkin akciğerlerinin bronkopulmoner segmentlerini oluştururlar. Altıncı ayın sonunda yaklaşık olarak 17 tane dikotomik bölünme gerçekleşir. Bronşiyal ağacın son şekli oluşmadan önce postnatal dönemde ek olarak 6 tane daha bölünme olacaktır (16).

Fetal solunum hareketleri doğum öncesi dönemde başlar. Bu hareketler amniyotik sıvı aspirasyonuna neden olur ve akciğer ve solunum kaslarını uyarıcı etki yapmaktadır. Fonksiyonel solunum ise doğum ile akciğerlere hava girmesiyle başlar. Akciğer parankiminin embriyogenezi 5 önemli safhada (Şekil 2.3) incelenirken bu safhalar birbirlerinden zaman olarak keskin sınırlarla tam olarak ayrılamazlar (16).



Şekil 2.3. Akciğer gelişiminin şematik gösterimi

(www.respiratory-system.weebly.com/lungs'dan (17) uyarlanmıştır)

1. Embriyonik Evre (0-5 hafta): Ön bağırsaktan akciğer tomurcuklarının oluştuğu evredir.

2. Psödoglandüler Evre (5-16.hafta): Akciğer hava yollarının farklılaştığı dönemdir. Mezenkim, epitel, düz kas ve bağ dokusuna farklılaşır. İletim tipi hava yolları tamamlanır. Terminal bronşioler oluşur. Akciğerin solunum bölümünü oluşturan respiratuar bronşioler ve alveollere ait yapı yoktur. Kapiller ağ gelişmemiştir. Fetus bu dönemde doğarsa ölür.

3. Kanaliküler Evre (16-26.hafta): Bu evrede akciğerin gaz alışverişini sağlayan bölümleri oluşur ve pulmoner damarlar gelişir. Kanaliküler evrenin başlangıcında akciğerler basit bir hava boşluğundan ibarettir. Terminal bronşiyoller, 2 ya da daha fazla respiratuvar bronşiyole onlar da 3-6 kadar alveolar kanala dallanırlar. Gebeliğin 20. haftasında hava boşluklarını döşeyen ilkel epitelyal hücreler farklılaşmaya başlar. Bir grup epitelyal hücrenin sitoplazması incelir, hava-kan yüzeyi daralır ve gaz değişiminden sorumlu olan tip 1 pnömositler ortaya çıkar. başka bir epitelyal hücre grubundan da sürfaktan sentezi ile ilişkili olan lamellar cisimcikler belirir. Bu hücreler, daha sonra sürfaktan üretiminden sorumlu olan, tip 2 pnömositlerin öncüleridir. Bu periyodun sonunda doğan fetüslerin alveol duvarları incelendiğinden ve bol damarlı olduğundan yoğun bakım uygulanırsa yaşama şansları vardır. Ancak solunum sistemi yanısıra diğer sistemleri de immatür olduğundan sıklıkla ölüm görülür.

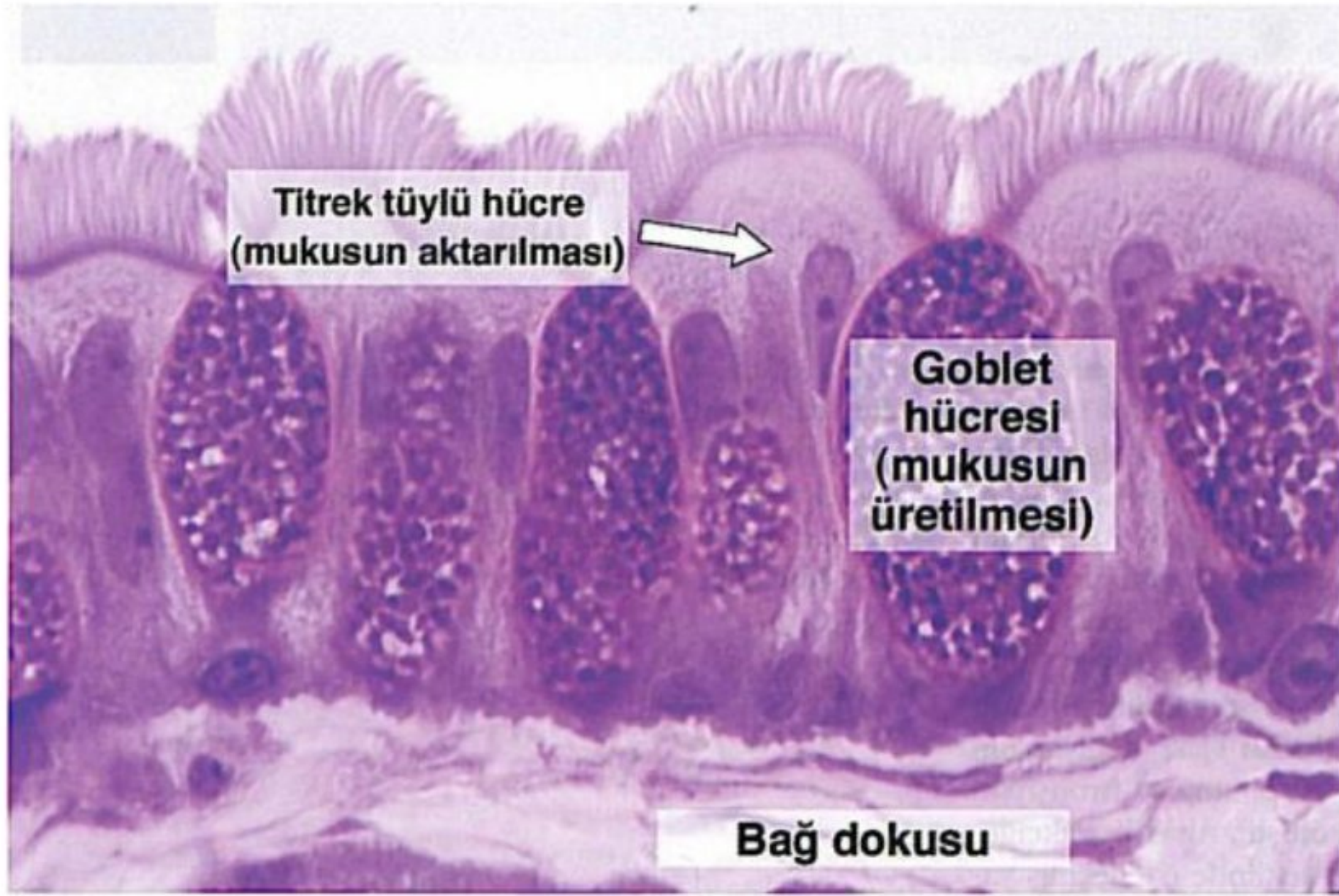
4. Sakküler Evre (Terminal Kese Evresi) (26.hafta-Doğum): Çok sayıda terminal kese (primitif alveol) gelişir. Terminal kese epiteli çok incelir ve altına kapillerler yerleşir. 24. haftada terminal keselerin büyük bölümü tip I pnömositlerle döşelidir. Tip II hücreler 26. haftada sürfaktan salgılamaya başlar. 32. haftada sürfaktan miktarı yeterli düzeye erişir. Lenf damarları da bu dönemde ortaya çıkar. Bu dönemde gaz alışverişi mümkündür.

5. Alveoler Evre (32.hafta-8 yaş): Doğumdan önce terminal kese sayısı artar. Bebek doğduğunda alveoller yeterinde olgunlaşmamıştır ve yaklaşık 20 milyon primitif terminal keseye sahiptir. Olgun alveoller en erken yaklaşık 5 hafta sonra ortaya çıkarlar. Yenidoğan bebeklerin alveol sayısı, yetişkin alveol sayısının %8'i kadardır. 8 yaşında yaklaşık 300 milyon ile yetişkin seviyesine ulaşır. Çoğalmanın en hızlı olduğu zaman dilimi 4 yaş öncesidir. 8 yaşından sonra alveol sayısında bir değişiklik olmazken alveollerin boyutları artar (18).

2.1.3. Akciğer Histolojisi ve Fizyolojisi

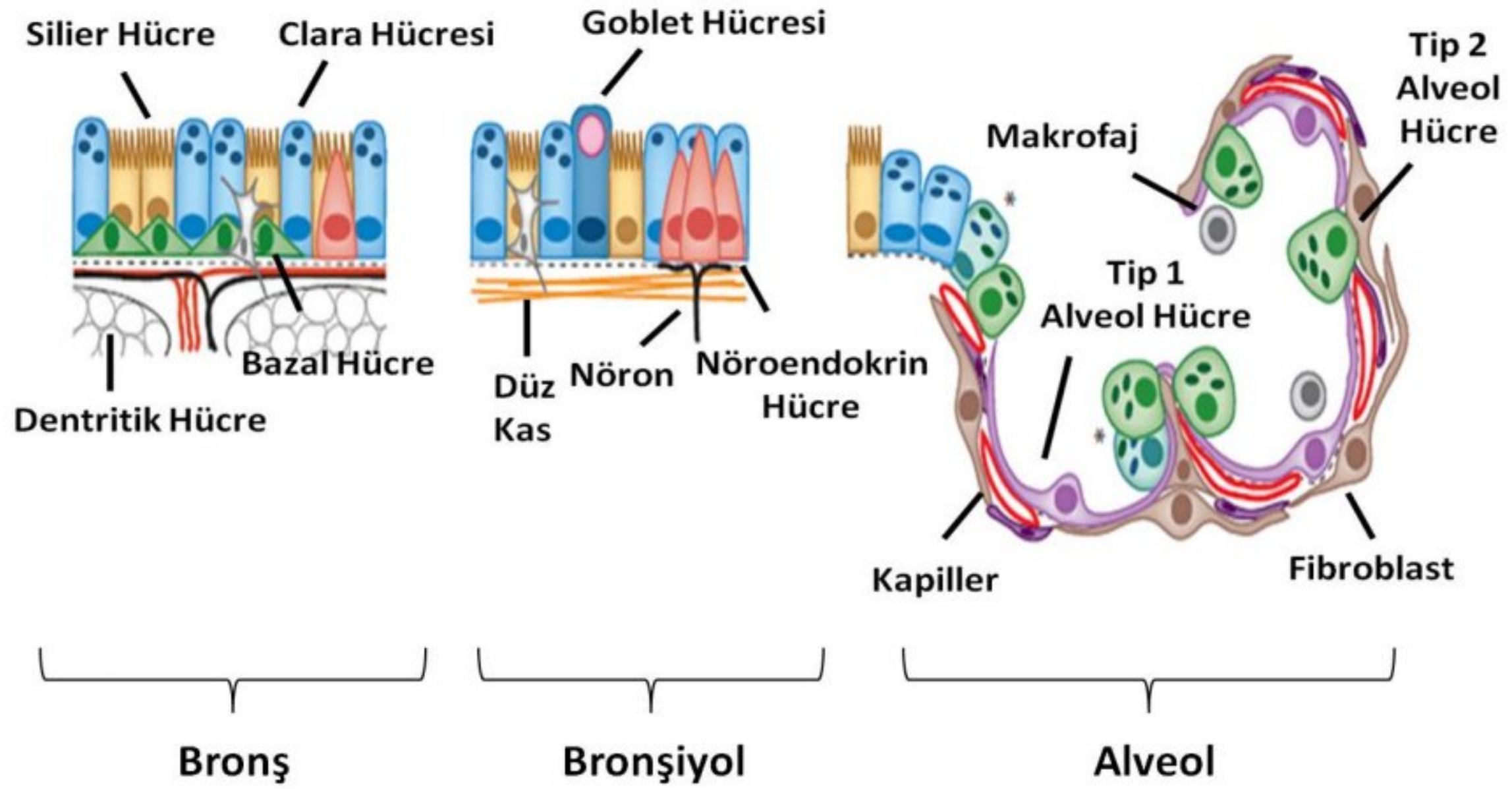
Solunum sistemi akciğerler ve akciğerleri dış ortama bağlayan solunum yollarından oluşur. İletici bölüm ve solunum bölümü olarak ikiye ayrılır. Solunum bölümü, gaz değişiminin gerçekleştiği respiratuvar bronşiyoller, alveol kanalları ve alveolleri içerir. İletici bölüm, kemik, kıkırdak ve fibröz elementlerle desteklenir. İletici bölümün büyük bir bölümü goblet

hücrelerinden zengin prizmatik titrekt tüylü solunum epiteli ile döşelidir (Şekil 2.4). Tipik solunum epiteli; prizmatik titrekt tüylü hücreler, müköz goblet hücreleri, fırça hücreleri, bazal (kısa) hücreler ve küçük granüllü hücreler olmak üzere beş tip hücreden oluşur (19).



Şekil 2.4. Solunum epitelinin ana bileşenlerini gösteren ışık mikroskop fotoğrafı pararozanilin-toludin mavisi boyası (20)

Bronş epiteli, silier, goblet, bazal, nöroendokrin ve Clara hücrelerini içermektedir (Şekil 2.5). Silier hücreler, epitel yüzey çevresinin korunmasını sağlayan perisilier sıvı tabakanın düzenlenmesini, temizlenmesini sağlayarak çevresel zararlılara karşı doğal immünitede ilk adımı oluşturur. Goblet hücreleri, epitelin apikal yüzeyine mukus salgılayan granüler yapıda hücrelerdir. Clara hücreleri, non-silier sekretuar hücreler olup havayollarının çevresel zararlardan korunmasını sağlar (21).



Şekil 2.5. Respiratuvar sistem hücre tiplerinin şematik görünümü ((22)'den uyarlanmıştır)

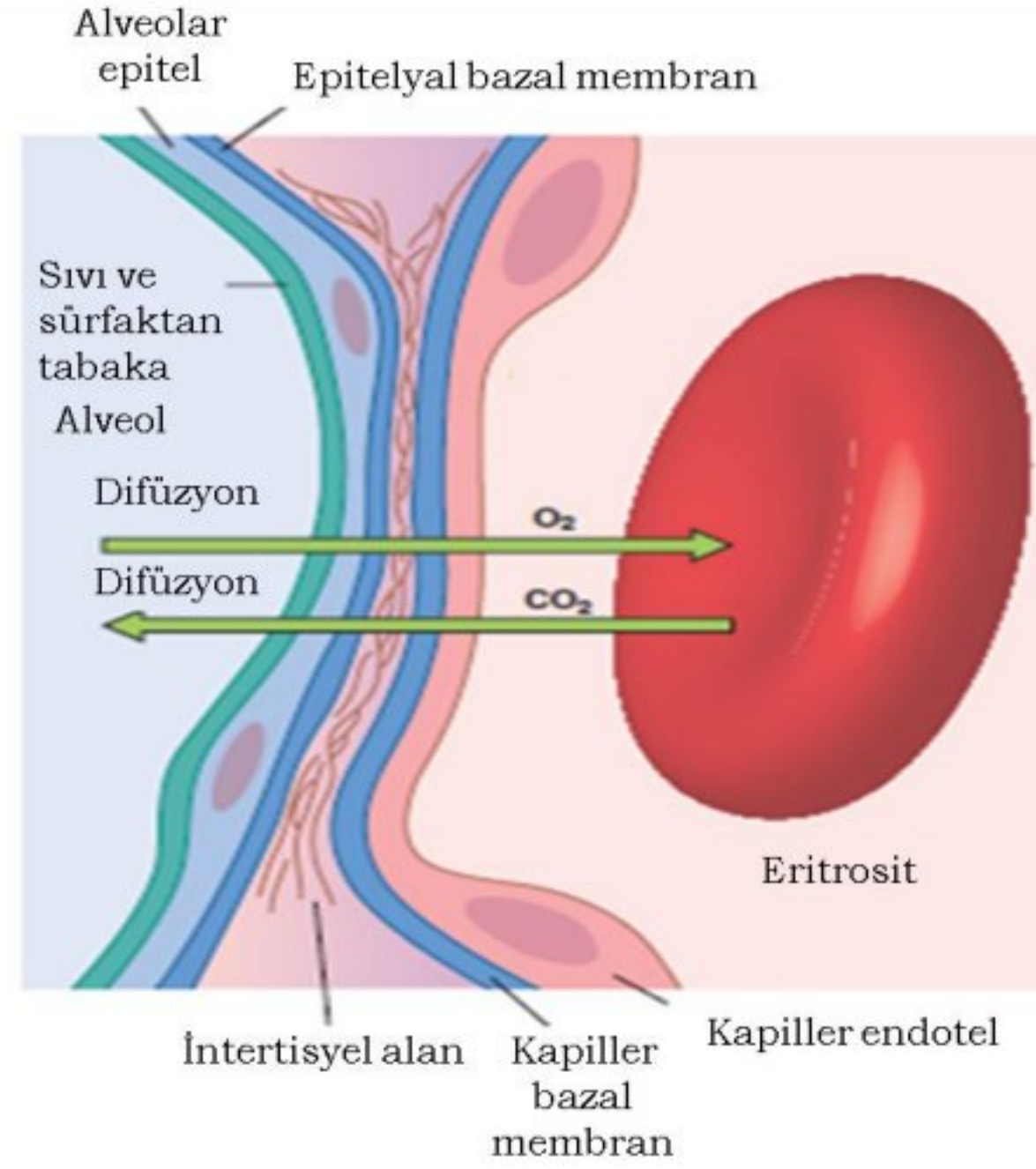
Alveolar epitel, Tip I ve Tip II alveolar epitelyal hücrelerden (Tip I ve Tip II pnömosit olarak da adlandırılır) oluşur; bu hücreler sırasıyla alveol yüzeyinin % 96 ve % 4'ünü döşer. Pulmoner sürfaktan Tip II alveol hücrelerinden sentezlenir. Sürfaktan, yüzey gerilimini azaltarak alveollerin kollapsını önler. Tip II pnömositler, sürfaktan üretme ve fagositoz etme dışında kendilerini ve tip I pnömositleri rejenere etmek için mitoz geçirirler (19).

Alveolar makrofajlar (toz hücreleri), alveolar lümendeki ve interalveolar boşluklardaki partikülleri fagosit ederler. Monositler, pulmoner interstisyuma göç ettiklerinde alveolar makrofajlara dönüşürler ve tip I pnömositler arasına ve alveolar lümene göç ederler. Bu hücreler, toz ve bakterileri fagosit ederek akciğerler içinde steril bir çevrenin devamını sağlarlar (19).

2.1.3.1. Kan-Hava Bariyeri

İnteralveolar septumun oksijen-karbondioksit (O_2 - CO_2) değişimini yaptığı bölgedir. İnteralveolar septumun, gaz değişimi yapıldığı için, kan-gaz bariyerleri olarak adlandırılan en ince bölgesidir. Burada tip I pnömositler, kapiller endoteli ile tam olarak temas eder. İki bazal lamina (alveolar epitel ve kapiller laminaları) kaynaşır ve gaz değişimi için uygun alan oluşturur. Bu bölge aşağıdaki yapılardan oluşur:

- Surfaktan ve tip I pnömosit
- Tip I pnömosit ve kapiller endotelin ortak kaynaşmış bazal laminası
- Sürekli kapillerin endotelyal hücreleri (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Solunum membranının ince yapısının enine kesiti ((23)'den uyarlanmıştır)

2.1.3.2. Dokular ve Akciğerler Arasında Gaz Değişimi

Nefes alma sırasında, O_2 içeren hava, akciğerin alveolar boşluklarına girer. Tüm alveollerin toplam yüzey alanı 140 m^2 ve tüm kapillerlerdeki toplam kan hacmi, herhangi bir anda 140 cc 'den fazla olmadığından, gazların difüzyonu için mevcut boşluk çok fazladır. Oksijen, kan-gaz bariyeri içinden geçerek kapillerlerin lümenine girer ve hemoglobinin "hem" kısmına bağlanarak oksihemoglobini oluşturur. CO_2 , kanı terkederek kan-gaz bariyeri içinden alveol lümenine difüze olur ve CO_2 'den zengin hava olarak nefes verilir. O_2 ve CO_2 'in kan-gaz bariyerini karşılıklı geçişi, bu gazların kan ve alveolar lümen içindeki kısmi basınçlarına yanıt olarak pasif difüzyonu nedeniyledir. Difüzyon hızını belirleyen faktörler başlıca membran kalınlığı, membran yüzey alanı, membran içindeki gazın difüzyon katsayısı ve membranın iki tarafı arasındaki gaz basınç farkı olarak sıralanabilir (23). Solunum membran kalınlığını etkileyecek veya membranda fibroze yol açabilecek bazı akciğer hastalıkları ile göğüs travması sonrasında gelişebilen alveoler kanama, intertisyel veya alveolar ödem sonucunda akciğerde gaz değişimi ciddi şekilde bozulabilmektedir.

Travma vücudun mekanik, kimyasal, termal ve elektriksel enerjiye maruz kalması sonucu yaralanması olarak tanımlanmaktadır. Yaşamın ilk 4 dekatında 1. ölüm nedeni travmadır ve bu ölümlerin yaklaşık %20-25'i toraks travmalarına bağlıdır (24). Hastaneye kabul edilen göğüs travmalarında mortalite oranı %4-12'dir. Bu oran ek bir organ sistemi yaralanmışsa %12-15, çoklu organ yaralanması varsa %30-35'e kadar yükselmektedir (24).

Travmalar basit olarak künt ve penetran olarak sınıflandırılır. Toraks travmalarının %70'ini künt, %30'unu penetran yaralanmalar oluşturmaktadır (25). Künt travmaların ise çoğu trafik kazaları sonucu gelişmektedir. Künt toraks travmalarının çoğunda travmanın şiddeti ile orantılı olarak diğer sistemlere ait organlarda da hasar ortaya çıkabilir.

Toraks travması ile birlikte bulunan yaralanmalar sıklık sırasına göre; ekstremité kırıkları (%54), kafa travması (%44), batin yaralanmaları (%21), pelvis kırıkları (%12) ve spinal yaralanmalar (%6)'dır (26).

Çocukluk çağı yaralanmalarının çoğu künt travmalar sonucu oluşur. Bu künt travmaların %10-30'unu toraks travmaları oluşturmaktadır (1). Çocuklarda toraks travmaları kafa travmalarından sonra ölüme en çok yol açan travma sebebidir (27) (28).

Toraks travmaları, basit izole kot fraktüründen, yaşamı tehdit eden major vasküler yaralanmaya kadar geniş bir spektrum içerir. Künt toraks travması sonrası en sık görülen göğüs duvarı patolojisi kot fraktörü iken, intratorasik patoloji ise AK'dir (29).

2.2. TARİHÇE

Göğüs travmasıyla ilgili en eski bilgi, milattan önce (MÖ) 1600 yıllarında eski Mısır' da yazılmış olan Edwin Smith papiruslarıdır (30). Bu, göğüs yaralanmaları ile ilgili tarihteki ilk yazılı eserdir ve göğüs travması ile ilgili üç olgudan bahseder. MÖ 950 tarihinde Truva kuşatması sırasında bir yaralıda mızrağın toraksa saplandığı ve mızrağın çekilmesi ile masif kanama ve ölüm tarif edilmiştir. Galen' e ait yazılarda gladyatörlerin göğüs yaralanması ve sargı-bandaj tedavileri ile ilgili bilgiler bulunmaktadır (30). Hipokrat MÖ 5. yüzyılda kot kırıklarına bağlı ortaya çıkan hemoptizileri tanımlamıştır. Hemoptizinin olmasının basit kot kırığından daha ciddi bir

patoloji olduğunu, akciğer dokusunda da bir yaralanma olabileceğinin belirtisi olduğunu ifade etmiştir (30).

Göğüs duvarı travmasının eşlik etmediği ilk akciğer parankim hasarı, 1761'de tanımlanarak Morgagni tarafından bildirilmiş ve İngiliz literatüründe bununla ilgili ilk görüşler R.W. Smith tarafından 1840'da yayınlanmıştır (31). Kemik yapıda yaralanma olmaksızın ortaya çıkan akciğer hasarı, gençlerdeki göğüs duvarının elastikiyeti ile ilişkilendirilmiştir. Hareket eden bir at arabasına atlamaya çalışan ve üzerinden tekerlek gecen 16 yaşında bir gencin otopsisinde, eksternal göğüs duvarı travması olmamasına rağmen her iki akciğerde ileri derecede kontüzyon tespit edilmiştir (32).

Ondokuzuncu yüzyılda atılan önemli bir adım, göğüsün kapalı olarak drene edilmesidir (33). Sualtı drenaj yöntemi 1875 yılında ilk kez Playfair tarafından uygulanmıştır (33). Savaşlarda etkili patlayıcıların kullanıldığı yirminci yüzyıl başlarına kadar akciğer travması hakkında oldukça az sayıda yazılı kaynak mevcuttur (34, 35). Birinci Dünya Savaşı süresince önemli sayıda savaş alanı ölümlerinde eksternal travma bulgusu tespit edilmiş ve postmortem çalışmalarda akciğer hemorajisi gösterilmiştir (36, 37). Birinci Dünya Savaşı yıllarında hemotoraks tedavisi için torasentez yaygın olarak kullanılmıştır. Sonraki yıllarda hemotoraks olgularında torakotomi ile pıhtılar temizlenmeye başlanmış ve İkinci Dünya Savaşı yıllarında gecikmiş hemotoraks olgularında dekortikasyon yapılmaya başlanmıştır (33). Bu süreçte yapılan çalışmalar darbe etkisinin majör klinik yansıması olarak AK' yı tanımlamıştır (38). Bu kavram, İkinci Dünya Savaşı süresince çeşitli patlayıcılar ile farklı mesafelere yerleştirilen hayvanlarla oluşturulan çalışmalar ile teyit edildi (39, 40).

2.3. AKCİĞER KONTÜZYONU

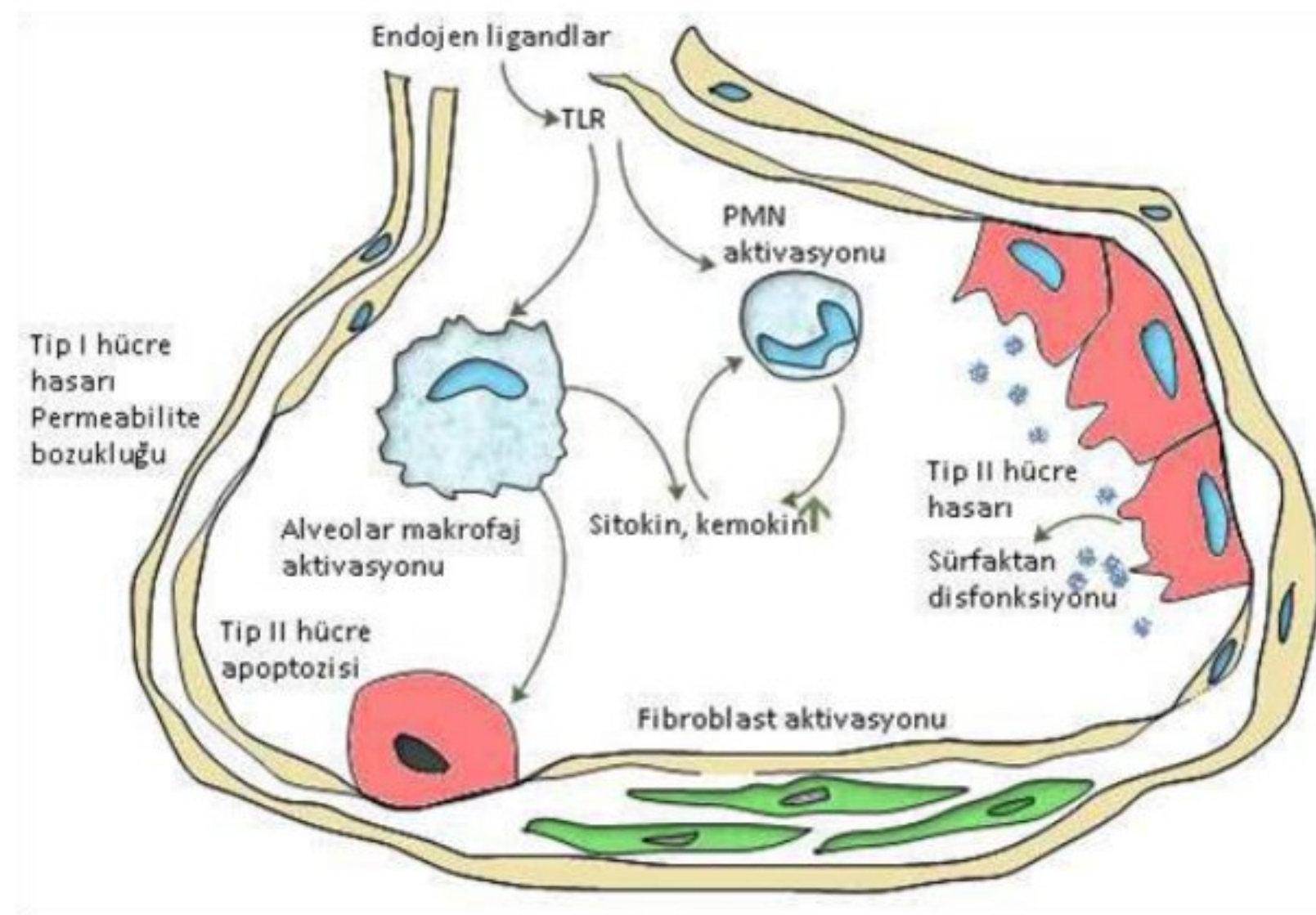
AK, toraks yaralanmalarının %30 ile %75'inde ortaya çıkan ve en sık görülen yaralanma türüdür (4). En sık nedeni künt travmadır. Travmada oluşan kinetik enerji göğüs duvarının direnci ile toraks içi organlara aktarılır. Bunun sonucu olarak, akciğer parankiminde meydana gelen aşırı gerilme ve yırtılma, alveollerin bronşiollerden ayrılması, intraalveolar kanama, intertisyel ödem ve alveolokapiller hasar oluşturur (Şekil 2.7).

Lokal inflammatuar yanıtın olduğu kadar sistemik inflammatuar ve oksidatif hasar mekanizmalarının da aktivasyonu ile hem etkilenen tarafta hem de karşı akciğerde ikincil ek hasara neden olabilen patolojik süreç, AK olarak tanımlanır (5, 6, 7, 41).

AK etyolojisinde üç temel mekanizma olduğu ifade edilmektedir:

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

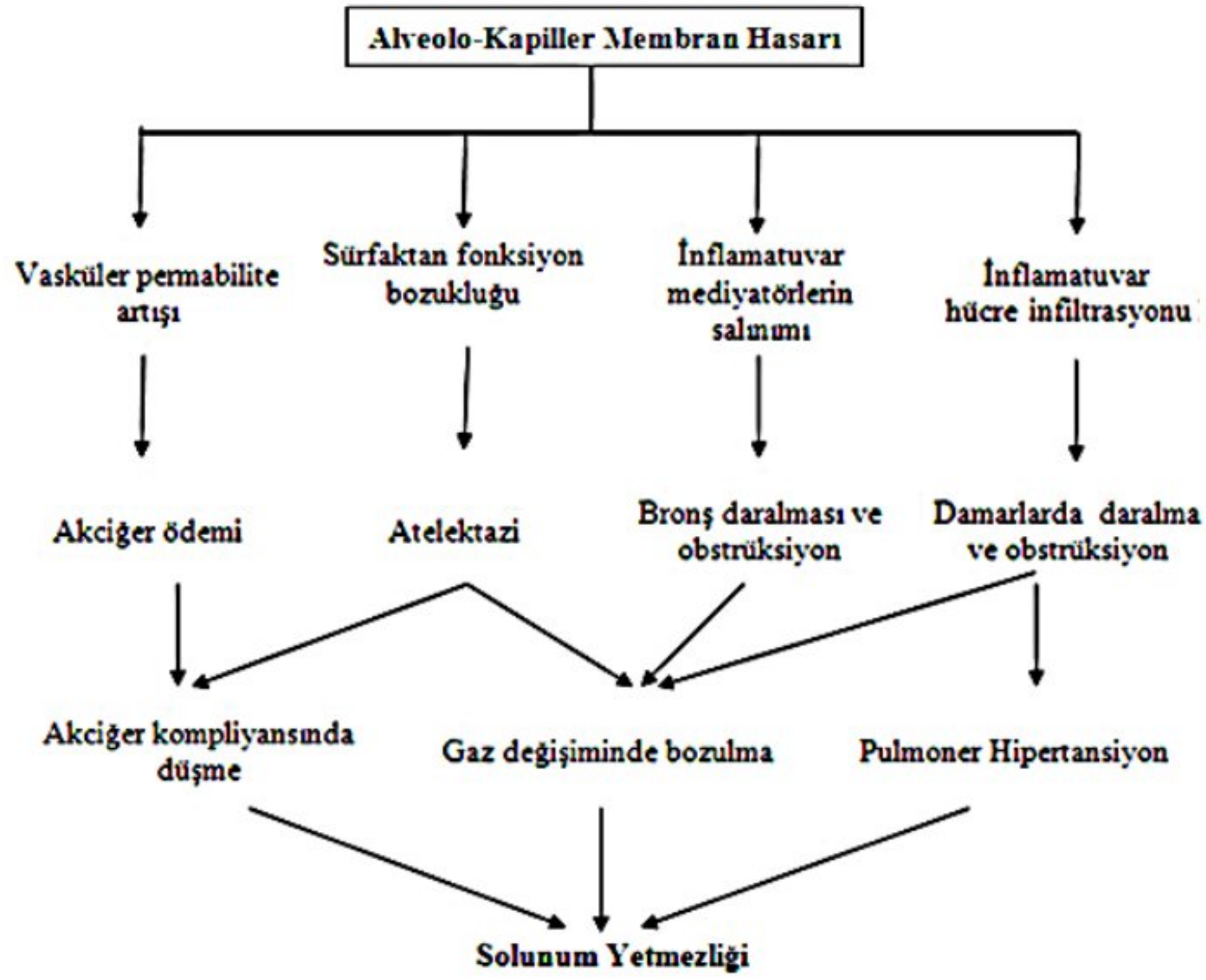
Akciğer parankiminin bu mekanizmalar ile aşırı gerginlik nedeniyle lasere olabileceğini bildiren çalışmalar vardır (42). AK oluşturulan köpek akciğerinin incelendiği bir çalışmada, kontüzyonun klinik seyir ve patolojik etkileri ortaya koyulmuştur (43). Kontüzyon tanımını, kan ve plazmanın alveollere sızdığı akciğer dokusundaki yırtıklar olarak yapmışlar ve elde ettikleri bulgularla ventilasyonda düşme ile sonuçlanan kompliyans azalması ve şant oluşumunda artış olduğunu rapor etmişlerdir. Köpeklerde AK oluşturularak yapılan bir başka çalışmada ise, kontüzyonun 24 saatlik takibinde ilerleyici parsiyel oksijen basıncı (pO_2) değerinde düşüş ve pulmoner vasküler dirençte artış saptanmıştır (44).



Şekil 2.7. Kontüzyon sonrası alveoldeki değişikliklerin şematik görünümü ((45)'den uyarlanmıştır)

AK' deki patolojik bulgular travmanın ağırlığına ve alveolokapiller hasarın derecesine bağlıdır. Travmanın ilk anında merkezi kanama odağını takiben birkaç saat sonra kanamanın etrafında ödem oluşmaya başlar. Hafif yaralanmalarda intraalveoler hemoraji ve intertisyel ödem görülürken, ağır yaralanmalarda alveolar yırtıklar oluşur, ödem ve kanama daha yaygındır. Alveollerin normal yapısı bozulur yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür. Azalmış sürfaktan, artmış mukus, artmış kapiller geçirgenlik ve bronş içinin kan ve ödem sıvısı ile dolması komşu akciğer alanlarında konsolidasyon ve atelektazi gelişimine neden olur (43, 46, 47). Kontüzyonlu akciğer kısmında dokunun ve hava yollarının ağırlığı, arter direnci artmıştır (Şekil 2.8). Buna karşılık kompliyans, sürfaktan miktarı ve kan akımı azalmıştır. Sonuçta akciğerdeki dolaşım bozulur, mikrosirküler şok meydana gelir. Tüm bu olaylar serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumuna neden olur. Buna bağlı olarak lipid peroksidasyonu ve membran hasarı gelişir. Akciğer kompliyansının azalması ile birlikte pulmoner vasküler direncin artışı ve alveolar-arteryal oksijen farkı, pulmoner hasarın kapsamı konusunda değerli göstergelerdir (43). Günler içinde AK'de artma olabileceği gibi stabil kalabilir veya gerileyebilir.

Majör toraks travması geçiren bütün hastalarda, alveolokapiller gaz değişimi azaldığı için arteriyel hipoksi oluşur. Pulmoner kapiller basınç, vasküler basıncı aşarsa intrapulmoner şant gelişir. Buna bağlı olarak gaz değişim mekanizması bozukluğu sonucu hipoksemi daha belirgin hale gelir. Hipoksemiye bağlı pulmoner vazokonstrüksiyon gelişir. Gelişen hipoksemi ve vazokonstrüksiyon, hasar sonucu AK gelişen akciğer alanı ile doğru orantılıdır. Yaralanmadan 24-48 saat sonra atelektazi ve inflamasyonun da katılmasıyla hipoksemi daha belirgin hale gelir (43).



Şekil 2.8. Alveolokapiller membran hasarı ve solunum yetmezliği (48)

AK'deki patofizyolojik değişiklikler kontüzyon sonrasında süre ile bağlantılı olacak şekilde değişiklik göstermektedir. Ratlarda bilateral AK oluşturularak sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışmada, kontüzyondan sonraki 7 gün içinde ortaya çıkan inflamatuvar değişiklikler incelenmiştir (49). Oluşturulan AK'de akciğerin histopatolojik değerlendirmesinde, kontüzyon sonrası 8. dakika ile 4. ve 12. saatlerde yapılan incelemelerde yaygın intraalveoler hemoraji saptanmışlar ve 24. saat incelemelerinde ise atelektazi geliştiğini, interstisyum ve alveollerde nötrofilden zengin lökositlerin sayıca artmış olduğunu tespit etmişlerdir. 48. saatte ise nötrofilik infiltrasyonun devam ettiği, hücre kalıntıları ve alveoler makrofaj infiltrasyonu ile alveol duvarının kalınlaştığı gözlenmiştir. AK sonrası 7. günde yaptıkları incelemede ise özellikle bronşiyollerin çevresinde fibrozis gelişimini saptamışlardır (49).

2.3.1. Akciğer Kontüzyonunda Hücresel ve Moleküler Yanıt

Akut akciğer hasarı, akciğer parankiminde meydana gelen şiddetli bir inflamatuvar cevap ile karakterizedir. İnflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Akut yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arteriyal vazodilatasyon oluşması, bölgeye daha fazla kan gelerek burada konjesyona

yol açar ve vasküler permabilite artışına sebep olur (50). Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu başlar. Potansiyel inflamatuvar mediatörler olan makrofaj ve nötrofiller, künt göğüs travmasını takiben aktive olurlar ve böylece ilerleyici yıkım kaskadı devreye girer.

Travma sonrası hücre membranı altındaki fosfolipid tabaka ortaya çıkar (51). Ortaya çıkan bu fosfolipidlerden, fosfolipaz A2 enziminin aktivasyonu ile araşidonik asit oluşur. Araşidonik asit, siklooksijenaz ve lipooksijenaz olmak üzere iki ana yoldan okside olur. Siklooksijenaz yolu ile prostoglandinler ve tromboksanlar, lipooksijenaz yoluyla lökotrienler ve hidroksieikozatetranoik asitler oluşur ki bunların hepsine birden eikonozoidler denir. Eikonozoidler, araşidonik asitten köken alan siklik yağ asidi yapısındaki maddelerdir. Hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerden salınırlar, hücre içinde depolanmazlar, doku hasar gördüğünde hızlıca sentezlenirler. Böylece hasar gören dokularda vazodilatasyon, vasküler geçirgenlikte artış, lökosit göçü ve yığılması ile karakterize inflamatuvar yanıtı oluştururlar. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostoglandinler, trombosit aktive edici faktör, serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediyatörleri yaralanmış lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuvar hücreler için kemotaktik olan bu maddeler ile aktive olan nötrofil ve makrofajlardan salınan sitokinler ve litik enzimler, doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olur (5, 51, 52, 53).

Nötrofiller havayolu ve alveoler epitelyum hasarında esas rol alan hücrelerdir (45, 54). Nötrofil ilişkili akciğer hasarı mekanizması tamamen aydınlatılamamış olmakla birlikte alveolar epitelde nekrozis/apoptozis artışı üzerinden olmaktadır. Nötrofiller tarafından oluşturulan akciğer hasarından, sıklıkla bozulmuş alveolar transport fonksiyonu ve oksidan maddeler sorumludur (45, 55).

Alveolar makrofajların, alveollere ulaşan maddelerin temizlenmesinden esas sorumlu hücreler oldukları düşünülür. Alveolar makrofajlar ayrıca akut akciğer hasarının birçok şeklinin patogenezinde ve ilerleyişinde rol alan antijenleri tanımakla görevli koruyucu hücrelerdir. AK sonrası ilk 24 saatteki erken lökositik cevapta nötrofiller hakimken, 48. saatten sonra monositlerin hakim olduğu gözlenir (52).

Son yıllarda travma sonrası tetiklenen programlı hücre ölümü üzerine oldukça fazla çalışma yapılmış olup, apoptozisin akciğer hasarının çözülmesi veya ilerlemesinde önemli bir yere sahip olduğu saptanmıştır. AK sonrası gelişen programlı hücre ölümünü ilk kez Liener ve arkadaşları ortaya koymuşlardır (56). Künt göğüs travmasından sonra tip 2 alveolar hücrelerin apoptozise uğradıklarını ve 48. saatten sonra daha belirgin olmak üzere travmatize alveollerde biriktiğini ise Seitz ve arkadaşları göstermişlerdir (57). Apoptotik hücrelerin çıkarılması makrofaj ve dendritik hücreler gibi fagositlerce olmaktadır (58).

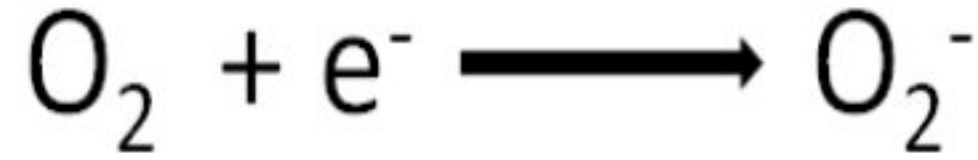
2.4. TRAVMADA OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER

Sağlıklı bir organizmada serbest radikallerin oluşumu ve ortamda birikim hızı ile bunların antioksidanlar tarafından ortamdaki kaldırılma ya da etkisizleştirilme hızı bir denge içerisinde. Bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi, inflamasyon oluşturan ajanlara karşı savunmada ve hücreler arası sinyal iletiminde ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Serbest radikal zincir reaksiyonunun kontrolsüz bir davranış göstermesi ve oksidatif denge halinin bozulması ise "oksidatif stres" olarak adlandırılır. Bu durumun nedeni, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliğin sonucunda organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerin bozulup doku hasarının oluşmasıdır (59, 60).

Vücuttaki savunma mekanizmaları sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitleri genellikle dış yörüngelerinde serbest oksijen içerirler (59). Serbest radikallerde denge, çevredeki moleküllerden bir elektron kopararak elektron çifti oluşturmasıyla yani oksidasyonla sağlanır. Elektronu koparılmış olan bu molekül eşlenmemiş elektron içerdiğinden serbest radikale dönüşür ve böylece tek bir radikal varlığı bile elektron transfer zincir reaksiyonlarını başlatabilir. Başlayan bu reaksiyon membrandaki yağ asitleri tükeninceye kadar devam eder. Sonuç olarak membran, selektif geçirgenliğini kaybeder ve hücre yıkılır (59).

İskemik dokuların reperfüzyonu, toksik SOR oluşumuna yol açar (59). Bunlar süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil anyonu (OH^-), hipoklorik asit ($HOCl$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik oksitten derive peroksinitrit ($ONOO^-$).

O_2 'nin bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşur (59).



O_2^- ye bir elektron eklenmesi (O_2^- dismutasyonu) veya O_2 'nin doğrudan indirgenmesiyle H_2O_2 oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzim aracılığı ile katalize edilebilir (59).



H_2O_2 'nin, demir ve diğer geçiş elementleri (bakır, çinko, mangan, krom, kobalt, nikel, molibden) varlığında indirgenerek OH^- radikali oluşturmaya Fenton Reaksiyonu denir (59). H_2O_2 'nin bakır ve demir tarafından katalizlenerek, O_2^- ile reaksiyona girmesiyle OH^- radikalini oluşturmaya ise Haber-Weiss Reaksiyonu denir.

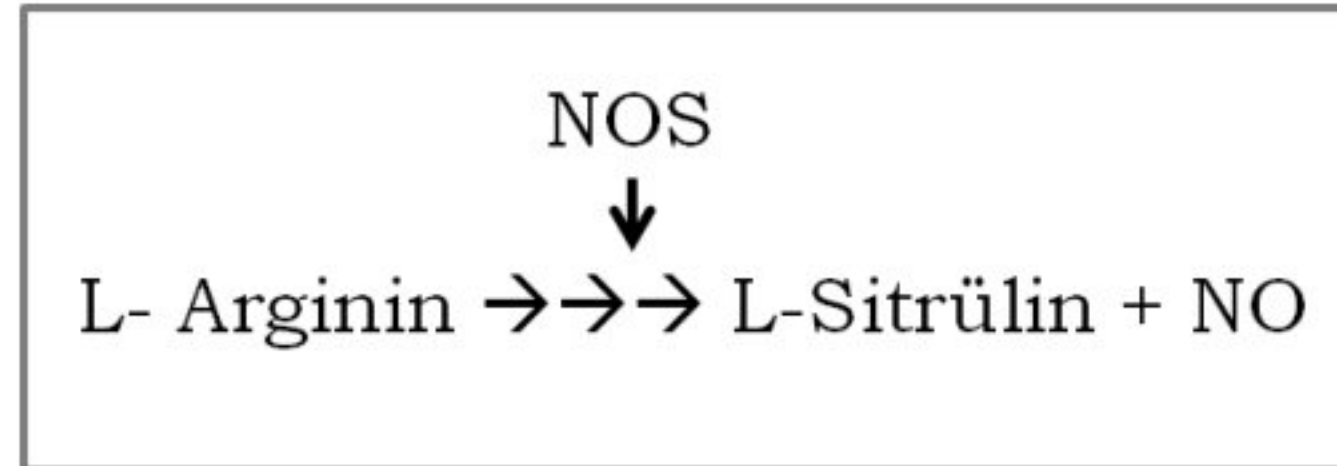
Aktive olan polimorf nüveli lökositler (PMNL), monositler, makrofajlar ve eozinofiller O_2^- radikali üretirler (59). Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem taşır. Özellikle PMNL'ler içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O_2^- nin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 'yi klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan $HOCl$ 'ye dönüştürür. $HOCl$ yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmamasına rağmen, SOR grubunda yer alır (59, 61).

2.5. NİTRİK OKSİT

25-30 yıl öncesine kadar NO'nun basit bir atmosfer atığı olduğu düşünülmekteydi. Ancak 1980 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF, *Endothelium Derived Relaxing Factor*) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu tespit edilmiştir

(62, 63). İnsan ve hayvanların da NO üretebildikleri ortaya konması ile birlikte 1987 yılına kadar hakkında çok az şey bilinen NO'nun fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992'de yılın molekülü seçilmiştir (62, 64).

NO, L-argininden sitrulin oluşumu sırasında, L-argininin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan ara üründür (Şekil 2.9). Bu reaksiyon bir dizi NOS enzimi tarafından katalize edilir.



Şekil 2.9. Nitrik oksitin sentezlenmesi (L-Arjinin - Nitrik oksit yolu)

NOS enzimleri, yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. cNOS vasküler endotelde, nöronlarda ve plateletlerde bulunur. Nöronlarda bulunan, nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), endotel hücrelerinde bulunan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) adını alır. iNOS kardiyomiyositler, hepatositler, nöronlar, mikrogial hücreler, nötrofiller, vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde bulunur (Tablo 2.1). cNOS tarafından yapılan NO, hücreler arası ve hücre içi haberleşmede rol oynar. cNOS enzimleri, ortamdaki kalsiyum konsantrasyonlarının artışından etkilenirken iNOS etkilenmez. cNOS çeşitli organ sistemleri için bazal seviyelerde gereklidir (65).

Tablo 2.1. Nitrik Oksit Sentezleyen Enzimler (66)

NOS İzofom	Diğer Adı	Salınım	Kaynak	Regülasyon	NO Miktarı	Kromozom
Tip I	nNOS	Devamlı	Sinir hücreleri	Kalsiyuma bağımlı	Düşük (picomol)	12
Tip II	iNOS	İndüklendiğinde	Makrofaj, damar düz kası, damar endoteli, miyokard, endokard, hepatosit, immün hücreler, hava yolu epiteli	Sitokinler, endotoksin ve oksidanlar tarafından indüklenme	Yüksek (nanomol)	17
Tip III	eNOS	Devamlı	Vasküler endotel hücreleri, plateletler, miyokard ve endokard, mast hücreleri, nötrofiller	Kalsiyuma bağımlı	Düşük (picomol)	7

2.5.1. Nöronal ve endotelial NOS izoformları (nNOS ve eNOS)

nNOS ve eNOS, normal şartlarda inaktif durumda bulunan enzimlerdir. Kolinerjik reseptör stimülasyonu gibi kalsiyum seviyesinin arttığı durumlarda kalsiyum-kalmodulin kompleksi oluşur (67). Sonuçta nNOS ve eNOS izoformları aktif hale dönüşür. Bu reaksiyon sonucunda ancak pikomol ile ifade edilebilecek oranda NO sentezlenir. nNOS çeşitli nöronlarda bulunan bir enzimdir. Periferik sinir sisteminde NO bir nörotransmitter gibi davranarak gastrointestinal sistem, ürogenital sistem ve solunum sisteminde nNOS içeren nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler yoluyla düz kas gevşemesini düzenler. Büyük serebral damarları inerve eden vazodilatör sinirlerde de bulunur. İskelet kasında, kalp ve retinadaki katekolaminlerin salgılanmasını düzenleyen sinir terminallerinde de bulunur.

eNOS vasküler düz kaslarda bulunur ve EDRF olarak bilinen NO'nun kaynağıdır. eNOS aktivitesi sistemik ve pulmoner vasküler tonusun düzenlenmesinde, fetal akciğer maturasyonunda rol oynar.

2.5.2. İndüklenebilir NOS (iNOS)

Normal şartlarda iNOS enzimi yoktur. Tümör nekrotizan faktör, interlekin 1 ve endotoksinler gibi inflamatuvar mediatörlerin varlığında makrofajlar ve granülositler gibi inflamatuvar hücrelerde iNOS sentezi gerçekleşir (67). iNOS sentezi başladıktan sonra aktivitesi hücre içi kalsiyumdan bağımsızdır ve nanomol ile ifade edilebilecek düzeyde NO sentezine yol açar (nNOS ve eNOS'un ürettiğinden 100 kat daha fazla). Bakteriyel ve paraziter enfeksiyonların seyrinin belirlenmesinde, sepsiste ve yara iyileşmesinde rol oynar (67).

NO molekülü çiftleşmemiş bir elektrona sahip olan ve yüksek oranda reaktivitesi bulunan serbest bir radikaldır. Gaz formundaki NO, O₂ ile birleşerek nitrojen dioksiti (NO₂) oluşturur. Solüsyon halinde ise başka bir serbest radikal olan O₂⁻ ile reaksiyona girerek peroksinitrit ortaya çıkar (67).

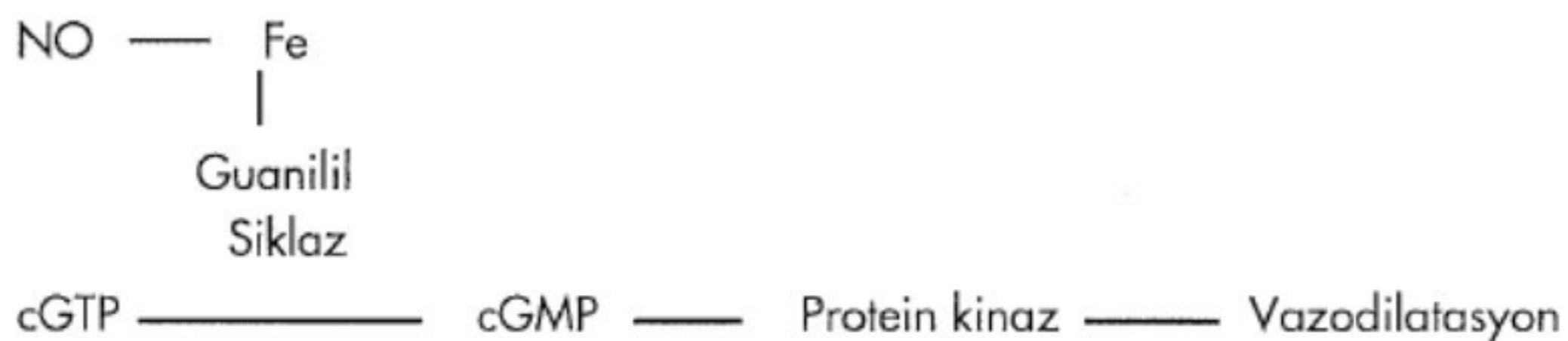
NO'nun SOR ile etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Aktif makrofajların mikrosidal aktivitelerini NO aracılığıyla gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte doğru mediatörün NO'dan üretilen NO₂ gibi ikincil bir oksidan madde olabileceği düşünülmektedir (68). Ortamda oksijen varsa NO'dan NO₂ ve iki elektronlu

oksidanlar olan N_2O_3 , N_2O_4 oluşur. Süperoksidi bağladığı için NO'nun serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan peroksinitrit ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun olan bir antioksidandır. Peroksinitritin parçalanması ile yüksek konsantrasyonlarda NO_2 oluşur. Bu reaktif, enzim fonksiyonları ve membran bütünlüğüne zarar verir. Bunların sonucunda lipid peroksidasyonu başlar (68).

NO'nun biyolojik sistemde yarılanma ömrü 3-30 saniye olup süperoksit anyonu veya oksihemoglobin tarafından inaktive edilir. Düşük konsantrasyondaki NO, O_2 'ye nazaran hemoglobine 3000 kat bir afiniteyle bağlanır. Hemoglobin oksijen formunda ise NO'yu kısa sürede nitrata (NO_3) oksitleyerek etkisizleştirir. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür. NO, nitrite de okside olabilir ancak nitrit tekrar oksitlenerek kısa sürede nitrata dönüşüm gösterir (69).

Diğer SOR'lar her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken, NO, düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliğini kazanmaktadır (70). Endotelden sentezlenen NO damarın gevşemesi, trombosit ve nötrofil agregasyonunu engelleyerek travma sonrası organlarda kan akımının sürdürülebilmesini sağlar. NOS ile sentezlenen yüksek konsantrasyondaki NO ise travmadaki doku hasarını artırır. Kısaca NO akut inflamatuvar olaylarda hem koruyucu hem de hasarlayıcı bir molekül olarak etki gösterebilir (71).

NO vazodilatatör etkisini guanilil siklazın demir atomuna bağlanarak gösterir (72). Bu enzimin NO tarafından aktivasyonu sonucunda siklik guanidin trifosfat (cGTP), siklik guanidin monofosfata (cGMP) metabolize olur. cGMP, protein kinazı aktive ederek miyozin zincirlerinde defosforilasyona ve sonucunda vazodilatasyona yol açar (Şekil 2.10) (72).



Şekil 2.10. Nitrik oksitin vazodilatatör etki mekanizması

NO'nun dual etkileri (koruyucu veya zararlı), farklı süreçlerde düzenlenen farklı NOS enzim izoformlarının miktarlarına ya da hücrenin redoks durumuna da bağlıdır (73). Erken safhada inflamatuvar yanıtı önlemek için büyük miktarda NO üretimi olurken, geç aşamada düşük miktarda NO, inflamatuvar yanıtı değiştirerek ölü hücrelerin temizlenmesini sağlamaktadır (74). NO, erken zamanda adezyon molekülleri ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını destekleyerek enfeksiyon ve hasar bölgesine hücrelerel toplanmayı kolaylaştırmak ve patojenik zararı ortadan kaldırmak için bu hücrelerin aktivasyonunu sağlarken, geç zamanlarda aktivasyonun hızlı sonlanmasını sağlayarak hücreler üzerinde inhibitör etki göstermektedir (75).

2.5.3. Nitrik Oksit ve Akciğerler

NO, neredeyse bütün organ sistemlerinde mevcuttur. Solunum havasında NO (sağlıklı bireylerde 5-10 ppb) ve bronkoskopik lavaj ve indüklenmiş balgam örneklerinde NO metabolitlerinin saptanması, NO'nun hava yollarında sentezlendiğini gösteren bulgulardır (76). NO akciğer fizyolojisinde ve patolojisinde majör rol oynamaktadır. NO'nun akciğerlerdeki hücrelerel kaynakları epitel hücreleri, pulmoner arter ve venlerin endotel hücreleri, inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik nöronlar, düz kas hücreleri, mast hücreleri, mezotel hücreleri, fibroblastlar, nötrofiller, lenfositler ve makrofajlardır. Üç NOS izoformu da akciğerde mevcuttur (76, 77). Nitrik oksitin akciğerler üzerindeki etkileri Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

2.5.3.1. Vasküler Etkiler

NO oldukça güçlü bir vazodilatördür. NO'nun vasküler düz kaslarda gevşemeye yol açan etkileri açıkça gösterilmiştir (78, 79). Sepsiste olduğu gibi, aşırı NO varlığı sistemik hipotansiyona neden olabilirken, NO sentezi azaldığında pulmoner hipertansiyon saptanmaktadır. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda ekshale edilen NO oranları anlamlı derecede düşüktür (80). Selektif pulmoner vazodilatör etkisi ve ventilasyon-perfüzyon defektlerini düzeltme özelliği nedeniyle ARDS'de ve pulmoner hipertansiyon tedavisinde klinik kullanım alanı mevcuttur.

Tablo 2.2. Nitrik Oksitin Etkileri (66)

Hedef Sistemler	Biyolojik Fonksiyon	Mekanizma
Akciğerler	Bronkodilatasyon	Bronkodilatör yanıtla sonuçlanan iNANC sinir sisteminde nörotransmitter etki
	Hava yolu obstrüksiyonu	Hava yolu damarlarında vazodilatasyon ve ödem
	Vazodilatasyon	cGMP oluşumu
İnflamatuvar Sistem	Antiinflamatuvar etki	Th ₁ lenfosit aktivasyonunda azalma
	Pro-inflamatuvar etki	Lökosit göçünde artış, eozinofillerde ve Th ₂ lenfositlerde dolaylı artış
Savunma Mekanizmaları	Konak savunmasına katılır	NO ve/veya oksitlerinin (NO ₂ , N ₂ O ₃ , ONOO ⁻) bakterisit ve sitotoksik etkisi

2.5.3.2. Hava yolu etkileri

NO, tıpkı vazodilatör etkisi gibi bronkodilatör etkiye de sahiptir. Bu etkisini, doğrudan bronş düz kas hücresi içindeki cGMP oranını artırarak ve dolaylı olarak da inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik (iNANC) nöronların bir nörotransmitteri olarak işlev yaparak göstermektedir (81). Hava yollarında bronkokonstrüksiyona neden olan üç nöral mekanizma vardır. Bunlar; kolinerjik (asetil kolin), α -adrenerjik (norepinefrin) ve eksitatör nonadrenerjik nonkolinerjik (eNANC) sistemlerdir. β -adrenerjik (epinefrin) ve iNANC (vazoaktif intestinal peptid ve NO) ise bronkodilatasyona yol açan mekanizmalardır. Proksimal hava yollarında ağırlıklı olarak iNANC nöral sistem aktif olarak mevcut olduğu için, bronkodilatasyon sistemi daha baskındır (81).

2.5.3.3. İnflamasyondaki etkileri

NO, pro-inflamatuvar veya antiinflamatuvar etkileriyle akut ve kronik inflamasyonda önemli bir role sahiptir. İnflamatuvar süreçte NO ve süperoksit radikallerinin oluşumu epitel hasarına, medyatör salınımına ve hava yolu duyarlılığının artmasına neden olmaktadır (82). Çeşitli gözlemlerle ekshale NO artışının hava yolu inflamasyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. İnflamatuvar sitokinler, özellikle interferon- γ hava yolu epitelinde iNOS sentezini indüklemektedir. Kortikosteroid ve lökotrien antagonistleri gibi antiinflamatuvar ilaçların uygulanması ekshale NO

seviyelerini ve iNOS sentezini azaltmaktadır (82, 83). Buna karşın viral ÜSVE ve bronş provokasyon testleri sonucunda ekshale NO düzeyleri artmaktadır (84). Artan NO aynı zamanda vazodilatör özellikleri nedeniyle bronşiyal dolaşımdaki kan akışını arttırarak hava yolu ödemeine neden olur.

2.6. ANTİOKSİDANLAR

Travma sonrası hücreler oksidan maddelerin saldırıları ile karşılaşılır. Bu saldırıyı nötralize edecek sistemler yetersiz kalırsa, geri dönüşümsüz yıkım ortaya çıkar. Oksidatif stresin oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta geliştirilmiş olan savunma sistemlerine "antioksidan savunma sistemleri" denir.

Organizmayı oksidatif strese karşı koruyan antioksidan moleküller, endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasar, hücre içi ve hücre dışı savunma mekanizmaları ile etkisiz hale getirilir.

Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları, SOR oluşumunun önlenmesi ve oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi şeklinde sıralanabilir (85, 86).

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere, iki sınıfa ayrılırlar. Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir.

2.6.1. Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz, katalaz, selenyum bağımlı glutatyon peroksidan, glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz, sitokrom oksidaz, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz, UDP-glukronil transferaz, fosfoglukonat dehidrojenaz, epoksit hidrolaz, NADPH-kinon hidrolaz ve sulfonil transferazdır.

2.6.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar, vitamin C, vitamin A, vitamin E, flavinoidler, melatonin, albümin, koenzim Q10, ürik asit, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, ferritin, oksipurinol, bilirubin, mannitol, lipoik asit ve hemopeksindir.

2.6.3. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz, hücre içi kuvvetli antioksidan bir enzimdir. O_2 'yi, H_2O_2 ve O_2 çeviren reaksiyonu katalizler (87). SOD hücrel kompartmanlardaki O_2^- düzeylerini kontrol altında tutar. Süperoksidi ortamdan uzaklaştırıp NO ile reaksiyona girmesini engelleyerek peroksinitrit oluşumunu önler. SOD, fagosit edilmiş bakterilerin hücre içinde ortamda öldürülmesinde önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle SOD, granülosit fonksiyonu için önemli bir enzimdir (87). Lenfositler, granülositlerden daha yüksek düzeyde SOD içerirler. Bu enzimlerin aktif merkezlerinde bulunan aminoasitlerin çeşitliliği, kofaktör ve diğer bazı özelliklerine göre farklı izoformları bulunmaktadır. İnsanda üç farklı izoformu vardır. Bunlar, sitoplazmik SOD, mitokondriyal SOD ve ekstrasellüler SOD'dur. Ancak yapılan araştırmalarda genellikle tümünü kapsayan enzim (total SOD) aktivitesi ölçülür (87).

2.6.4. Oksidatif Stresin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler

Oksidatif stresin, hastalıkların patogenezinde rolü anlaşıldıkça bu alandaki çalışmalar da yoğunlaşmıştır. Oksidatif stres çalışmalarında serbest radikallerin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği araştırılmaktadır (88). Bunun için plazma, serum, eritrosit, doku örnekleri gibi çeşitli ortamlarla analiz yapmaya uygun yöntemler geliştirilmiştir. Serbest radikaller son derece reaktif ve kısa ömürlüdürler. Bu yüzden direkt olarak ölçülmeleri zordur. Serbest radikal üretim artışının belirlenmesi için bunların lipidlerle, proteinlerle ve DNA ile reaksiyonları sonucu oluşan çeşitli ürünlerin, ölçümü gibi indirekt yöntemler kullanılır. Bu yöntemler arasında lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin düzeyinin belirlenmesi en sık tercih edilen yöntemdir. Malondialdehit (MDA) ölçümü lipid peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesi için en sık başvuru testtir (85).

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, oksidatif stresi, oksidan moleküllerin oluşum hızı ve antioksidan moleküllerin tamamının toplam etki gücü belirlediği için ve antioksidan moleküllerin tek tek incelenmesi hücre içi toplam oksidan stresi göstermekte yetersiz kalabileceği düşünülerek total oksidan ve antioksidan kapasite ölçümü sıklıkla kullanılmaktadır (88).

2.7. AKCİĞER KONTÜZYONUNA KLİNİK YAKLAŞIM

Travma hastalarında ayrıntılı anamnez ve fizik muayene için genellikle zaman yoktur. Toraks travması ile gelen bir hastada yapılacak ilk iş solunum yeterliliğinin tespiti ve dolaşımın değerlendirilmesidir. Solunum sayısı, dispne varlığı, hava yolu açıklığı ve sekresyon kontrolü, siyanoz, arteriyel tansiyon, nabız sayısı ilk bakıda hızlıca değerlendirilmesi gereken parametrelerdir.

Göğüs duvarı yaralanması olan tüm hastalarda AK göz önünde bulundurulmalıdır. AK, özellikle künt göğüs travması sebebiyle oluşan ve genellikle kot fraktürü, hemotoraks, pnömotoraks gibi patolojilerin birlikte görüldüğü mortalite ve morbiditesi yüksek olan bir patolojidir (41). Travmanın oluş şekline bağlı olarak akciğerin gelen darbe ile sıkışması, kemik ve kostaların akciğer üzerine basısı veya direkt yaralaması ile oluşabilir. Bebek ve çocuklarda göğüs kafesinin esnekliğinden dolayı kemik kırığı olmadan akciğerde kontüzyon olabileceği unutulmamalıdır (89, 90).

Kontüzyonlu hastalarda solunum sıkıntısı, solunum sayısında artış, ciddi olmayan hemoptizi, siyanoz ve hipotansiyon sık görülen bulgulardır. Fizik muayene açıklayıcı olmayabilir. Buna karşın, şiddetli kontüzyon durumlarında raller ve solunum seslerinde azalma görülebilir. Solunum seslerinin olmaması pnömotoraks ya da hemotoraksı gösterebilir.

Toraks patolojisi düşünülen veya varsayılan hastadaki ilk görüntüleme yöntemi akciğer röntgeni olmalıdır. Kontüzyon travmayı takiben gelişim göstermektedir. Ancak göğüs grafisinde görülebilir olması saatler alabilir; hatta, ilk 6 saatte hiç bulgu olmayabilir (91). AK'de radyografik değişiklikler, kontüzyondan sonraki ilk 4-6 saat içinde belirgin hale gelmeye başlarken hastaların bir kısmında ilk 24 saat içinde belirgin hale gelebilir. Kontüzyona ait değişiklikler sıklıkla ilk 24 saat içinde progresyon gösterir, bu yüzden takip eden saatlerde 6 ila 12 saatlik periyodlarla çekilen kontrol grafileri ve kan gazı analizleri önerilmektedir (92).

Göğüs grafisinde kontüzyon, nonsegmenter, yamalı, belirsiz sınırlı, buzlu cam ve/veya alveoler opasite artışı şeklinde görülür. Bulgular takip grafilerinde 1-2 gün artış gösterebilir. Genellikle 3. günden sonra gerilemeye başlar ve 1-2 hafta içinde tamamen kaybolur. Bulgularda aşırı artış, 3. günden sonra gerilemeye başlamaması veya hastanın solunumunun

kötüleşmesi durumunda, atelektazi, aspirasyon, bakteri pnömonisi, ARDS gibi ek sorunlar gelişmiş olabilir (91).

Bilgisayarlı toraks tomografisi (BTT), AK'yi göstermede rutin filmlerden daha açıklayıcıdır. Toraks tomografisinin travma hastalarındaki akciğer patolojilerini göstermede %30 ile %60 oranında daha üstün olduğu gösterilmiştir (41). BT, kontüzyonu hem daha erken gösterebilir hem de yaygınlığını ve eşlik eden bulguları daha iyi ortaya koyabilir. BT'de kontüzyonlar periferik yerleşme eğiliminde, yamalı, nonsegmental buzlu cam, alveoler veya düzensiz nodüler dansiteler şeklinde görülebilir. Kontüzyon alanlarında hava ile dolu bronş ve bronşoller hava bronkogramı görüntüsü oluşturabilir. BTT ile görünen akciğer kontüzyonu alanı direkt akciğer grafisinde görülebilen alanın sıklıkla iki ile üç katı büyüklüğündedir. Sonuç olarak, BTT künt travma sonrası toraks patolojilerini göstermede akciğer grafisinden üstündür. Fakat akciğer grafisinin morbiditeyi ve tedaviyi etkileyen, klinik olarak önemli patolojileri göstermekte genel olarak yeterli olduğu da söylenebilir. Direkt grafide AK tespit edilen hastalarda rutin toraks tomografisi çekilmesine gerek yoktur (3).

AK'li hastalar hızlı bir şekilde kritik hale gelebileceğinden bu hastalar hastaneye yatırılmalıdır. AK'nin risk derecesi çeşitli skorlama sistemleri ile belirlenmiştir. İleri Travma Yaşam Desteği (ATLS, *Advanced Trauma Life Support*) sistemine göre AK olan ve oda havasında PaO₂<60 mmHg olan hastalar entübe edilmelidir. PaO₂'yi 60 mmHg'nin üzerinde tutmak için oksijen desteği verilmelidir (93). Ağrı kontrolünün sağlanması, sekresyonların temizlenmesi ve atelektaziyi engellemek amacıyla solunum fizyoterapisi, gelişen plevral komplikasyonların kapalı tüp torakostomi ile tedavi edilmesi ve makromolekül içeren sıvı replasmanının dikkatli yapılması tedavinin ana ilkelerini oluşturur. Kan kayıpları, kan veya kan ürünleri ile yerine koyulmalı ve verilen kristaloid miktarı minimumda tutulmalıdır. Yüksek miktarlarda verilen kristaloid solüsyonlarının kontüzyonu ağırlaştırdığı bildirilmiştir (94). Kristaloid solüsyonlar yerine kolloid sıvıların kullanımı önerilmektedir (94). Antibiyotik kullanımı tartışmalı olmakla birlikte, genellikle ikincil patolojileri önlemek için antibiyotik desteği önerilmektedir (95).

Bu hassas sürecin tüm bileşenleri ile yönetilmesi durumunda bu tip hastaların entübasyon gereksinimlerinin %100'den %23'e gerilediği ve sağkalım oranlarında %60'dan %93.5'e ulaşan bir iyileşme olduğu gösterilmiştir (96).

Günümüzde AK'de iyileşmeye olumlu etki sağlayabilecek semptomatik tedavi yöntemleri dışında, benimsenmiş etkin bir tedavi ajanı yoktur. AK'ye özgü bir tedavi yöntemi henüz mevcut olmadığından birçok farklı ajan deneysel modellerde kullanılmıştır (9,48). Fakat halen literatürde bu konuda ciddi bir bilgi açığı bulunmaktadır ve araştırmalar devam etmektedir.

2.8. ENDOTELİNLER

Endotelin, damar düz kaslarındaki endotel hücrelerinden salınan, parakrin ve otokrin etki gösteren vücudun en güçlü vazokonstriktör maddelerinden biridir. ET ilk olarak 1988 yılında Yanagisaka ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (97).

Vücudumuzda farklı kromozomlarla kodlanan, farklı ET genleri tarafından, üç farklı endotelin sentez edilmektedir. Bunlar, endotelin-1 (ET-1), endotelin-2 (ET-2) ve endotelin- 3 (ET-3)'tür. ET'ler başlıca endotelde olmak üzere, düz kas hücreleri, kardiyomyosit, fibroblast, makrofaj ve keratinosit gibi bazı hücrelerde de sentezlenmektedir (98).

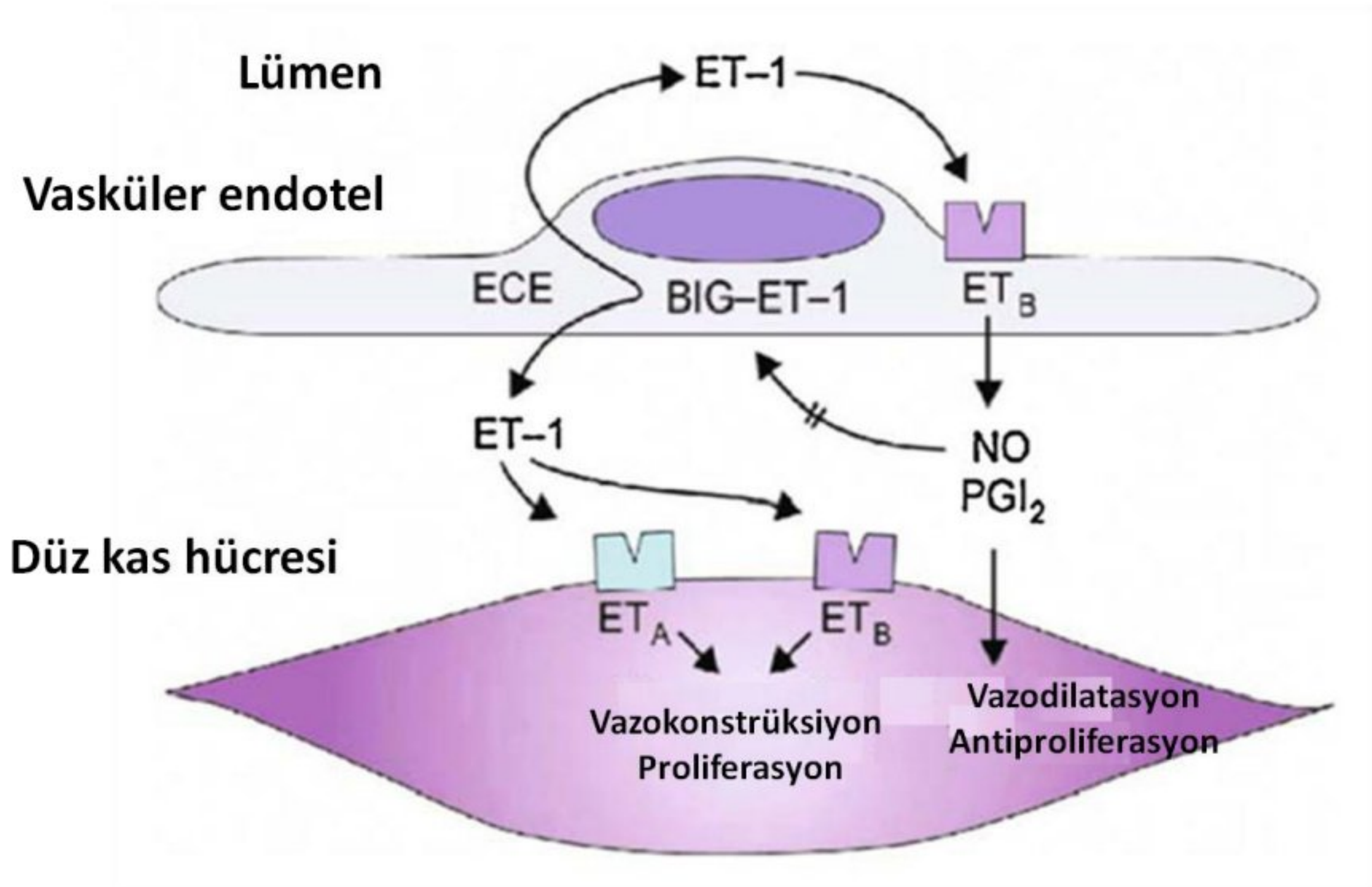
ET sentezi üç basamaklı proteolitik işlem sonucunda gerçekleşmektedir (99). 212 aminoasitten oluşan preproendotelin, peptidazlar ile proendotelin'e, proendotelin ise dibazik aminoasit konvertaz ile big-endotelin'e (inaktif prekürsör) çevrilmektedir. Son basamakta big-endotelin, endotelin dönüştürücü enzim ile 21 aminoasitten oluşan matür ve aktif ET'ye dönüşmektedir. ET, düz kas vazokonstrüksiyonu ve hipertrofisine, fibrozis ve inflamasyona katkıda bulunur (99).

ET hidrofilik yapıda olduğundan, plazma membranını geçemez. Etkisini spesifik reseptörler aracılığıyla gösterir. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B) olarak iki farklı reseptörü vardır. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve peptidleri bağlama affiniteleri değişiktir. ET-A reseptörü, en yüksek afiniteyi ET-1'e gösterirken (100 kat fazla) , ET-2'ye olan afinitesi ET-3'ten fazladır. ET-B reseptörü her üç izoforma eşit derecede afinite gösterir (100).

ET-A reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunur ve vazokonstriksiyonu uyarır. Bu vazokonstriktör cevap, G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu aracılığıyla 1,4,5-inositol trifosfat oluşumu ve ardından hücre içi depolardan kalsiyum iyonu serbestleşmesi ile meydana gelmektedir (101). Ek olarak araşidonik asit salınımını uyararak fosfolipaz A2'yi aktive eder ve düz kas ve fibroblast gibi mitojenik özelliği olan hücrelerin artışına yol açar (98).

ET-B reseptörleri ise esasen endotelial hücrelerde bulunur ve NO ve prostoglandin-I₂ (prostasiklin) üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar. ET-B ayrıca apoptozu sınırlayarak ve plazma ET-1 klirensini arttırarak endotelin düzenlenmesine katılır (98, 100) (Şekil 2.11).

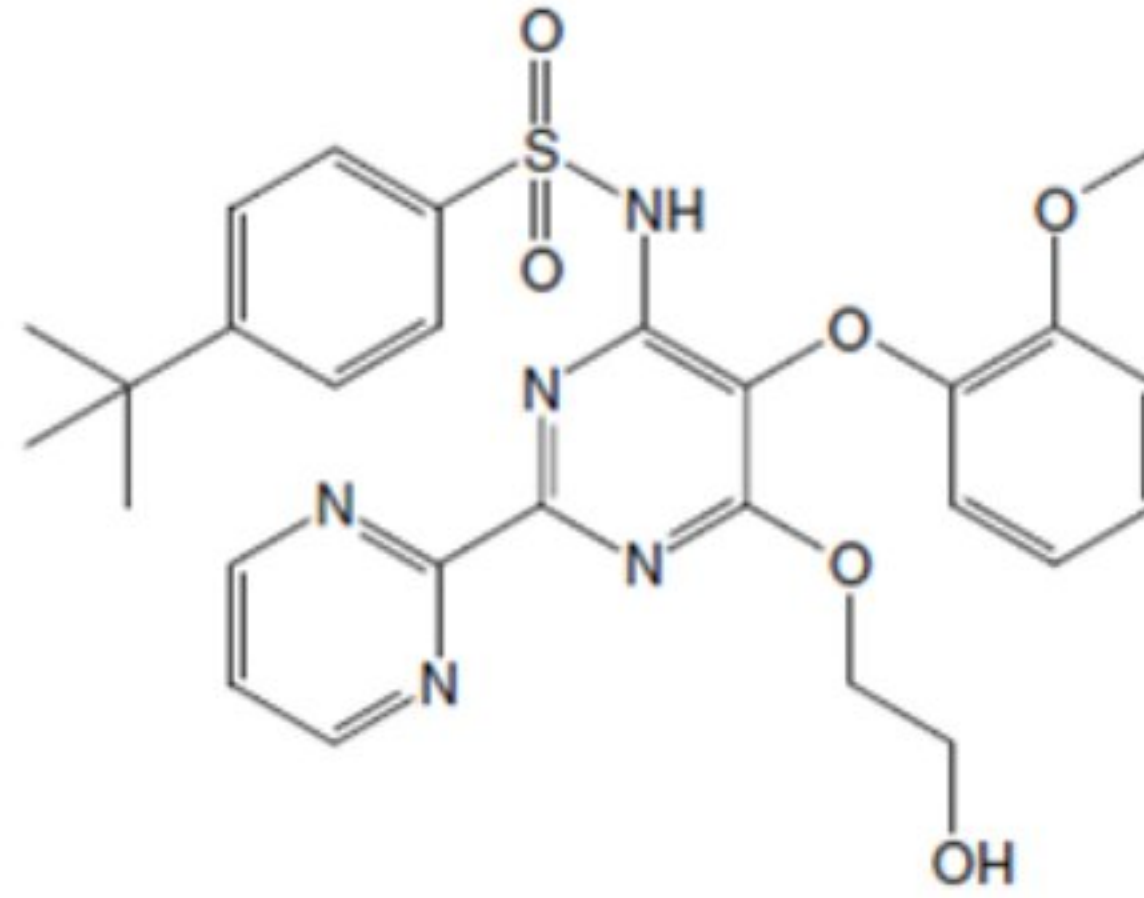
Fizyolojik koşullar altında ET-B reseptörü vazodilatör cevaba aracılık etmektedir, ama patolojik koşullar altında vazokonstrüksiyonu ve damar düz kas proliferasyonunu uyarır. Sonuç olarak, hem ET-A hem de ET-B reseptörleri, ET'lerin fibrozis, vazokonstriksiyon, inflamasyon ve düz kas proliferasyonu cevaplarına aracılık etmektedir (100, 101).



Şekil 2.11. Pulmoner arterlerdeki endotelin sisteminin şematik gösterimi ((102)'den uyarlanmıştır)

2.9. BOSENTAN

Bosentan (Ro 47-0203), ET reseptörlerinin mikst ve kompetitif bir antagonistidir. Kimyasal yapısı 4-*tert*-butyl - N - [6-(2-hydroxy-ethoxy) - 5 - (2-methoxy-phenoxy) - 2,2'- bipyrimidin-4-yl] - benzene-sulfonamide olup, zayıf bir asittir (Şekil 2.12). Her iki ET reseptörünü de (ET-A, ET-B) bloke eder. Nonpeptit yapıda olup, ET için spesifiktir. Bosentanın hem bağlanma çalışmaları hem de fonksiyonel çalışmalarda ET-A reseptörleri üzerine daha potent olduğu bildirilmiştir (101, 103).



Şekil 2.12. Bosentanın moleküler yapısı (C₂₇H₂₉N₅O₆S-H₂O) (104)

Bosentan, oral olarak aktiftir. İlaç oral uygulamayı takiben yaklaşık 3 saat sonra maksimum plazma düzeyine ulaşır ve biyoyararlanımı yaklaşık %50'dir (104). Plazma klerensi 7-8 L/s aralığındadır. Çoklu doz uygulanmasında plazma klerensi 17 L/s düzeyine ulaşır ve 3 ile 5 gün içerisinde kararlı durum konsantrasyonları elde edilir. Bosentanın albümine bağlanma oranı %98'dir. İnsanlarda yarılanma ömrü 5-8 saat arasındadır (104, 105).

Vücuttan metabolitlerin atılımı, hepatik metabolizma sonrasında safra yolu ile gerçekleşir (106). Bosentanın, sitokrom p450 (CYP) 2C9 ve 3A9 enzimleri ile metabolize edilmesi sonucu 3 metabolit oluşur. Oluşan bu metabolitlerden sadece Ro 48-5033, endotelin reseptörlerine bağlanabilir. Bosentan CYP2C9 ve CYP3A4 enzimlerini indüklediği için, bu enzimler ile metabolize olan siklosporin, simvastatin ve varfarin gibi bazı ilaçların plazma konsantrasyonlarını etkiler. Ketakonazol gibi CYP3A4 enzim inhibisyonu yapan ilaçlar ise bosentanın etkisini artırır (104).

Bosentan, primer olarak kan basıncı üzerine etkili değildir. Ancak, hem oral hem de intravenöz uygulamadan sonra ET-1 reseptörleri üzerine etki ederek, endotelinin kan basıncını arttırıcı etkisini belirgin olarak inhibe eder. Bosentan, pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) hastalığında kullanımında, Gıda ve İlaç İdaresi (*FDA, Food and Drug Administration*) onayına sahiptir (107).

Bosentan, günümüzde primer (idiyopatik ve ailesel) PAH, ciddi interstisyel pulmoner hastalık olmaksızın sklerodermaya sekonder gelişen PAH, sistemik-pulmoner şantlarla ve Eisenmenger fizyolojisiyle ilişkili PAH'de tedavi ajanı olarak kullanılmaktadır (108).

ET reseptör antagonistleri, pulmoner hipertansiyon dışında subaraknoid kanama, konjestif kalp yetmezliği, migren, serebral vazospazm, asetilsalisilik asit kullanımına bağlı gastrik mukozaya hasarı ve akut siklosporin nefrotoksitesisi için de denenmektedir (109, 110). ET reseptör antagonistlerinin, idiyopatik pulmoner fibrozun erken evrelerinde olası yararlı etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur (111).

Bosentanın inhibitör potensi, rekombinant insan reseptörlerinde ve insan ve hayvan kaynaklı doğal reseptörlerde test edildiğinde insan ve hayvan reseptörleri arasında bağlanmasında önemli farklılık olmadığı görülmüştür (106). Bu durum bosentanın etkilerini değerlendirmek için hayvan dokularının kullanılmasını olanaklı kılmıştır.

Bosentanın terapötik etkinliği, pulmoner vasküler yeniden modellenmenin yanı sıra pulmoner damar sistemi içerisinde olası antifibrotik ve antiinflamatuvar özelliklerle de ilişkilidir. Bosentanın antiinflamatuvar ve antifibrotik etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur (112, 113). Akciğer hasarında fibrozisin değerlendirildiği bir çalışmada, endotelin reseptör blokajının pulmoner fibrozisi azalttığını saptanmıştır (114).

ET antagonistlerinin güçlü vazodilatör etkisi vardır ve yakın zamanda antioksidan özelliği olduğu gösterilmiştir (115, 116). ET antagonistlerinin iskemi modellerinde tespit edilen koruyucu özellikleri antioksidan etkileriyle ilişkili olabilir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu (YÜDHEK)'den onay alınarak (12.05.2017 tarih ve 601 sayılı karar), Eylül 2017-Ocak 2018 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 200 ile 250 gram arasında değişen 38 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi ve adı geçen merkezde takibi yapıldı. Sıçanlar, 21°C ile 23°C arasında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde tutuldu, standart pellet yemlerle beslendi. Çalışma boyunca hayvanlarda yem ve su kısıtlaması yapılmadı. Çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda normal cerrahi aletler ve yüksekte ağırlık düşürme yöntemi için gerekli cihaz kullanılarak gerçekleştirildi. Biyokimyasal parametrelerin tayini İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, histopatolojik inceleme ise İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Sıçanlar çalışma öncesi ve çalışma sırasında her kafeste en fazla sekiz hayvan bulunacak şekilde, her gün kafes temizliği ve beslenme gereksinimi sağlanarak barındırıldı.

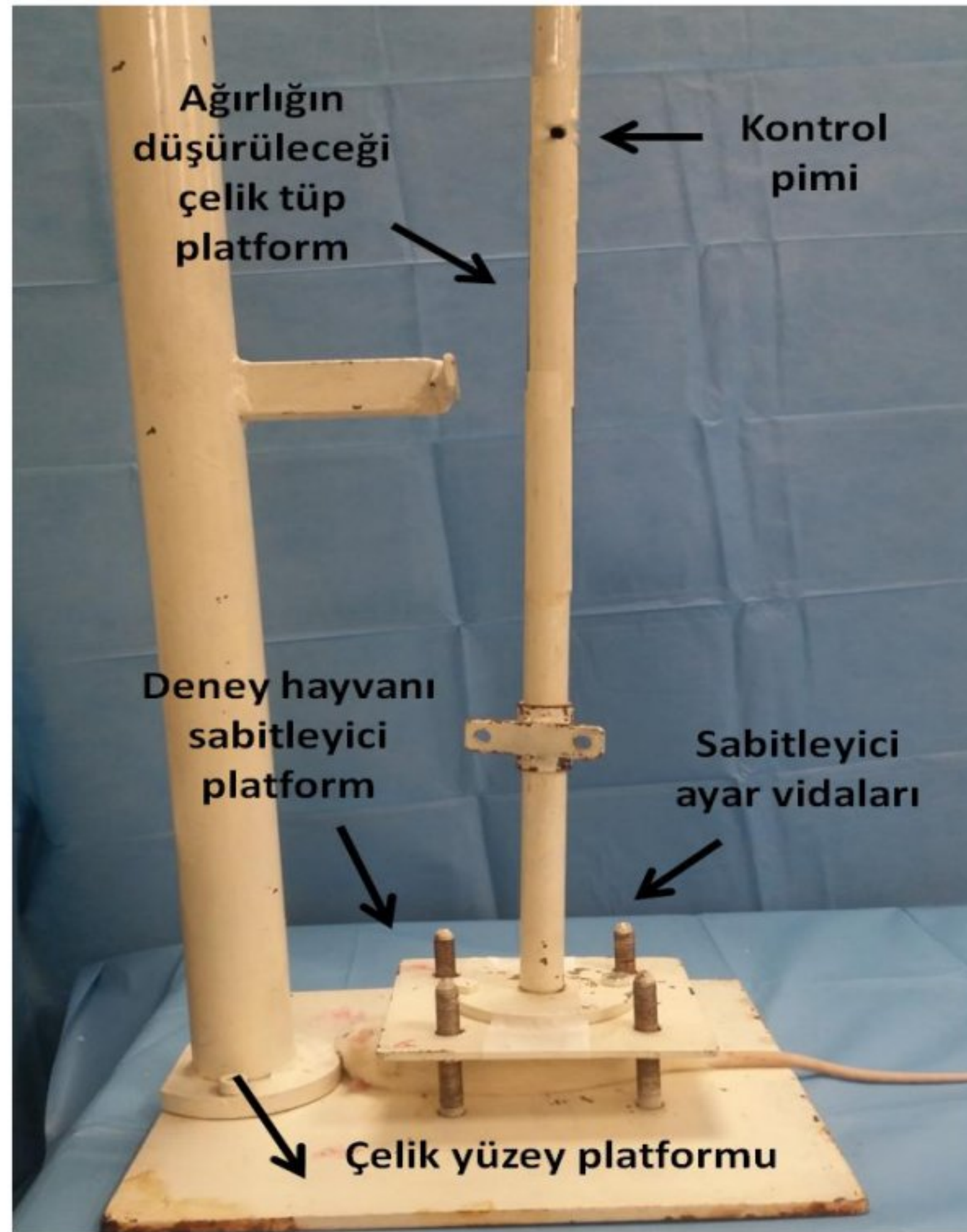
3.1. ANESTEZİ

Sıçanlara deneysel prosedür öncesinde ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı) 50 mg/kg + ksilazin (Rompun®, Bayer) 15 mg/kg intraperitoneal yolla uygulanarak, işlem boyunca sıçanların solunumları spontan olarak devam edecek şekilde anestezi ve sedasyon sağlandı.

3.2. TRAVMA MODELİ

AK oluşturmak için Raghavendran ve arkadaşlarının tanımladığı izole bilateral akciğer kontüzyon modelinin modifiye edilmesi ile oluşturulan tek taraflı AK modeli uygulandı (117).

Bu modelde AK, alüminyum metalden imal edilmiş olan silindirik şeklindeki ağırlığın, vertikal olarak platform üzerine monte edilmiş çelik tüpün içinden serbest düşürülmesi ile oluşturuldu (Şekil 3.1). Ağırlığın düştüğü platformun alt noktasına sıçanın sağ lateral göğüs duvarına değecek şekilde temas sağlandı. Sıçanın orta aksiller hat ve ksifoid prosesi işaretlenerek standardizasyon ve optimizasyon sağlandı.



Şekil 3.1. Travma modeli

Düşürülen ağırlığın hayvana transfer edilen potansiyel enerjisinin belirlenmesinde Newton kanunu denklemi ($E=mgh$) kullanıldı.

(E: enerji (J), m: ağırlık (gram, g), g: yerçekimi ivmesi ($9.8m/s^2$), h: ağırlığın bırakıldığı yerden platforma yüksekliği (metre, m))

Amerika Kurumsal Hayvan Bakım ve Kullanım Kurulu (IACUC, *Institutional Animal Care ve Use Committee*)'nın belirlediği subletal göğüs impakt enerji mortalite oranı %15 olup impakt enerji 2.7 J'de mortalite oranı bu limiti aşmaktadır. Yapılan çalışmalarda 1.8-2.45 J ile oluşturulan hasarda hayvanların gross muayenesinde akciğerde kontüzyon olduğu, göğüs grafisinde kaburga kırığı olmadığı, kalp kası doku harabiyetinin fazla olmadığı gösterilmiştir (117).

Bu çalışmada 400 gram ağırlık 60 cm'den düşürülerek 2,35 J'lük bir enerji oluşturuldu. Sürtünme kuvveti gözardı edildi. Travma sonrasında bütün deneklerin solunum, beslenme ve sıvı ihtiyaçları takip edildi.

3.3. DENEY GRUPLARI

Sıçanlar, randomize seçilerek beş gruba ayrıldı.

AK 3: Akciğer Kontüzyon grubu (3 gün) (n=8): Bu gruptaki hayvanlara AK modeli uygulanıp, 3 gün standart yem ve su verildi.

B 3: Akciğer Kontüzyon + Bosentan grubu (3 gün) (n=8): Bu gruptaki hayvanlara AK modeli uygulanıp 3 gün standart yem ve su verildi. Travma sonrasında başlanarak, her sabah aynı saatte günde bir kez, 100mg/kg/gün dozunda bosentan gavaj yolu ile verildi.

AK 7: Akciğer Kontüzyon grubu (7 gün) (n=8): Bu gruptaki hayvanlara AK modeli uygulanıp, 7 gün standart yem ve su verildi.

B 7: Akciğer Kontüzyon + Bosentan grubu (7 gün) (n=8): Bu gruptaki hayvanlara AK modeli uygulanıp 7 gün standart yem ve su verildi. Travma sonrasında başlanarak, her sabah aynı saatte günde bir kez, 100mg/kg/gün dozunda bosentan gavaj yolu ile verildi.

K: Kontrol grubu (n=6): Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir cerrahi işlem yapılmadan standart yem ve su verildi.

Deney gruplarındaki hayvanlara 3. ve 7. günlerde doku örnekleme öncesinde ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı) 50 mg/kg + ksilazin (Rompun®, Bayer) 15 mg/kg intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi ve

sedasyon sağlandıktan sonra median sternotomi ile sağ akciğer üst, orta ve alt lobları çıkarıldı. Deney sonrası tüm hayvanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Çıkarılan akciğer dokusundan biyokimya için alınan doku örnekleri önce -20°C'ye konuldu. Ardından kuru buz içerisinde çalışılacağı alana taşınarak -80°C'de muhafaza edildi. Histopatolojik inceleme için alınan örnekler % 10 formaldehit içine konuldu. Deney tamamlandıktan sonra doku örnekleri toplu halde çalışıldı.

3.4. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik olarak akciğer dokusunda alveolar ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu ve fibrozis değerlendirildi. %10 formaldehit içinde fikse edilen akciğer dokularından elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson-Trikrom (MTK) ile boyanarak incelendi. Histopatolojik değerlendirme, tek bir patolog tarafından kör olarak yapıldı. Mikroskopik değerlendirme için Olympus BX-51 ışık mikroskobu, fotoğraf çekimi için Olympus DP 72 sistemi kullanıldı.

H&E ile boyanan parafin bloklarda alveolar ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonu incelendi.

Alveolar ödem ve konjesyon düzeyi, 0'dan 3'e kadar skorlanarak belirlendi (118).

0: patoloji yok (%0-%5) (maksimum patoloji %5'in altında)

1: hafif (%6-%15)

2: orta düzey (%16-20)

3: şiddetli (%21-25)

Lökosit infiltrasyonu, 40X büyütme ile her bir bölüm, 10 alt bölüme ayrılarak değerlendirildi ve lökosit infiltrasyonu düzeyi, her bir alt bölümde yapılan şu skarlama ile belirlendi (118).

0: Ekstravasküler lökosit yok

1: 10'un altında lökosit

2: 10-45 arası lökosit

3: 45'den fazla lökosit

MTK ile boyanan parafin bloklarda akciğer fibrozisi incelendi. Her bir bölüm, 10 alt bölüme ayrıldı ve 20X büyütme ile her bir alt bölümde yapılan değerlendirme ile fibrozis 0'dan 4'e kadar skorlandı (119).

0: Normal akciğer yapısı

1: İnteralveoler septanın % 50'den azının artmış kalınlığı

2: İnteralveoler septanın % 50'den fazlasının fibrotik odaklar oluşmadan kalınlaşması

3: İnteralveoler septanın izole fibrotik odaklar şeklinde kalınlaşması

4: Parankimal yapının tam veya kısmi bozulması ile birlikte multipl fibrotik odaklar oluşumu

3.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

İmmunohistokimyasal olarak TUNEL, iNOS ve eNOS çalışıldı, değerlendirme tek bir patolog tarafından kör olarak yapıldı. Mikroskopik değerlendirme için Olympus BX-51 ışık mikroskobu, fotoğraf çekimi için Olympus DP 72 sistemi kullanıldı.

Apoptozisin immunohistokimyasal olarak gösterilebilmesi için TUNEL (ApopTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Kit, Kodu: S7101, Üretici-Ülke: EMD Millipore, Temecula, CA, USA) yöntemi kullanıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek değerlendirildi. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Her bir bölüm, 10 alt bölüme ayrıldı ve 40X büyütme ile her bir alt bölümde yapılan değerlendirme ile 0'dan 4'e kadar skorlandı (120).

0: Boyanma yok

1: Hücrelerin %10'undan azında boyanma

2: %11-20 hücrede boyanma

3: %21-40 hücrede boyanma

4: Hücrelerin %40'undan fazlasında boyanma

iNOS aktivitesinin immunohistokimyasal olarak belirlenmesi için iNOS antikor kiti (Primer Antikor: iNOS, Clone: Polyclonal, Kodu: E3740, Üretici -

Ülke: SPRING Bioscience Pleasanton, CA, USA, sekonder kit: LEICA-UK, Bond Polymer Refine Detection wDAB, IHC Stainer: LEICA-UK, Bond Max IHC Stainer) kullanıldı. iNOS boyamanın değerlendirilmesinde sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir bölüm, 10 alt bölüme ayrıldı ve 40X büyütme ile her bir alt bölümde yapılan değerlendirme ile 0'dan 4'e kadar skorlandı (120).

0: Boyanma yok

1: Hücrelerin %10'undan azında boyanma

2: %11-20 hücrede boyanma

3: %21-40 hücrede boyanma

4: Hücrelerin %40'undan fazlasında boyanma

eNOS aktivitesinin immunohistokimyasal olarak belirlenmesi için eNOS antikor kiti (Primer Antikor: eNOS, Clone: Polyclonal, Kodu: E4110, Üretici - Ülke: SPRING Bioscience Pleasanton, CA, USA, sekonder kit: LEICA-UK, Bond Polymer Refine Detection wDAB, IHC Stainer: LEICA-UK, Bond Max IHC Stainer) kullanıldı. eNOS boyamanın değerlendirilmesinde her sıçan için üç farklı doku kesitinde aynı patolog tarafından üç kez, boyanmanın en yoğun olduğu alanlar değerlendirilerek, 40X büyütme ile semi-kantitatif olarak 0'dan 3'e kadar skorlandı (121). Sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi.

0: Boyanma yok

1: Zayıf boyanma

2: Orta derecede boyanma

3: Yoğun boyanma

3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Akciğer dokuları homojenizatör (Next Advance Bullet Blender Storm 24) aracılığıyla %20'lik fosfat tamponu (PBS) kullanılarak homojenize edildi. Tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. Homojenatlar 40°C'de 3000 x g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek debris uzaklaştırıldı. Süpernatant olarak alınarak SOD, MDA ve NO tayini gerçekleştirildi.

3.6.1. Doku Süperoksit Dismutaz Düzeyinin Ölçümü

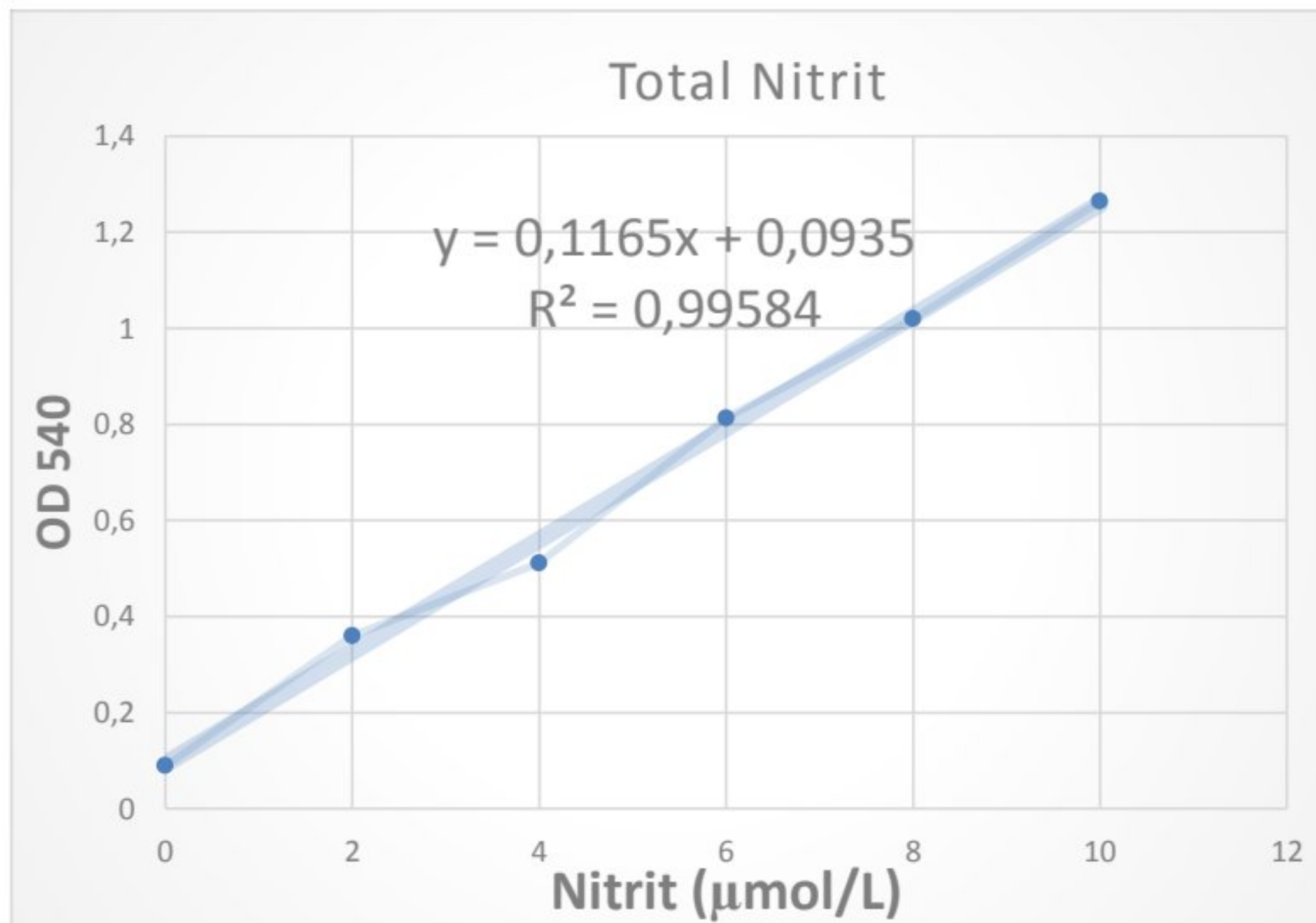
Süperoksit dismutaz aktivitesi, Sun ve arkadaşlarının modifiye ettiği yöntemle tayin edildi (122). Bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren sitozolik süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) ölçüldü. Bu yöntem, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitro blue tetrazolium (NBT)'u indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri ortamdaki NBT'yi indirgeyerek renkli formazonlar oluşturur. SOD enziminin bulunmadığı veya aktivitesinin düşük olduğu ortamda bu indirgenme meydana gelir ve mavi-mor renk oluşur.

3.6.2. Doku Malondialdehit Düzeyinin Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, Ohkawa ve arkadaşlarının modifiye ettiği yöntem kullanılarak ölçüldü (123). Tiyobarbitürik Asit-Reaktif Maddeler (TBARS) konsantrasyonu, $1.56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ mol / L}$ extinction katsayısı kullanılarak hesaplandı.

3.6.3. Doku Nitrik Oksit Düzeyinin Ölçümü

Doku NO düzeyleri spektrofotometrik ticari kit (BioVision, Incorporated 155 S. Milpitas Boulevard, Milpitas, CA 95035, USA) ile ölçüldü (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. NO ölçümü standart eğrisi (OD: optical density, ışınal yoğunluk)

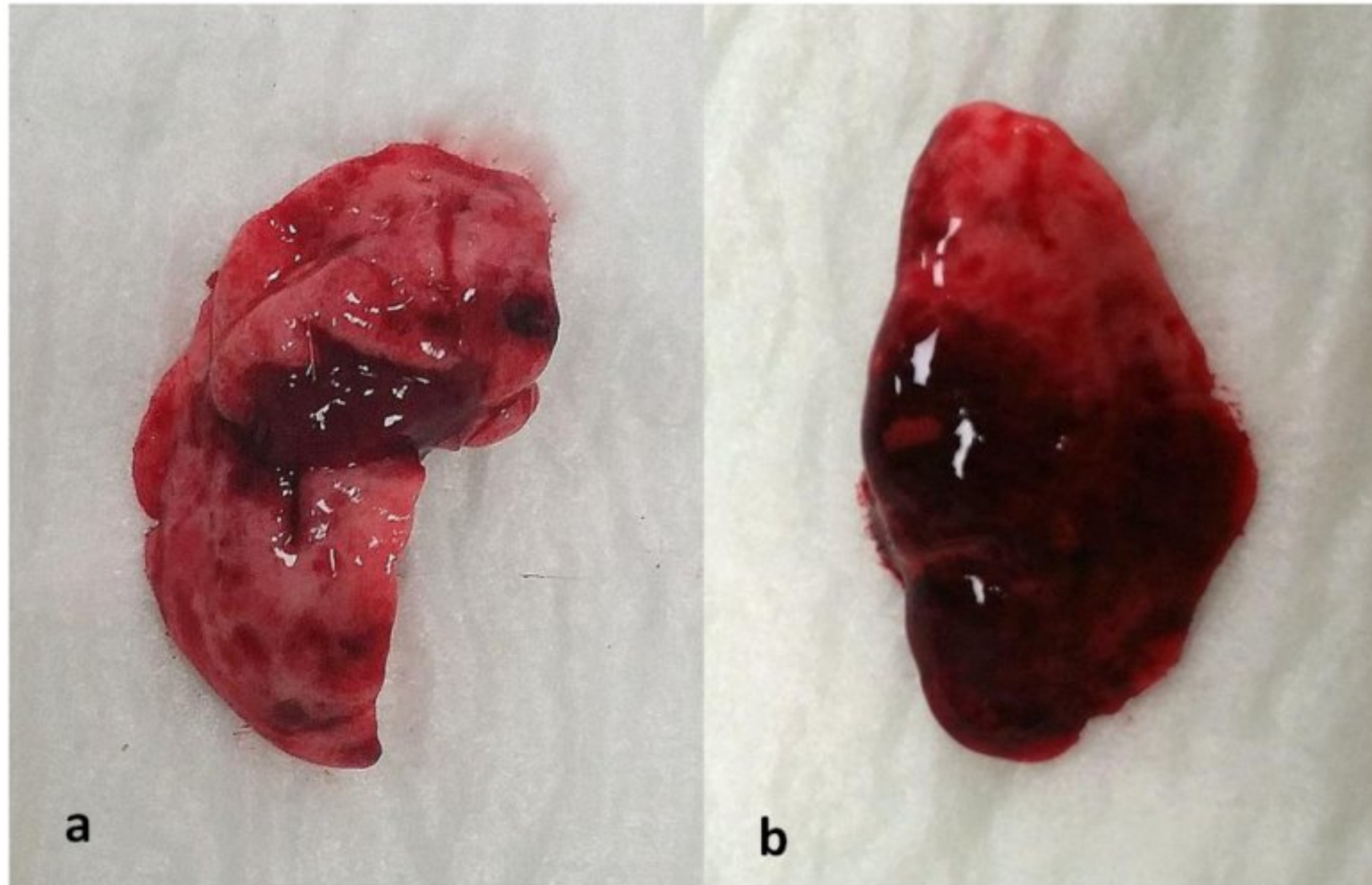
3.7. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerin (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) yanı sıra nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

4.1. MAKROSKOBİK BULGULAR

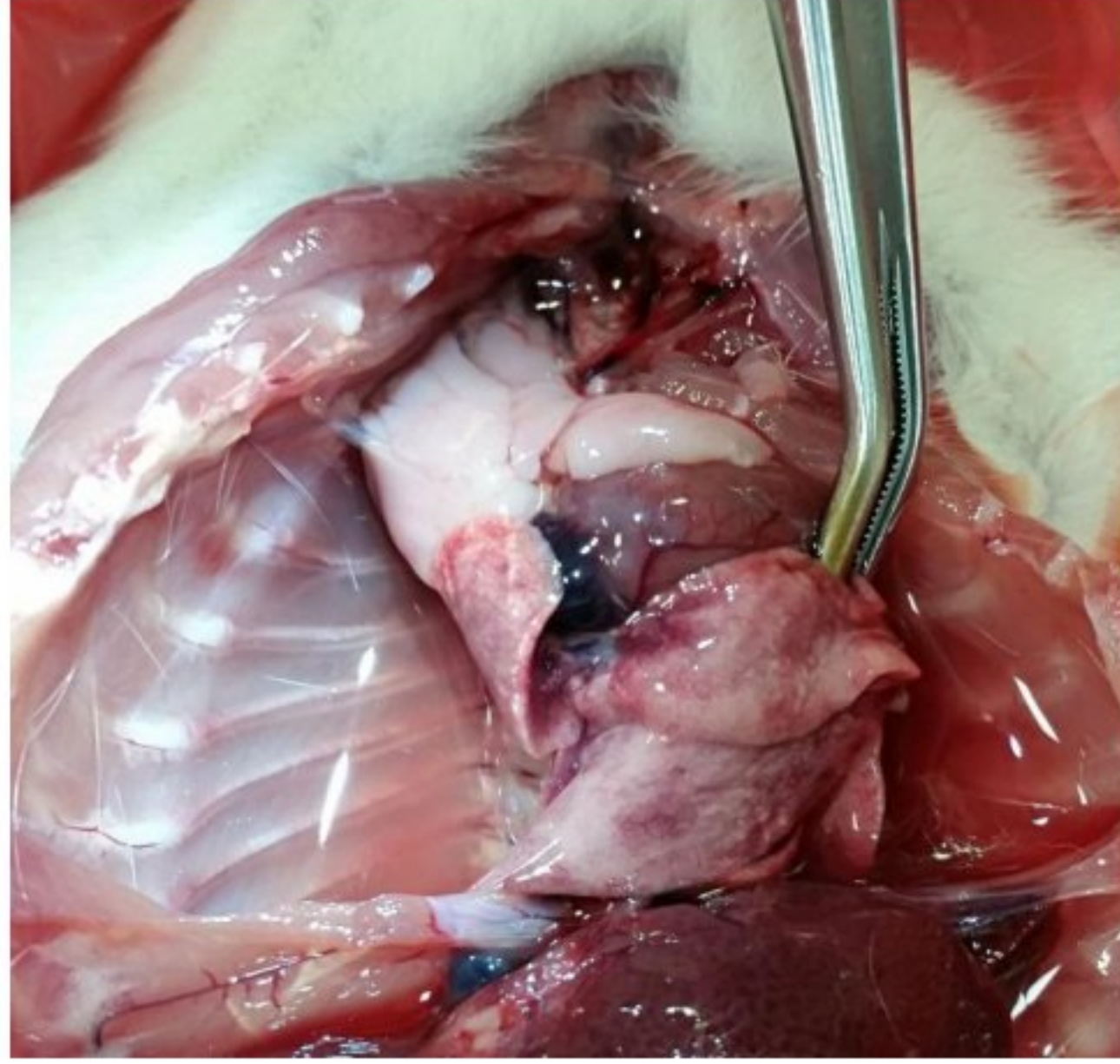
Çalışmaya toplam 37 sıçan dahil edildi. Deney işleminden hemen sonra 2 sıçan solunum arresti oldu ve deneyden çıkarıldı. Bu sıçanların yerine daha önce oluşturulmuş olan havuzdan 2 sıçan çalışmaya dahil edildi. Ölen sıçanların eksplorasyonunda her iki sıçanda da ölüm nedeninin yaygın kontüzyon ve hemotoraksa bağlı olduğu tespit edildi (Şekil 4.1). Deney sonrası gözlem sırasında, travma uygulanmasının ardından sıçanlarda akut solunumsal bir depresyon olduğu fakat saniyeler içerisinde bu durumun düzeldiği ve normal solunum hareketlerine tekrar kavuştukları gözlemlendi.



Şekil 4.1. Künt toraks travması sonrası ölen sıçanların akciğer bulguları

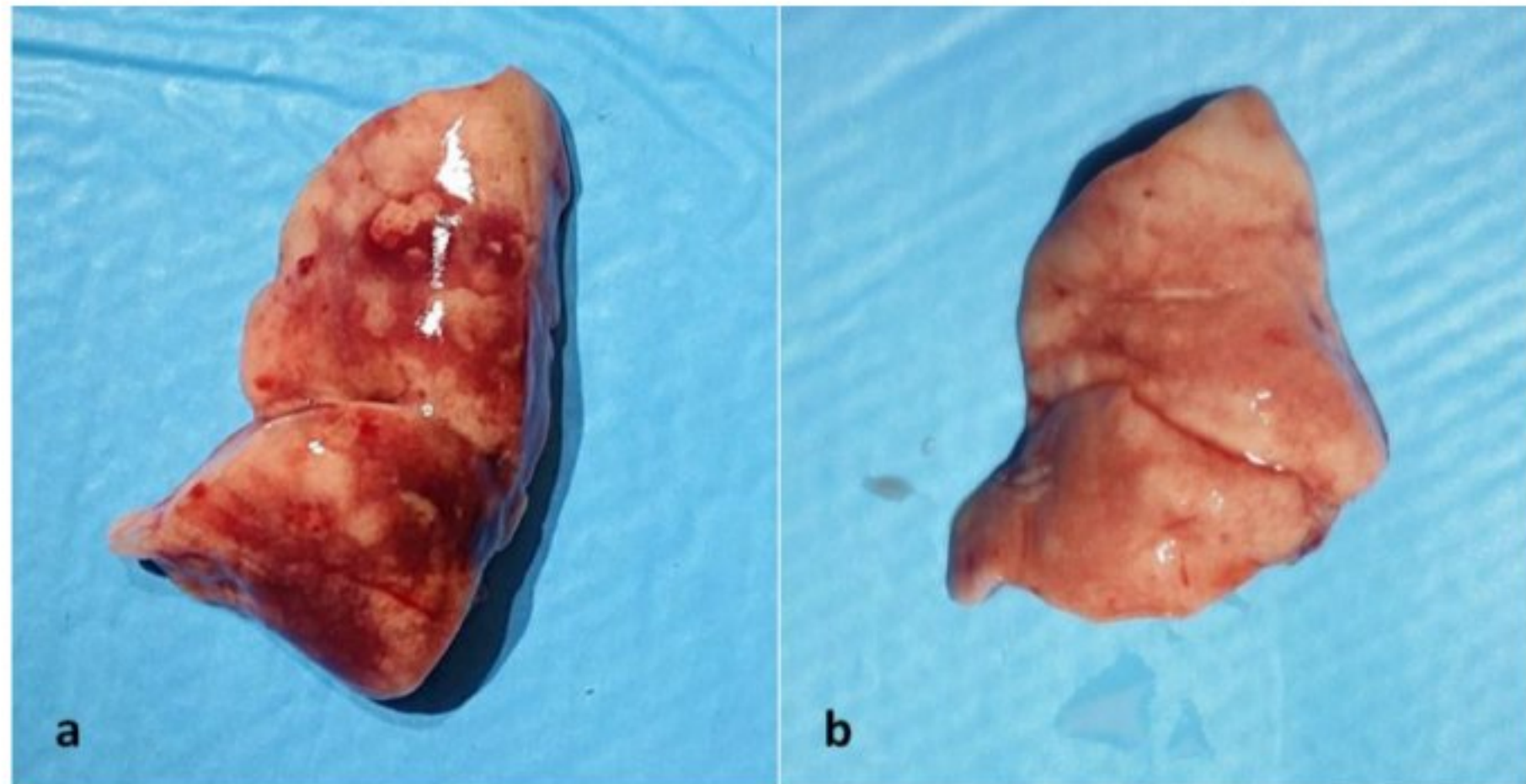
(a) Yaygın kontüzyon görünümü **(b)** Hemotoraks görünümü

AK 7 grubundaki bir sıçan, travma sonrası 48. saatte solunum yetmezliği nedeniyle arrest oldu. Yapılan otopside sıçanın ölüm nedeninin yaygın kontüzyon ve plevral efüzyona bağlı solunum yetmezliği olduğu tespit edildi (Şekil 4.2). Bu grubun istatistiksel verileri 7 sıçan üzerinden değerlendirildi.



Şekil 4.2. Akciğer kontüzyonu grubunda 48. saatte eksitus olan sıçanda yaygın kontüzyon ve plevral efüzyon bulguları

Sakrifikasyon sonrasında yapılan median sternotomi sırasında makroskopik olarak sıçanların sağ akciğerlerinde yama tarzında kontüzyonla uyumlu bulgular tespit edildi (Şekil 4.3). Bosentan tedavisinin verildiği grupta ise makroskopik olarak kontüzyonda azalma gözlemlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Akciğer kontüzyonu uygulanıp, 3. günde sternotomi sonrası değerlendirilen akciğer dokularının makroskopik görünümü

(a) Medikal tedavi almayan grup **(b)** Bosentan tedavisi alan grup

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

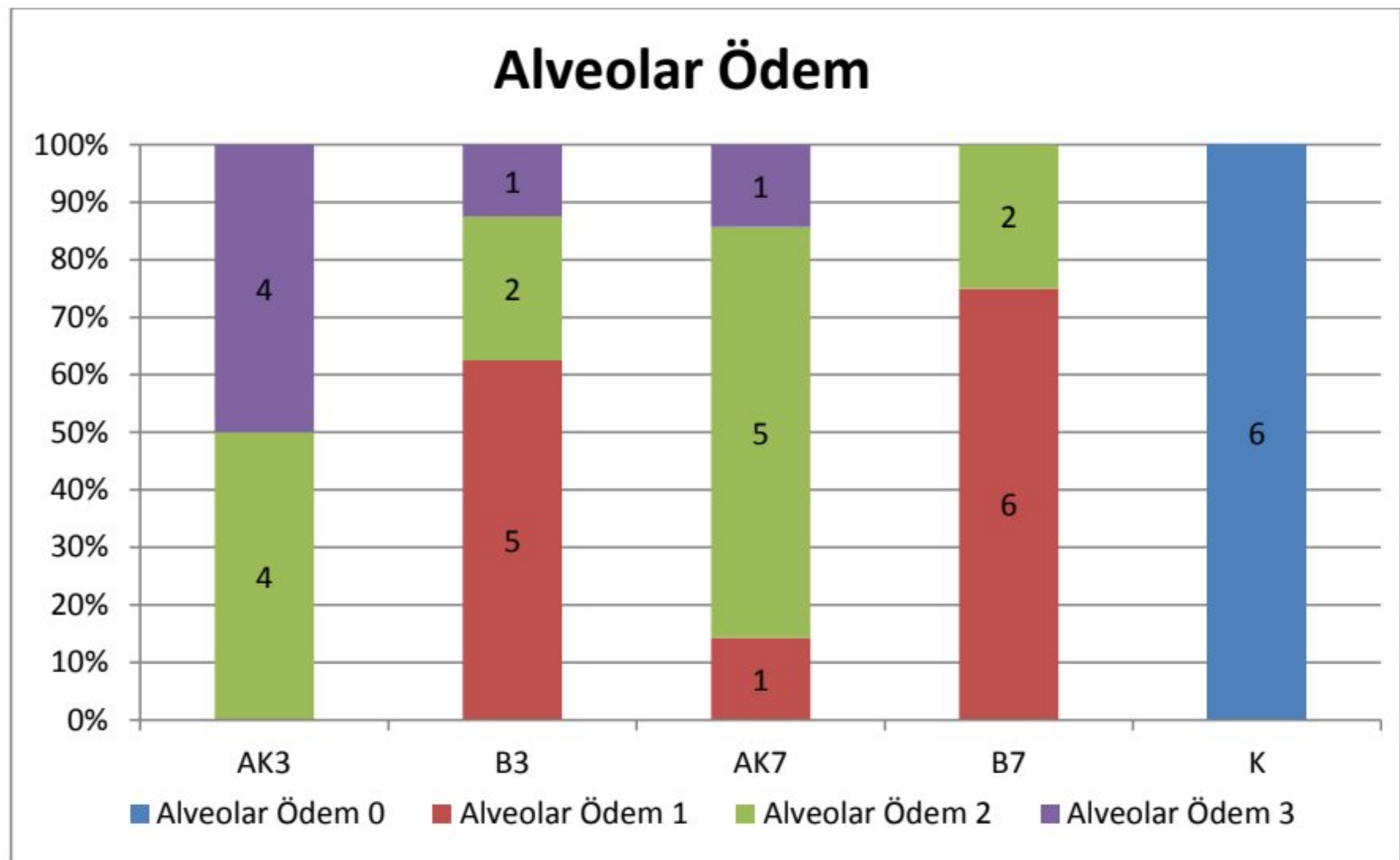
Tablo 4.1. Grupların Alveolar Ödem Patoloji Sonuçları

Alveolar Ödem Skoru	Gruplar					Test Değeri
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6(100,0)	$\chi^2:24,985$ 0,001**
1	0 (0,0)	1 (14,3)	5 (62,5)	6 (75,0)	0 (0,0)	
2	4 (50,0)	5 (71,4)	2 (25,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	
3	4 (50,0)	1 (14,3)	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Min-Maks	2 – 3	1 – 3	1 – 3	1 – 2	0	$\chi^2:24,985$ 0,001**
Medyan	2,5	2	1	1	0	
Ort±SS	2,50±0,53	2,00±0,58	1,50±0,76	1,25±0,46	0	

^aKruskal Wallis Test

AK:Akciğer kontüzyonu

B: Bosentan ** $p<0,01$



Şekil 4.4. Grupların alveolar ödem skorlarının dağılımı

Tablo 4.2. Alveolar Ödem Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	3	2	1	1	0
2	3	2	1	1	0
3	3	2	1	2	0
4	2	3	1	1	0
5	2	2	2	1	0
6	2	1	3	1	0
7	3	2	2	1	
8	2		1	2	
Ortalama	2.50 *	2.00*	1.50*,**	1.25*,***	0
Standart Sapma	0,53	0,58	0.76	0.46	0

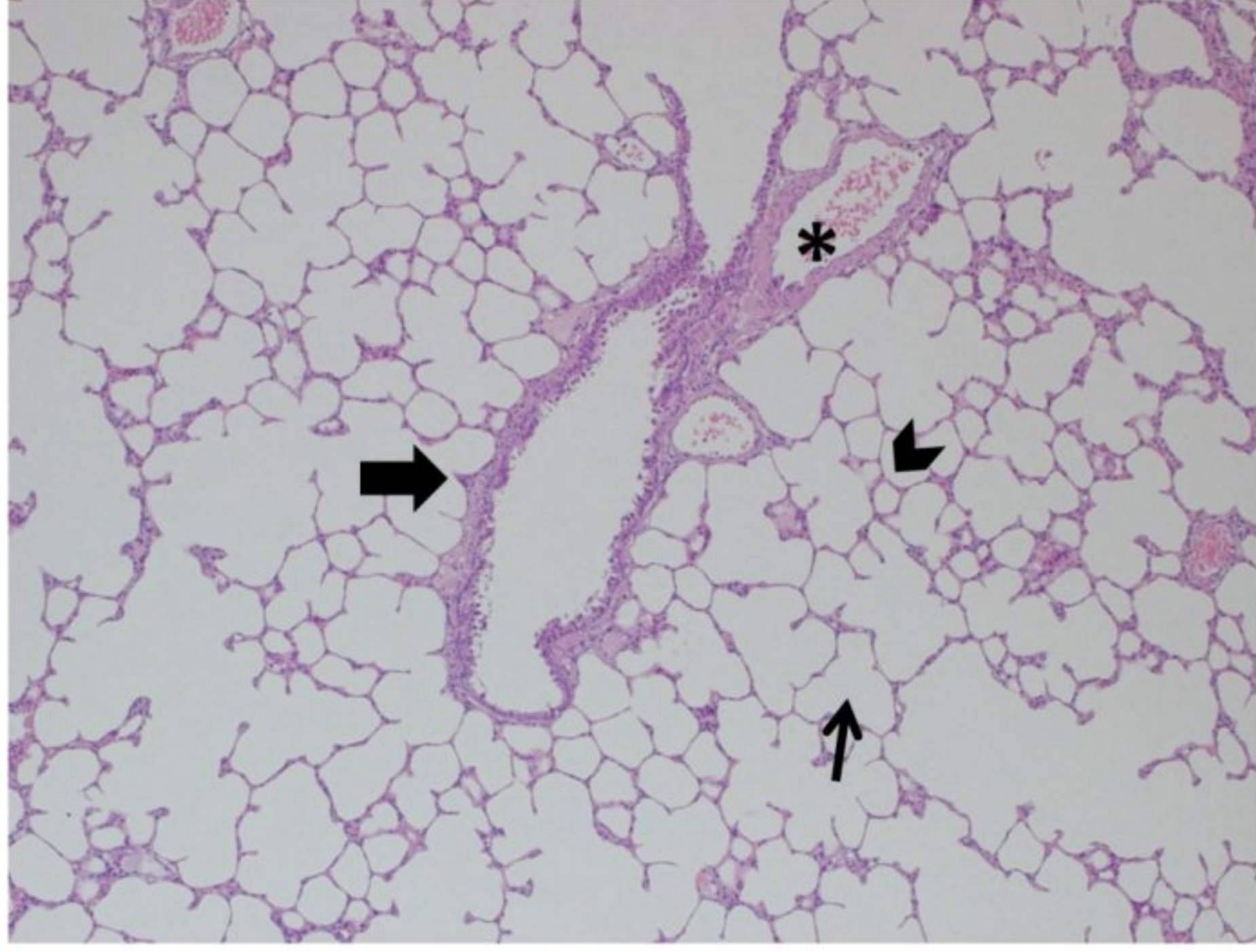
Mann Whitney U Test, AK:Akciğer kontüzyonu, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.01$

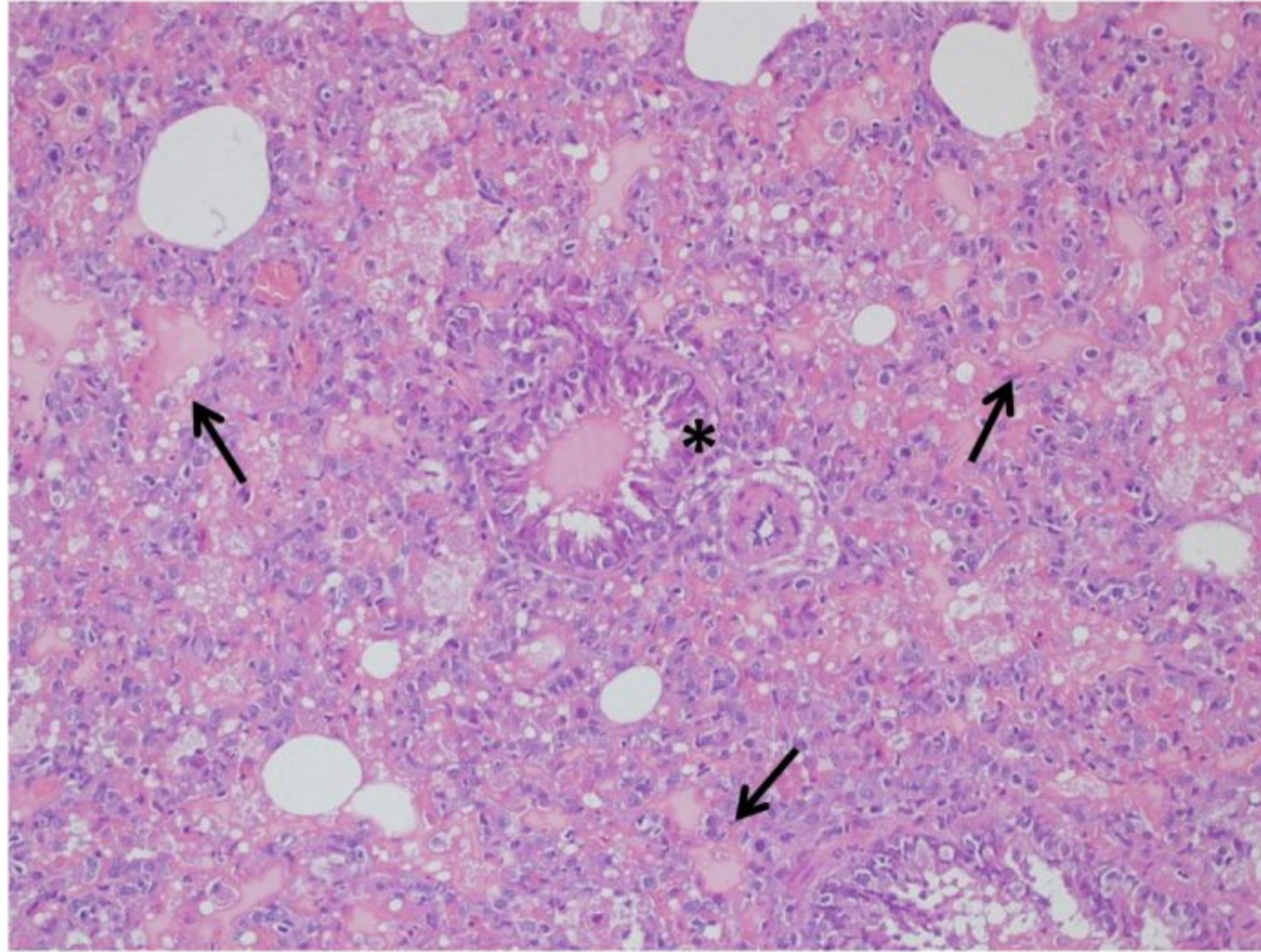
** AK3 grubuna göre $p < 0.05$

*** AK7 grubuna göre $p < 0.05$

Grupların alveolar ödem skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.4). Gruplar arasında alveolar ödem değerlendirildiğinde, AK 3 grubu alveolar ödem şiddeti, kontrol ve B 3 gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,01$, $p < 0,05$) (Şekil 4.5, 4.6). Aynı şekilde AK 7, B 3 ve B 7 gruplarının alveolar ödem şiddetinin de, kontrol grubu olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,01$). A 3 ve A 7 gruplarının alveolar ödem düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Kontüzyon uygulandıktan sonra bosentan ile tedavi edilen B 3 ve B 7 gruplarında sırasıyla A 3 ve A 7 gruplarına göre alveolar ödem düzeylerinde iyileşme saptandı ($p < 0,05$) (Tablo 4.2)



Şekil 4.5. Kontrol grubu: kontüzyon uygulanmayan normal akciğer dokusu alveolar boşluk (ince ok), alveolar septa (ok başı), bronşiol (kalın ok) ve damar yapısı (yıldız)görünümü (H&E)(10X)



Şekil 4.6. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, yoğun alveoler ödem, konjesyon ve hemoraji (oklar) görünümü (skor 4), bronşiol yapısı (*) (H&E)(20X)

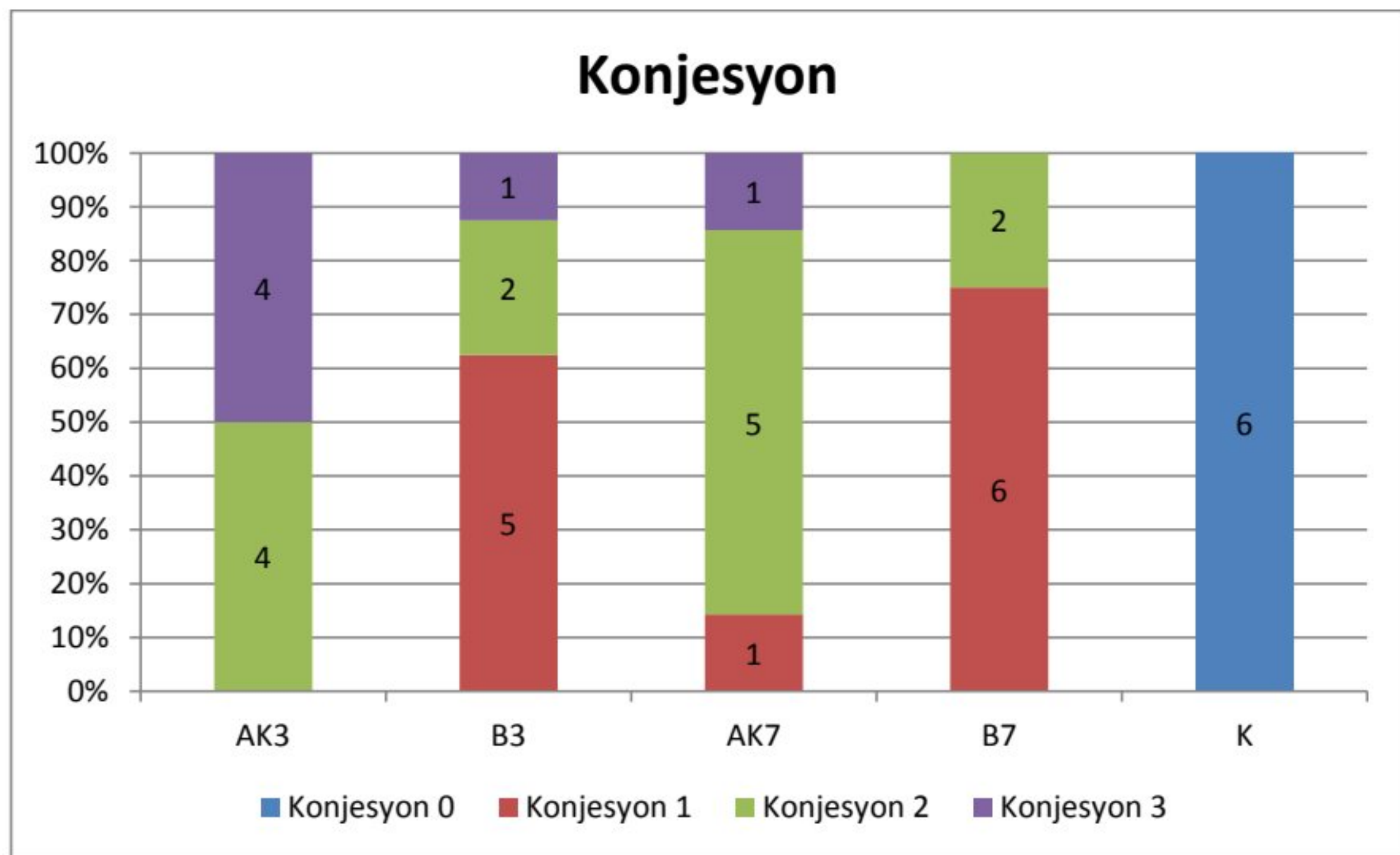
Tablo 4.3. Grupların Konjesyon Patoloji Sonuçları

Konjesyon Skoru	Gruplar					Test Değeri ^a p
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6(100,0)	$\chi^2:24,985$ 0,001**
1	0 (0,0)	1 (14,3)	5 (62,5)	6 (75,0)	0 (0,0)	
2	4 (50,0)	5 (71,4)	2 (25,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	
3	4 (50,0)	1 (14,3)	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Min-Maks	2 – 3	1 – 3	1 – 3	1 – 2	0	
Medyan	2,5	2	1	1	0	
Ort±SS	2,50±0,53	2,00±0,58	1,50±0,76	1,25±0,46	0	

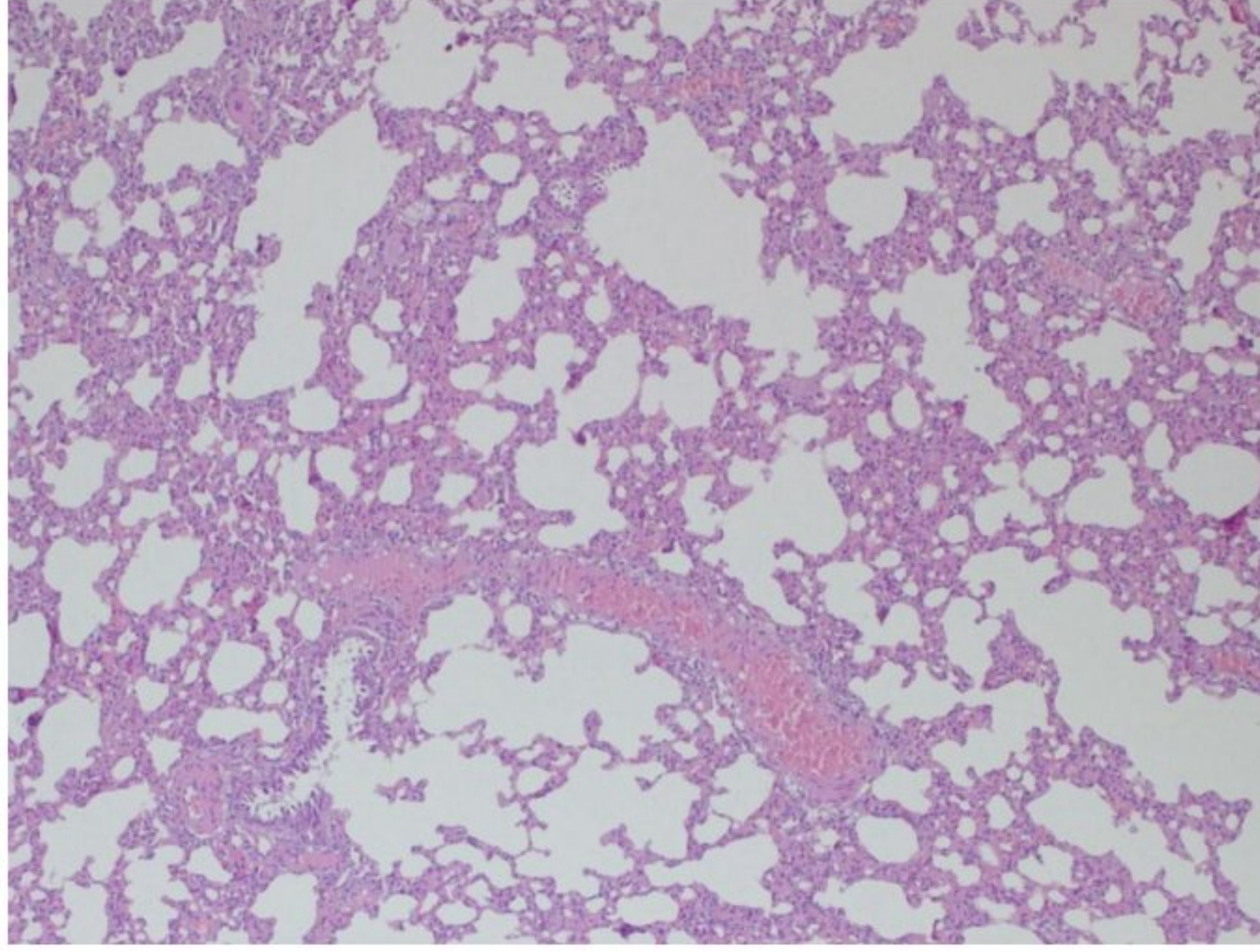
^aKruskal Wallis Test

AK:Akciğer kontüzyonu

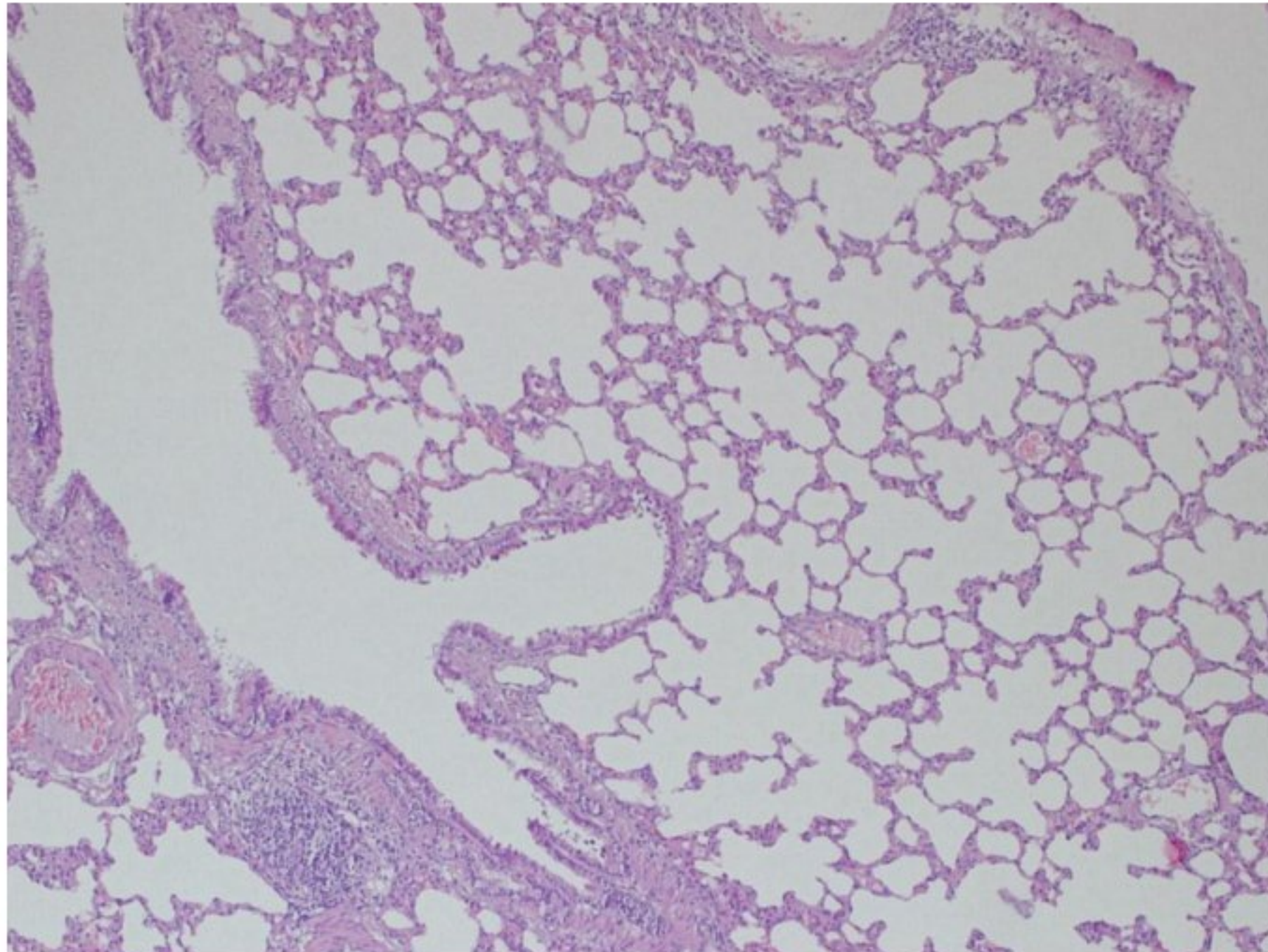
B: Bosentan **p<0,01

**Şekil 4.7.** Grupların konjesyon skorlarının dağılımı

Grupların konjesyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0,01$) (Tablo 4.3) (Şekil 4.7). Konjesyon patoloji sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3, AK 7, B 3 ve B 7 gruplarının konjesyon skorlarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0,01$) A 3 ve A 7 gruplarının konjesyon düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Kontüzyon uygulandıktan sonra bosentan ile tedavi edilen B 3 ve B 7 gruplarında alveolar konjesyonun sırasıyla A 3 ve A 7 gruplarına göre azaldığı görüldü ($p<0,05$) (Tablo 4.4) (Şekil 4.8,4.9).



Şekil 4.8. AK 7 grubu: kontüzyondan sonra 7. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon görünümü (skor 2), (H&E)(10X)



Şekil 4.9. B 7 grubu: bosentan tedavisi alan ratların 7. günde örneklenen akciğer dokusu, daha az yoğunlukta konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon (skor 1), (H&E)(10X)

Tablo 4.4. Konjesyon Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	3	2	1	1	0
2	3	2	1	1	0
3	3	2	1	2	0
4	2	3	1	1	0
5	2	2	2	1	0
6	2	1	3	1	0
7	3	2	2	1	
8	2		1	2	
Ortalama	2.50 *	2.00*	1.50*,**	1.25*,***	0
Standart Sapma	0,53	0,58	0.76	0.46	0

Mann Whitney U Test, AK:Akciğer kontüzyon, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.01$

** AK3 grubuna göre $p < 0.05$

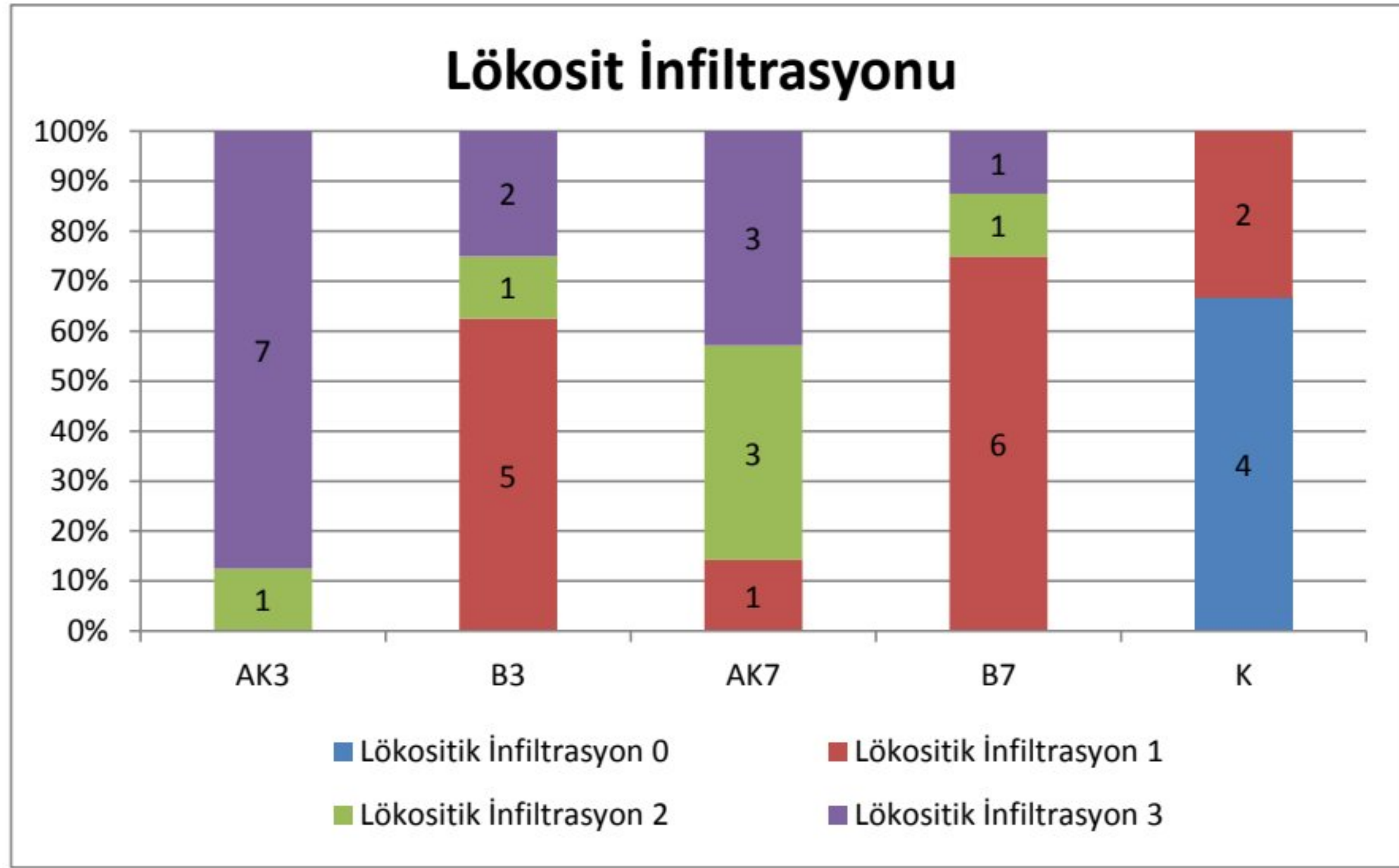
*** AK7 grubuna göre $p < 0.05$

Tablo 4.5. Grupların Lökosit İnfiltrasyonu Patoloji Sonuçları

Lökosit İnfiltrasyonu Skoru	Gruplar					Test Değeri
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (66,7)	
1	0 (0,0)	1 (14,3)	5 (62,5)	6 (75,0)	2 (3,3)	
2	1 (12,5)	3 (42,9)	1 (12,5)	1 (12,5)	0 (0,0)	
3	7 (87,5)	3 (42,9)	2 (25,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	
<i>Min-Maks</i>	2 – 3	1 – 3	1 – 3	1 – 3	0 – 1	$\chi^2: 22,301$
<i>Medyan</i>	3	2	1	1	0	0,001**
<i>Ort±SS</i>	2,88±0,35	2,29±0,76	1,63±0,92	1,38±0,74	0,33±0,52	

*aKruskal Wallis Test AK:Acığer kontüzyonu B: Bosentan ** $p < 0,01$*

Grupların lökosit infiltrasyonu skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 4.5) (Şekil 4.10). Lökosit infiltrasyonu patoloji sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 7, B 3 ve B 7 gruplarının lökosit infiltrasyonu skorları, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,05$) (Tablo 4.6). AK 3 grubu lökosit infiltrasyonu skoru ise, B 3 ve kontrol gruplarına göre yüksekti ($p < 0,05$, $p < 0,01$) (Şekil 4.11, 4.12). A 3 ve A 7 gruplarının lökosit infiltrasyonu düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Bosentan ile tedavi edilen B 3 ve B 7 gruplarında lökosit infiltrasyonu skorlarının sırasıyla A 3 ve A 7 gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü ($p < 0,05$)



Şekil 4.10. Grupların lökosit infiltrasyonu skorlarının dağılımı

Tablo 4.6. Lökosit İnfiltrasyonu Patoloji Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	3	3	2	1	0
2	2	3	1	1	1
3	3	3	1	1	0
4	3	2	1	3	1
5	3	2	3	1	0
6	3	1	1	1	0
7	3	2	3	1	
8	3		1	2	
Ortalama	2.88 **	2.29*	1.63*,***	1.38*,****	0,33
Standart Sapma	0,35	0,76	0.92	0.74	0,52

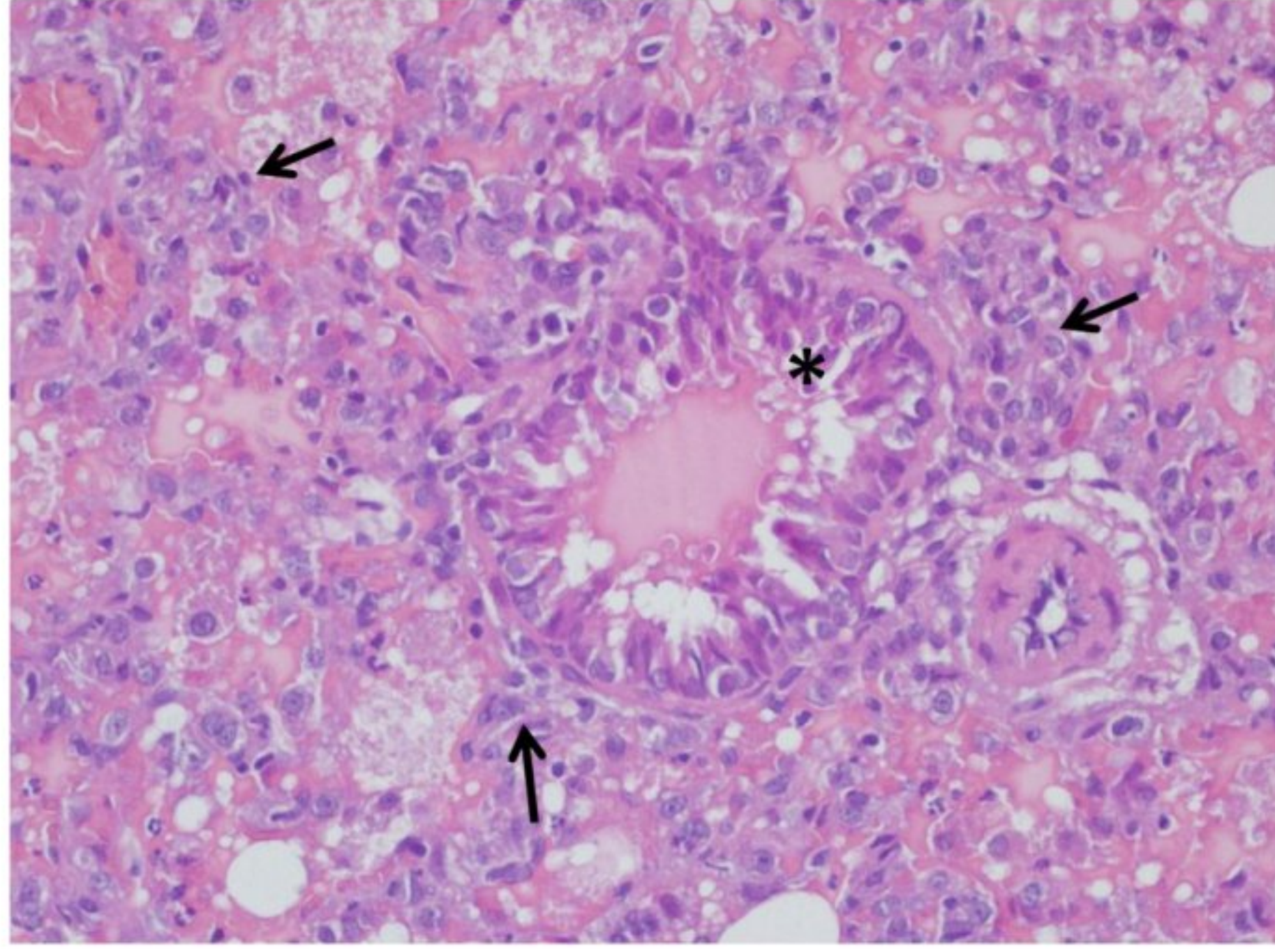
Mann Whitney U Test , AK:Akciğer kontüzyonu, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$

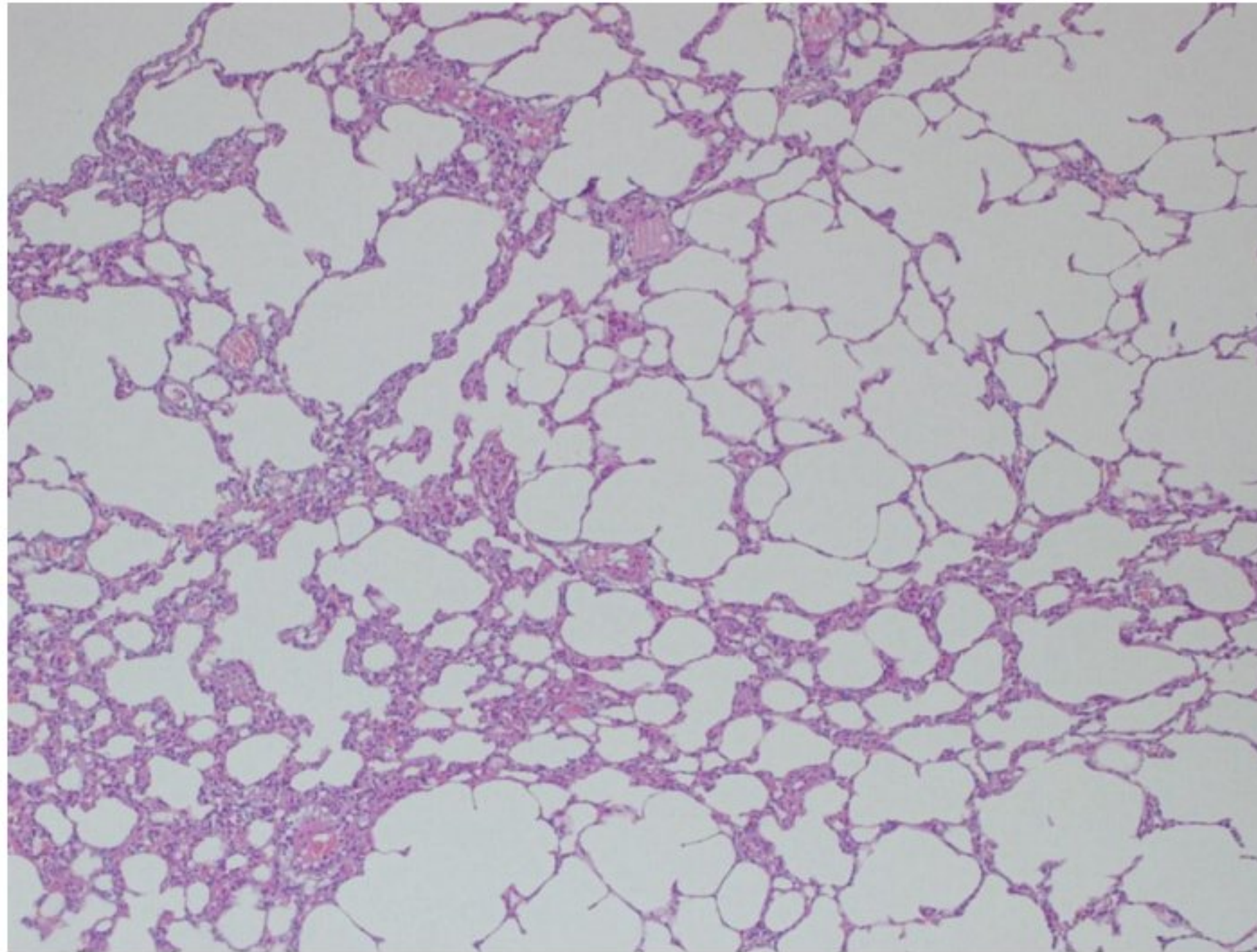
** Kontrol grubuna göre $p < 0.01$

*** AK3 grubuna göre $p < 0.05$

**** AK7 grubuna göre $p < 0.05$



Şekil 4.11. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu, yoğun lökositik infiltrasyon (oklar) görünümü (skor 4), bronşiol yapısı (*) (H&E)(40X)



Şekil 4.12. B 3 grubu: bosentan tedavisi alan ratların 3. günde örneklenen akciğer dokusu, daha az yoğunlukta konjesyon, alveolar ödem ve lökositik infiltrasyon (skor 1), (H&E)(10X)

Tablo 4.7. Grupların Fibrozis Skoru Sonuçlarını

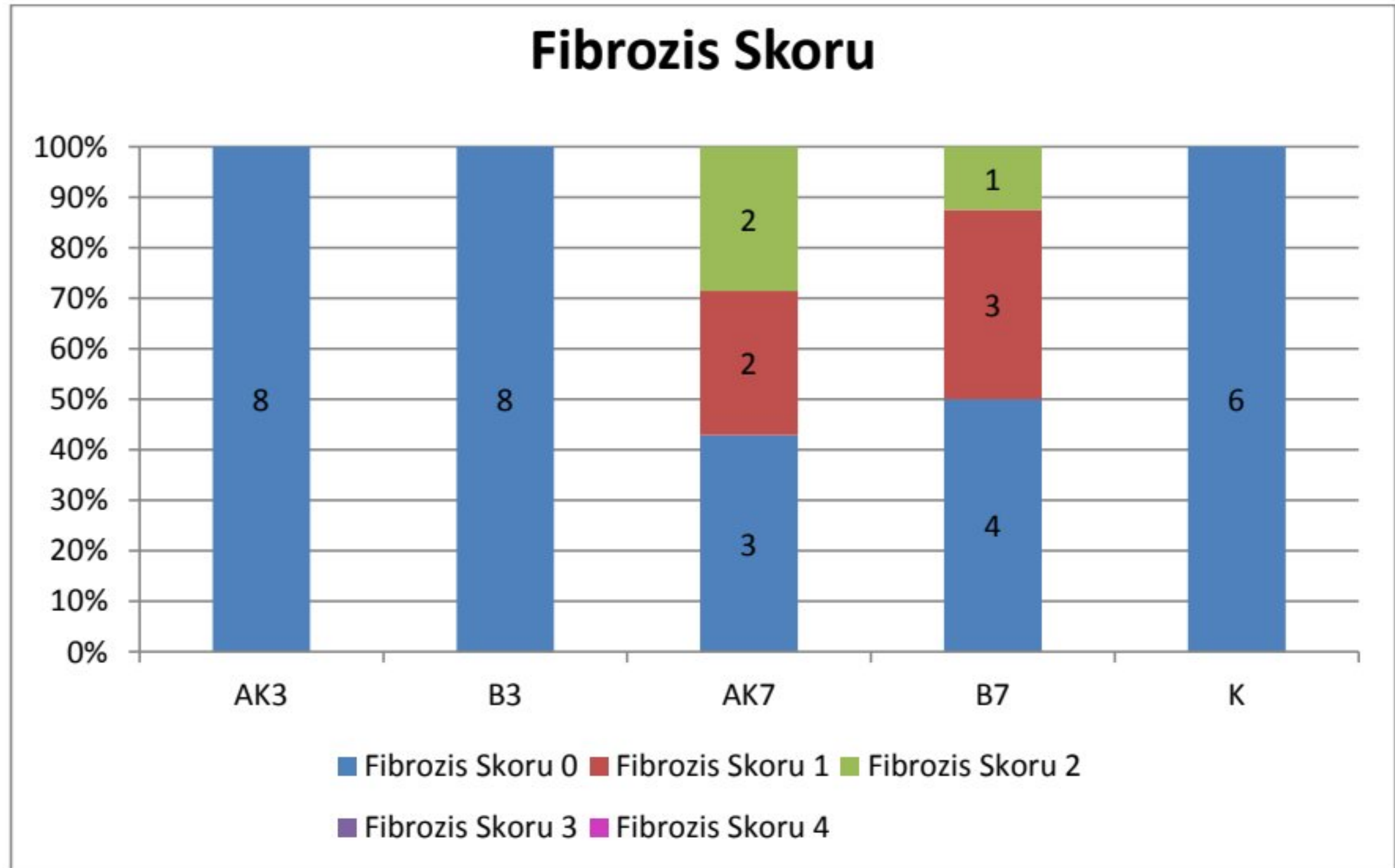
Fibrozis Skoru	Gruplar					Test Değeri
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	8(100,0)	3 (42,9)	8(100,0)	4 (50,0)	6 (100,0)	
1	0 (0,0)	2 (28,6)	0 (0,0)	3 (37,5)	0 (0,0)	
2	0 (0,0)	2 (28,6)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	
Min-Maks	0	0 – 2	0	0 – 2	0	$\chi^2:14,578$
Medyan	0	1	0	0,5	0	^a0,006**
Ort±SS	0	0,86±0,90	0	0,63±0,74	0	

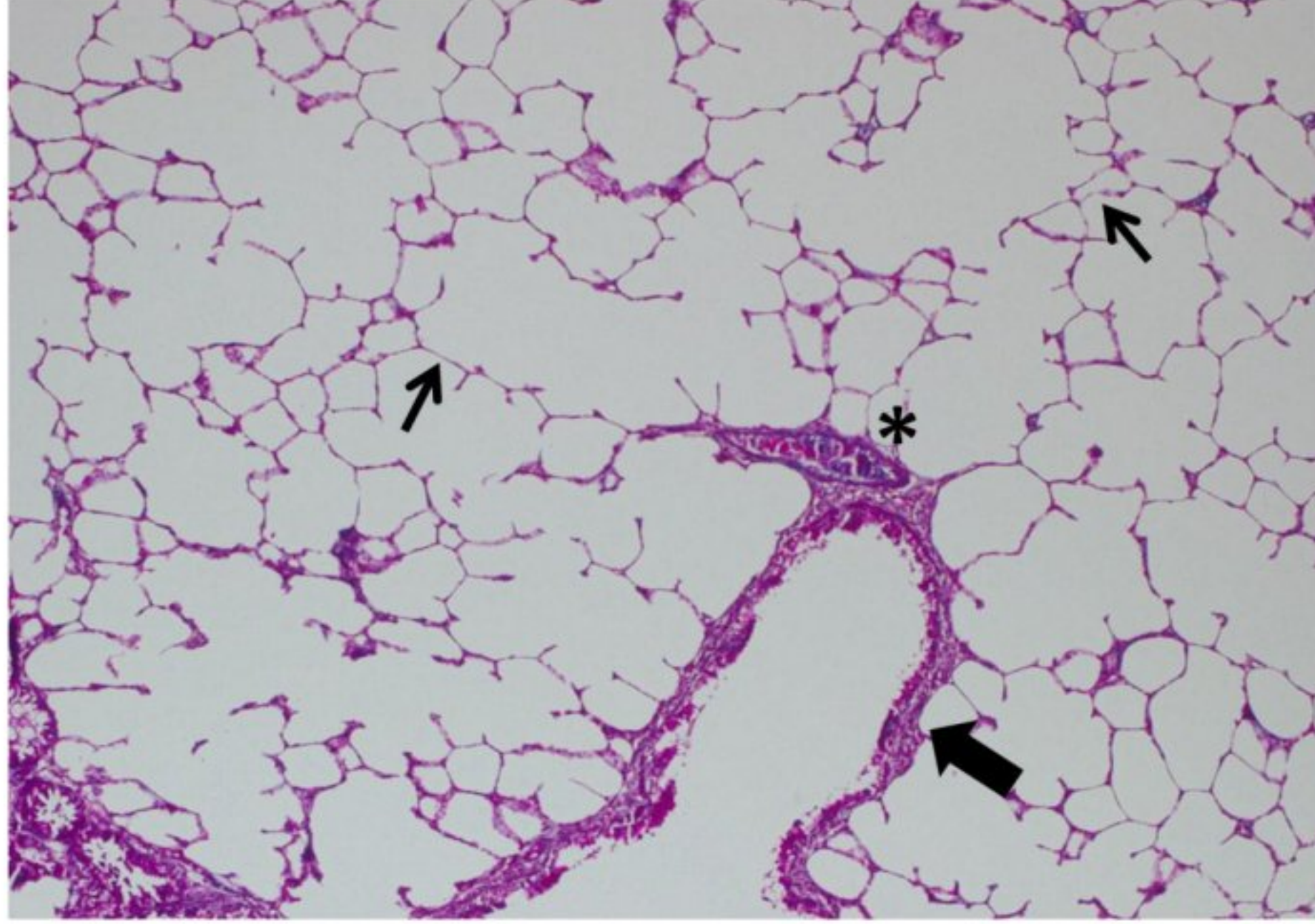
^aKruskal Wallis Test

AK:Akciğer kontüzyonu

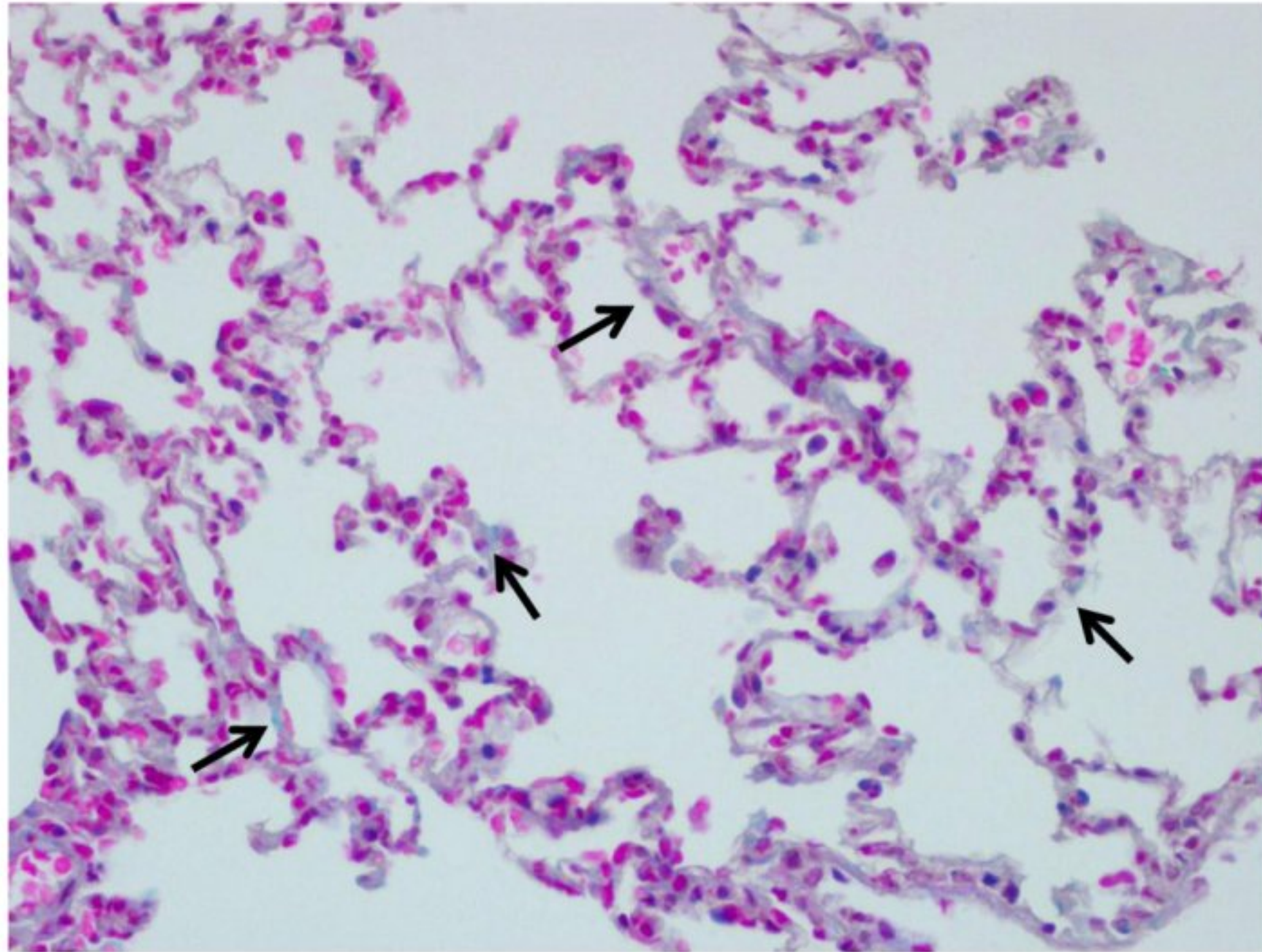
B: Bosentan ** $p<0,01$

Grupların fibrozis skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$) (Tablo 4.7) (Şekil 4.13). Fibrozis patoloji sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 7 grubu fibrozis skorları, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,05$) (Şekil 4.14, 4.15). AK 3 ve B 3 grupları fibrozis skorları, sırasıyla AK 7 ve B 7 gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0,05$). AK 3 grubu ile B 3 grupları arasında fibrozis skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Bosentan tedavisi alan B 7 grubu ile AK 7 grupları arasında da fibrozis skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.8)

**Şekil 4.13.** Grupların fibrozis skoru dağılımı



Şekil 4.14. Kontrol grubu: kontüzyon uygulanmayan normal akciğer dokusu, MTK ile boyanma yok, alveolar septa (ince oklar), bronşiol (kalın ok) ve damar yapısı (yıldız) görünümü (MTK)(10X)



Şekil 4.15. AK 7 grubu: kontüzyondan sonra 7. günde ratlardan örneklenen akciğer dokusu. MTK ile boyanan intraalveolar septalarda kalınlaşma ve kollajen birikimi (oklar) (MTK)(40X)

Tablo 4.8. Fibrozis Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	0	0	0	1	0
2	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	1	0	2	0
5	0	2	0	0	0
6	0	0	0	1	0
7	0	2	0	0	
8	0		0	1	
Ortalama	0	0.86*,**	0	0.63*,***	0
Standart Sapma	0	0,90	0	0.74	0

Mann Whitney U Test, AK:Akciğer kontüzyonu, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$

** AK3 grubuna göre $p < 0.05$

*** AK7 grubuna göre $p > 0.05$

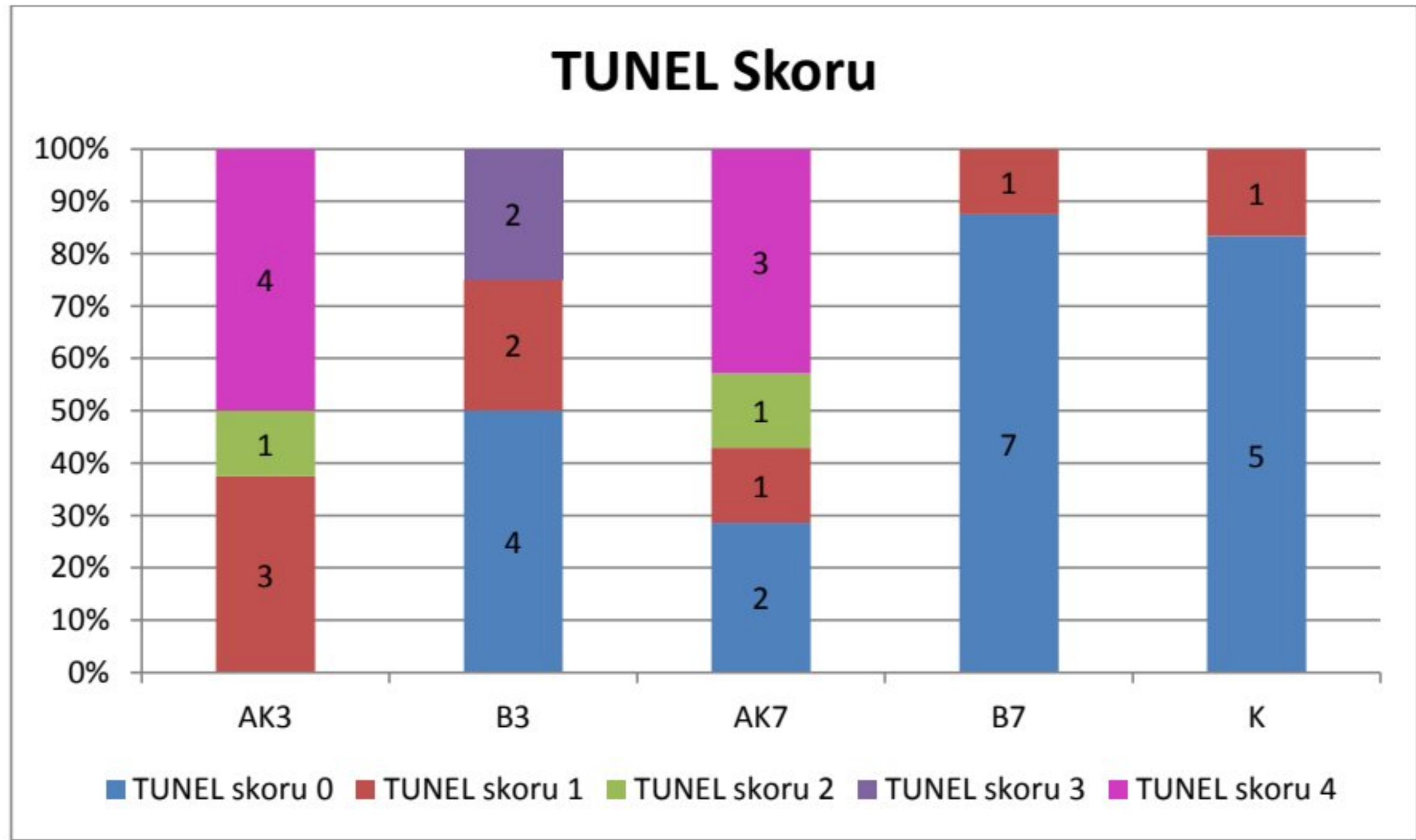
4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Grupların TUNEL skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 4.9) (Şekil 4.16). TUNEL sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 ve AK 7 grubu deneklerin TUNEL skorları, kontrol grubu deneklere göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,05$) (Tablo 4.10) (Şekil 4.17,4.18). A 3 ve A 7 gruplarının TUNEL skorlarında farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Bosentan ile tedavi edilen B 3 ve B 7 gruplarının TUNEL skorlarının sırasıyla A 3 ve A 7 gruplarına göre anlamlı düzeyde düştüğü görüldü ($p < 0,05$) (Şekil 4.19,4.20).

Tablo 4.9. Grupların TUNEL Skoru Sonuçları

Tunnel Skoru	Gruplar					Test Değeri P
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	2 (28,6)	4 (50,0)	7 (87,5)	5 (83,3)	
1	3 (37,5)	1 (14,3)	2 (25,0)	1 (12,5)	1 (16,7)	
2	1 (12,5)	1 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
3	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
4	4 (50,0)	3 (42,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
<i>Min-Maks</i>	1 – 4	0 – 4	0 – 3	0 – 1	0 – 1	$\chi^2: 17,867$
<i>Medyan</i>	3	2	0,5	0	0	^a0,001**
<i>Ort±SS</i>	2,63±1,51	2,14±1,86	1,00±1,31	0,13±0,35	0,17±0,41	

^aKruskal Wallis Test AK:Acığer kontüzyonu B:Bosentan ** $p < 0,01$



Şekil 4.16. Grupların TUNEL skoru dağılımı

Tablo 4.10. TUNEL Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

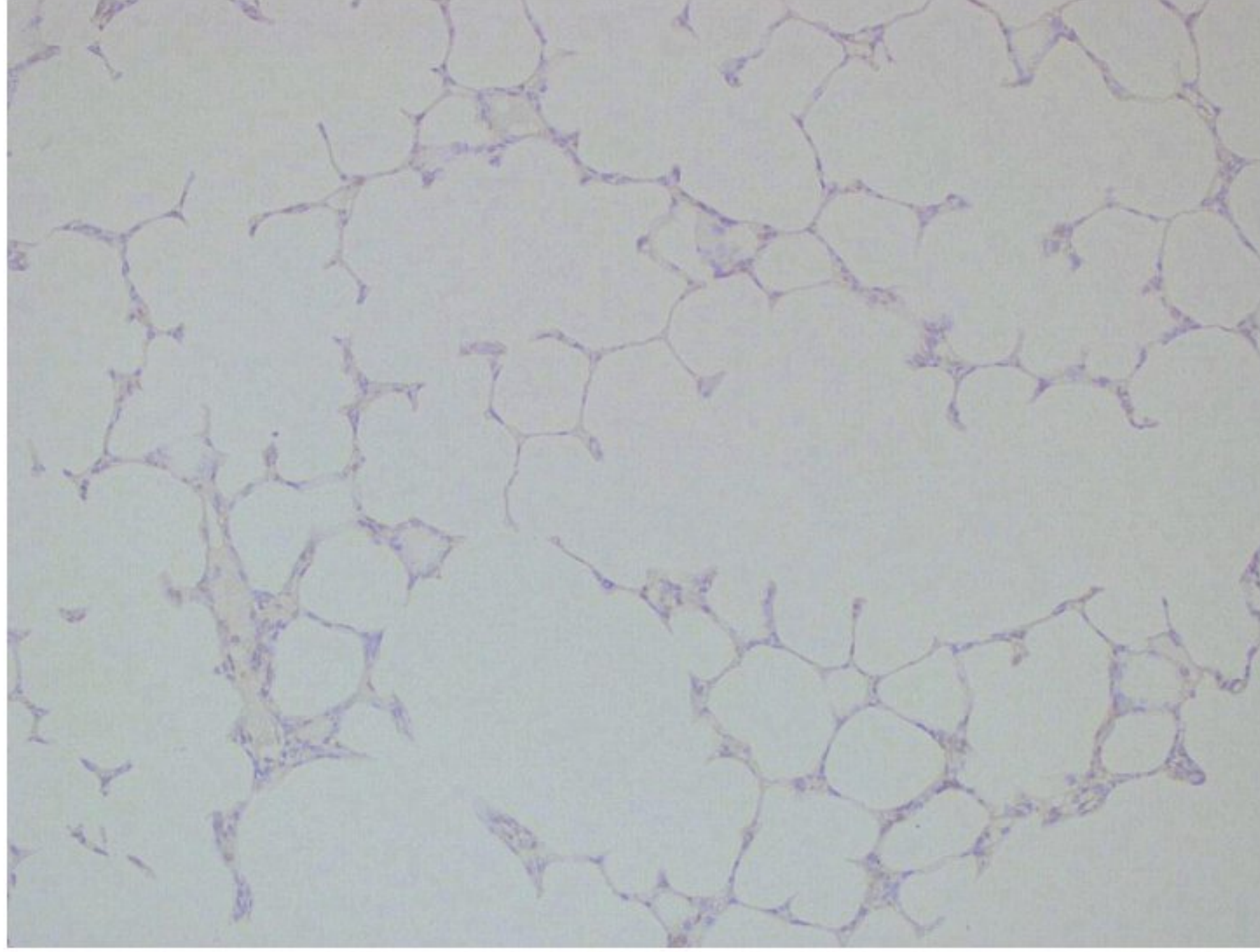
Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	1	4	3	0	0
2	4	4	1	0	0
3	1	1	1	1	0
4	4	4	3	0	0
5	1	0	0	0	0
6	4	0	0	0	1
7	2	2	0	0	
8	4		0	0	
Ortalama	2,63*	2,14*	1,00**	0,13***	0,17
Standart Sapma	1,51	1,86	1,31	0,35	0,41

Mann Whitney U Test,

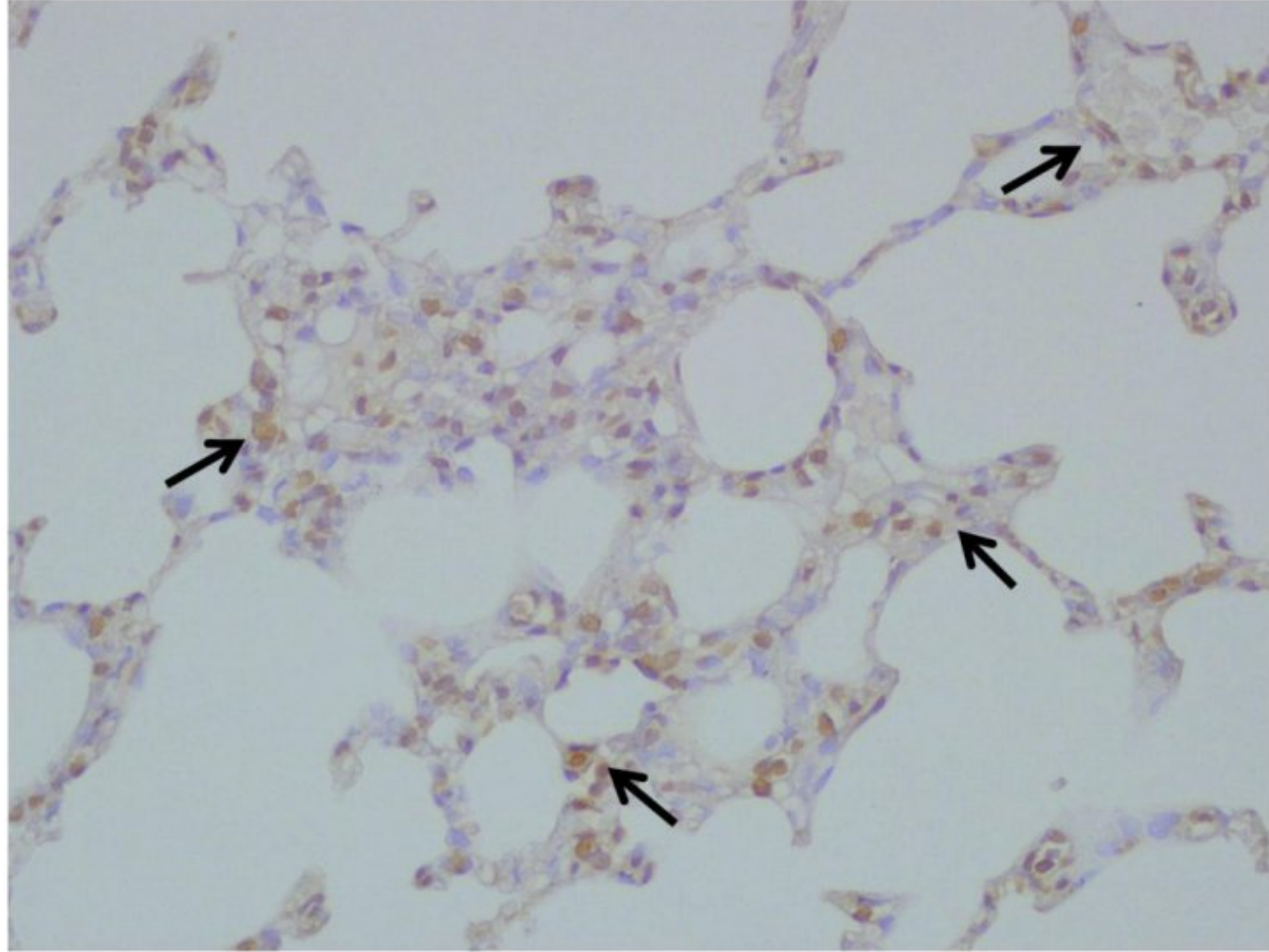
AK:Akciğer kontüzyonu,

B: Bosentan

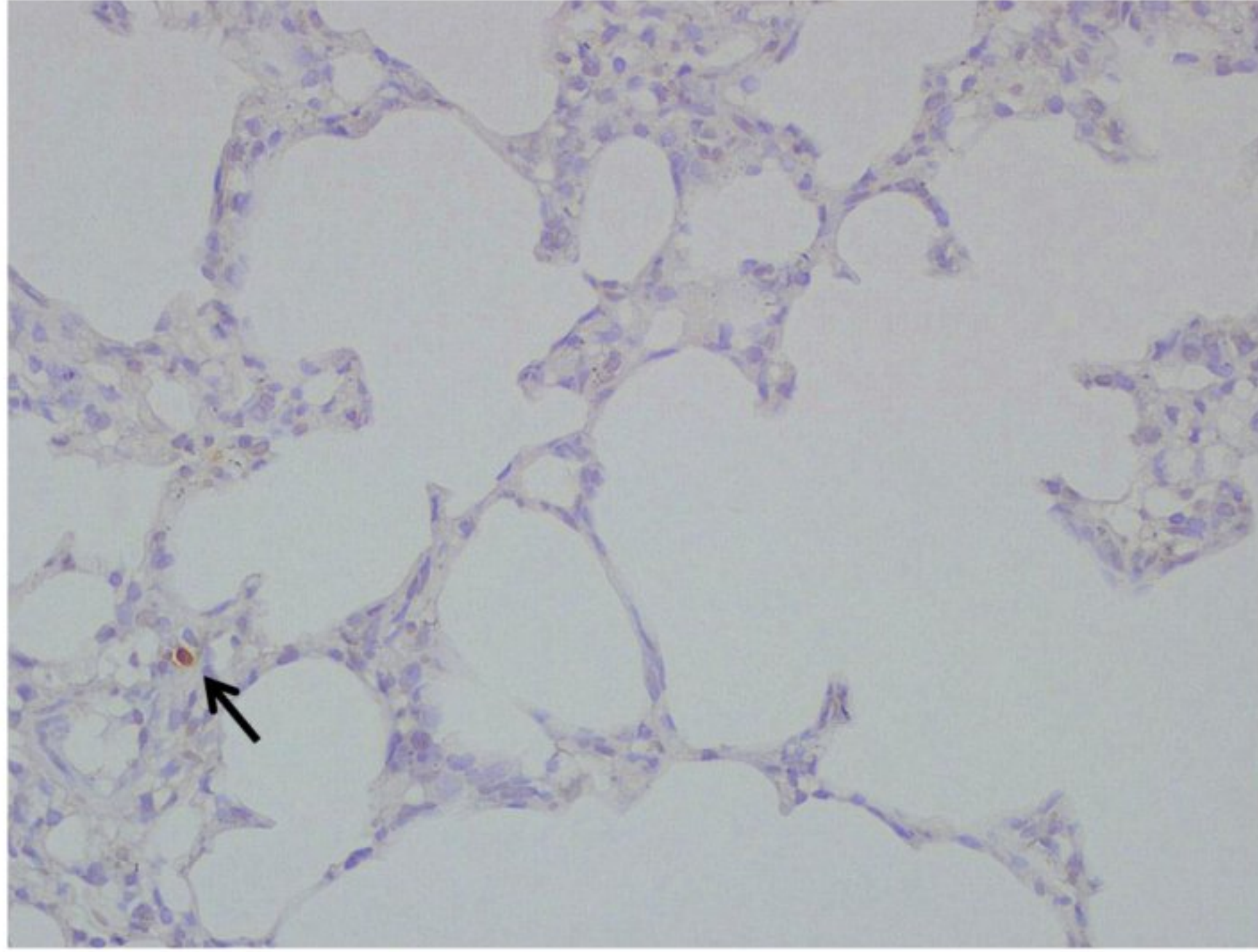
* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$ ** AK3 grubuna göre $p < 0.05$ *** AK7 grubuna göre $p < 0.05$



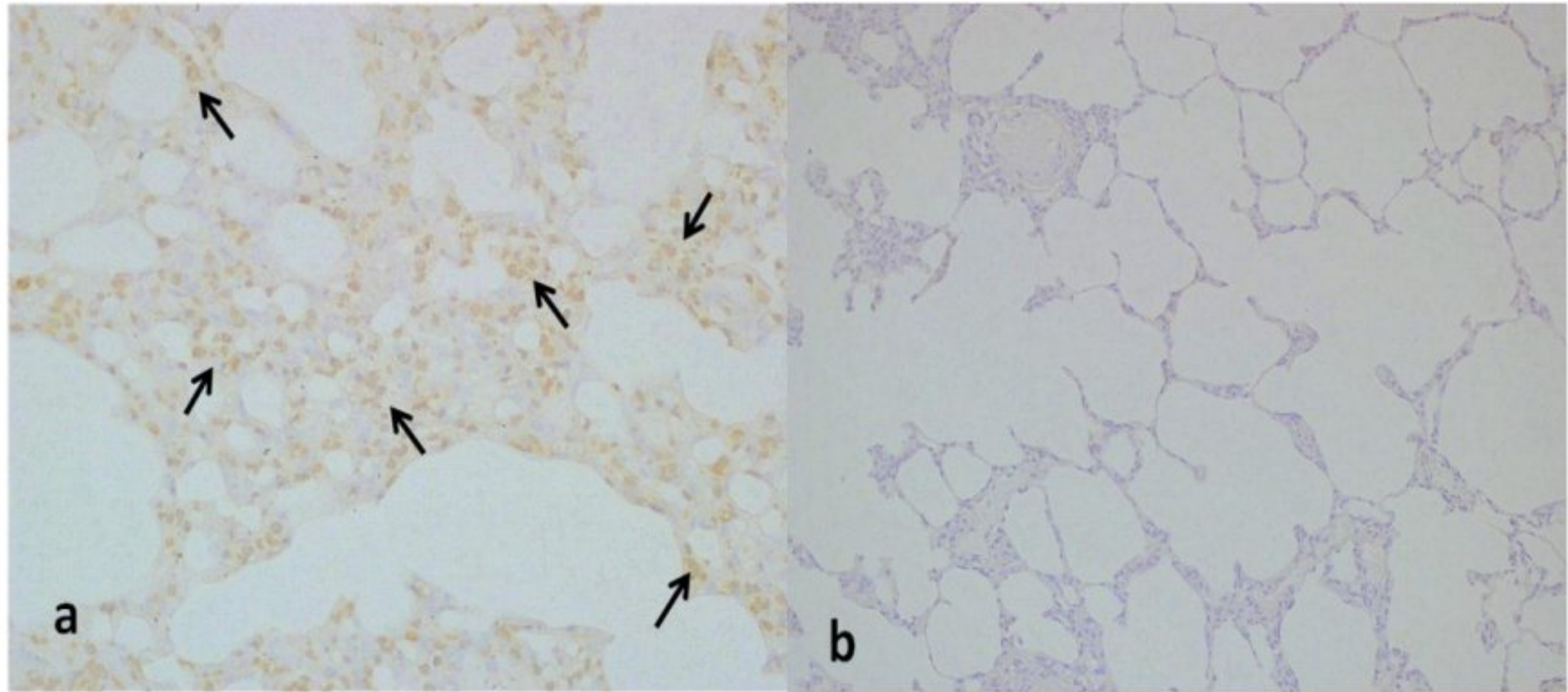
Şekil 4.17. Kontrol grubu: normal akciğerde TUNEL boyaması.
(skor 0) (TUNEL)(20X).



Şekil 4.18. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda TUNEL boyama ile
apoptozis değerlendirmesi, apoptotik hücrelerin (oklar) görünümü (skor 4),
(TUNEL)(40X)



Şekil 4.19. B 3 grubu: bosentan tedavisi alan ratlarda 3. günde TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirilmesi. TUNEL (+) (ok) hücre sayısında kontüzyon grubuna oranla anlamlı bir azalma mevcut (skor 1),(TUNEL)(40X)



Şekil 4.20. Ratlarda 7. günde TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirilmesi
(a) Kontüzyon grubu (b) Bosentan grubu, bosentan grubunda (skor 0), kontüzyon grubuna (skor 4) göre anlamlı azalma mevcut (TUNEL)(20X).

Tablo 4.11. Grupların iNOS Skoru Sonuçlarının Değerlendirilmesi

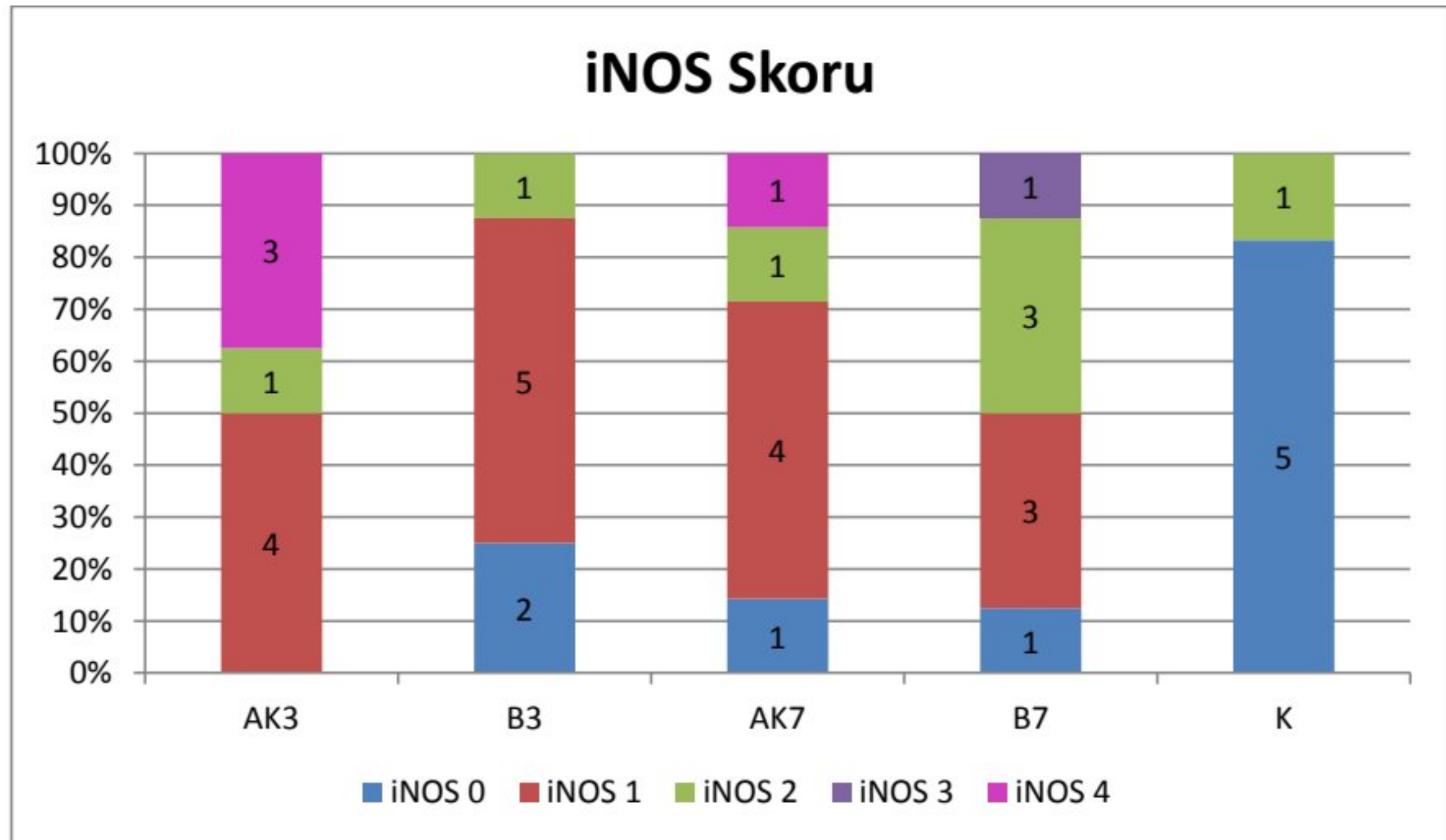
iNOS Skoru	Gruplar					Test Değeri
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	1 (14,3)	2 (25,0)	1 (12,5)	5 (83,3)	
1	4 (50,0)	4 (57,1)	5 (62,5)	3 (37,5)	0 (0,0)	
2	1 (12,5)	1 (14,3)	1 (12,5)	3 (37,5)	1 (16,7)	
3	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	
4	3 (37,5)	1 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Min-Maks	1 – 4	0 – 4	0 – 2	0 – 3	0 – 2	$\chi^2:10,713$
Medyan	1,5	1	1	1,5	0	$^{a}0,030^*$
Ort±SS	2,25±1,49	1,43±1,27	0,88±0,64	1,50±0,93	0,33±0,82	

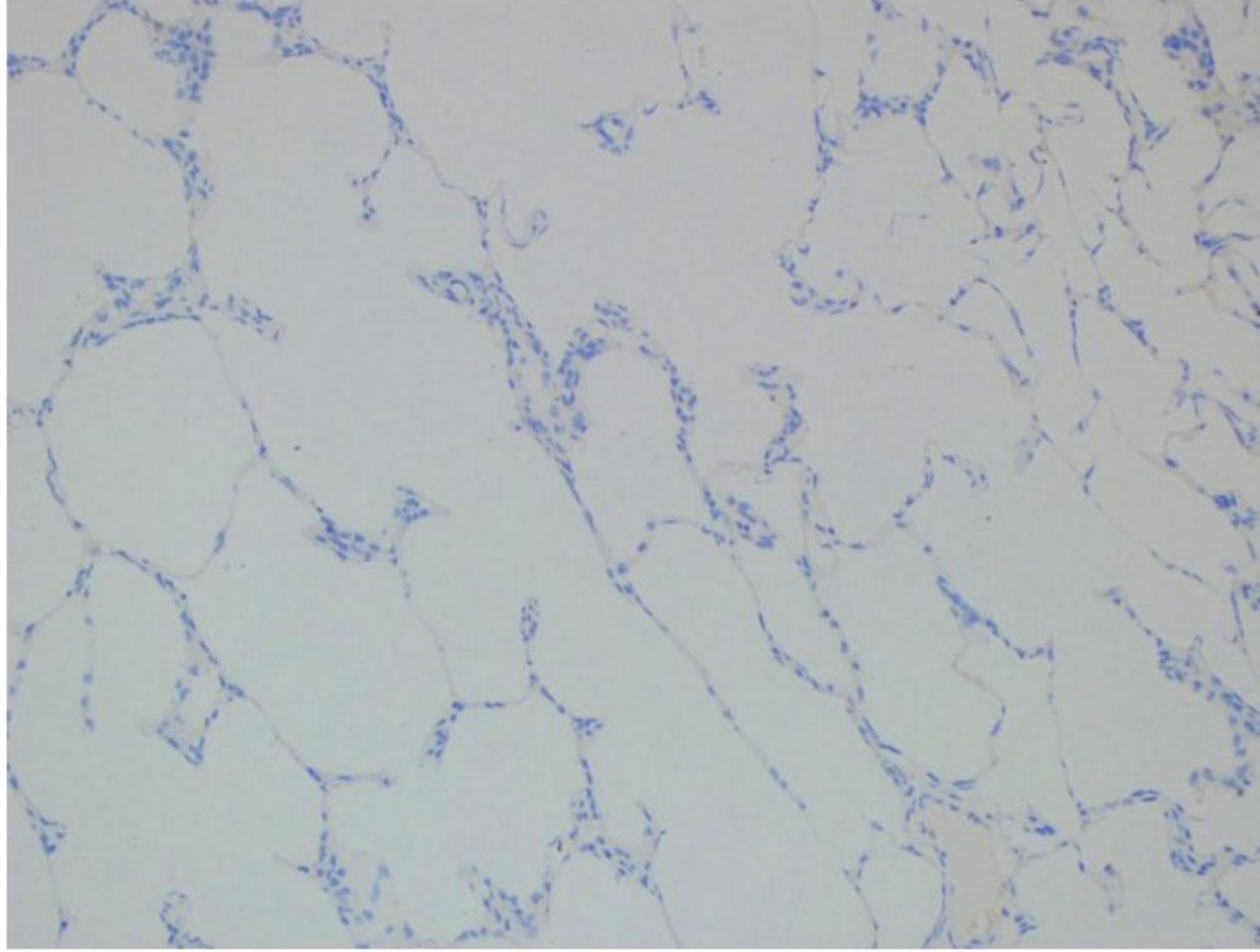
^aKruskal Wallis Test

AK:Acığer kontüzyonu

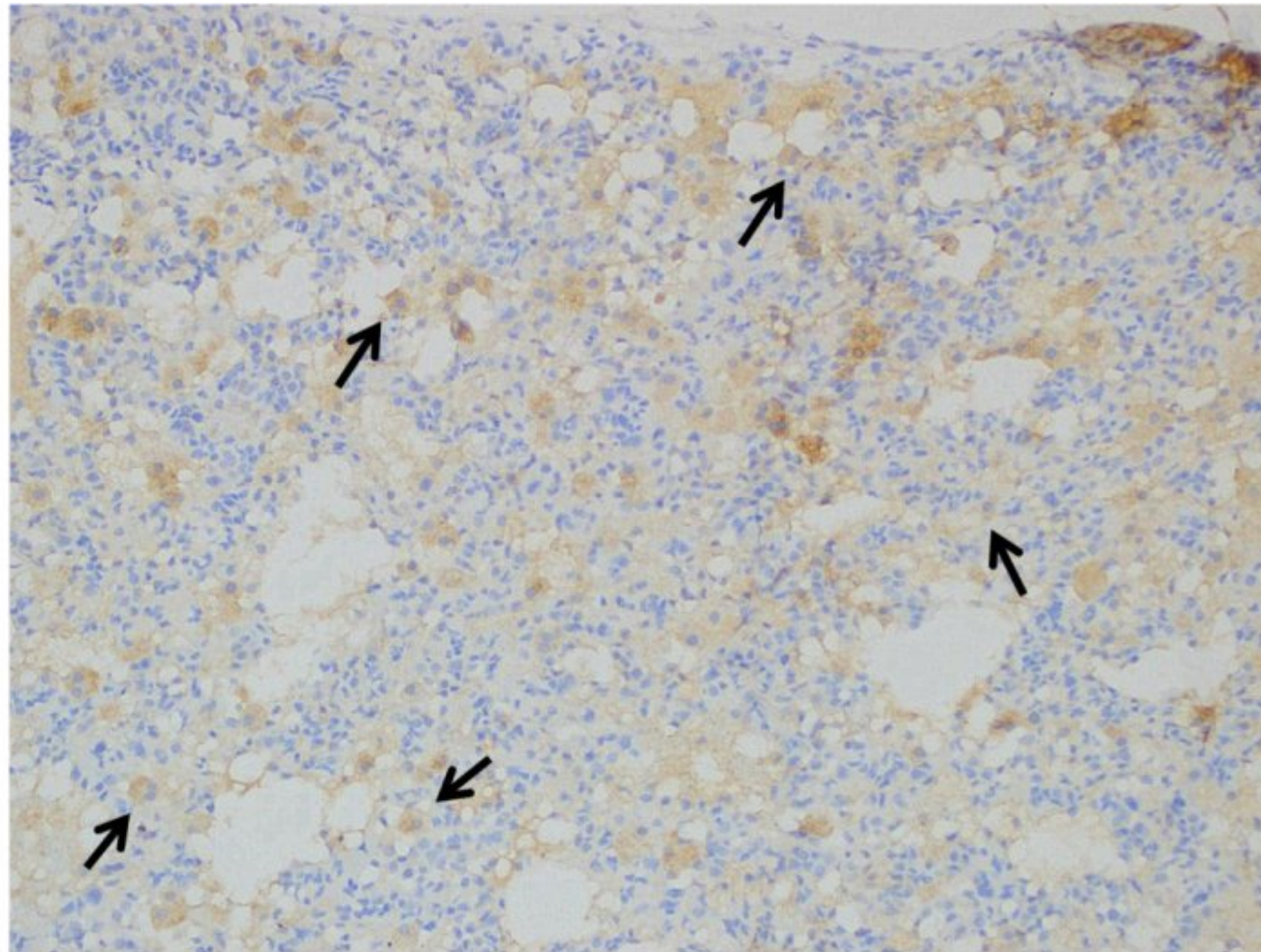
B: Bosentan * $p<0,05$

Grupların iNOS skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4.11) (Şekil 4.21). iNOS sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 grubu iNOS skoru, B 3 ve kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,05$) (Şekil 4.22,4.23). A 3 ve A 7 gruplarının iNOS düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p>0,05$). AK 7 grubu ve B 7 grupları arasında ise, iNOS skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.12)

**Şekil 4.21.** Grupların iNOS skoru dağılımı



Şekil 4.22. Kontrol grubu: normal akciğerde iNOS boyaması (iNOS)(20X)



Şekil 4.23. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda iNOS değerlendirmesi kahverengi sitoplazmik iNOS boyanmanın gösterilmesi (oklar) (iNOS)(20X).

Tablo 4.12. iNOS Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	4	1	1	1	0
2	1	1	2	1	0
3	4	4	1	2	0
4	2	0	1	1	0
5	1	1	0	3	0
6	1	2	1	0	2
7	4	1	1	2	
8	1		0	2	
Ortalama	2,25*	1,43*	0,88**	1,50***	0,33
Standart Sapma	1,49	1,27	0,64	0,93	0,82

Mann Whitney U Test, AK:Akciğer kontüzyonu, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$

** AK3 grubuna göre $p < 0.05$

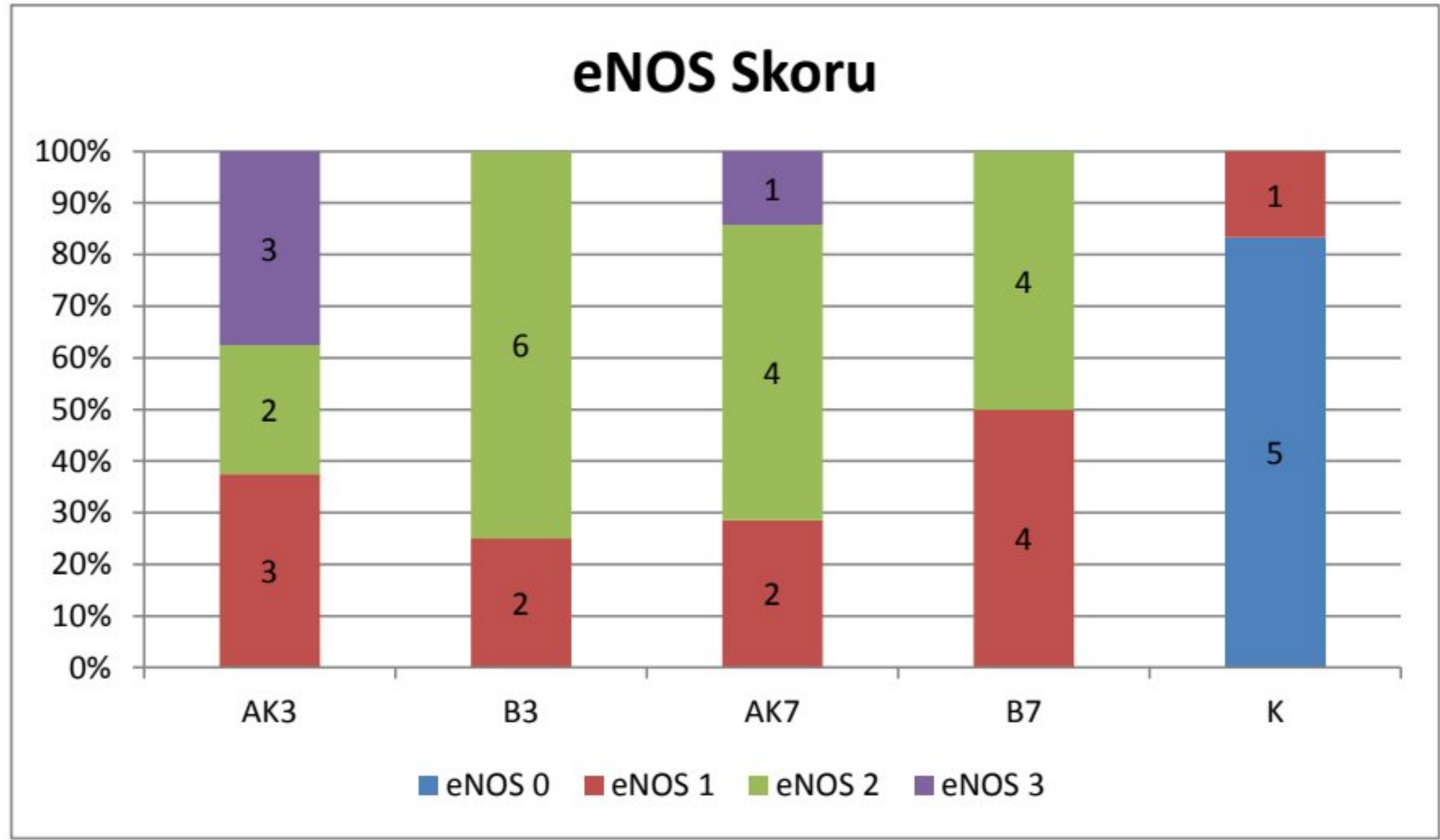
*** AK7 grubuna göre $p > 0.05$

Tablo 4.13. Grupların eNOS Skoru Sonuçları

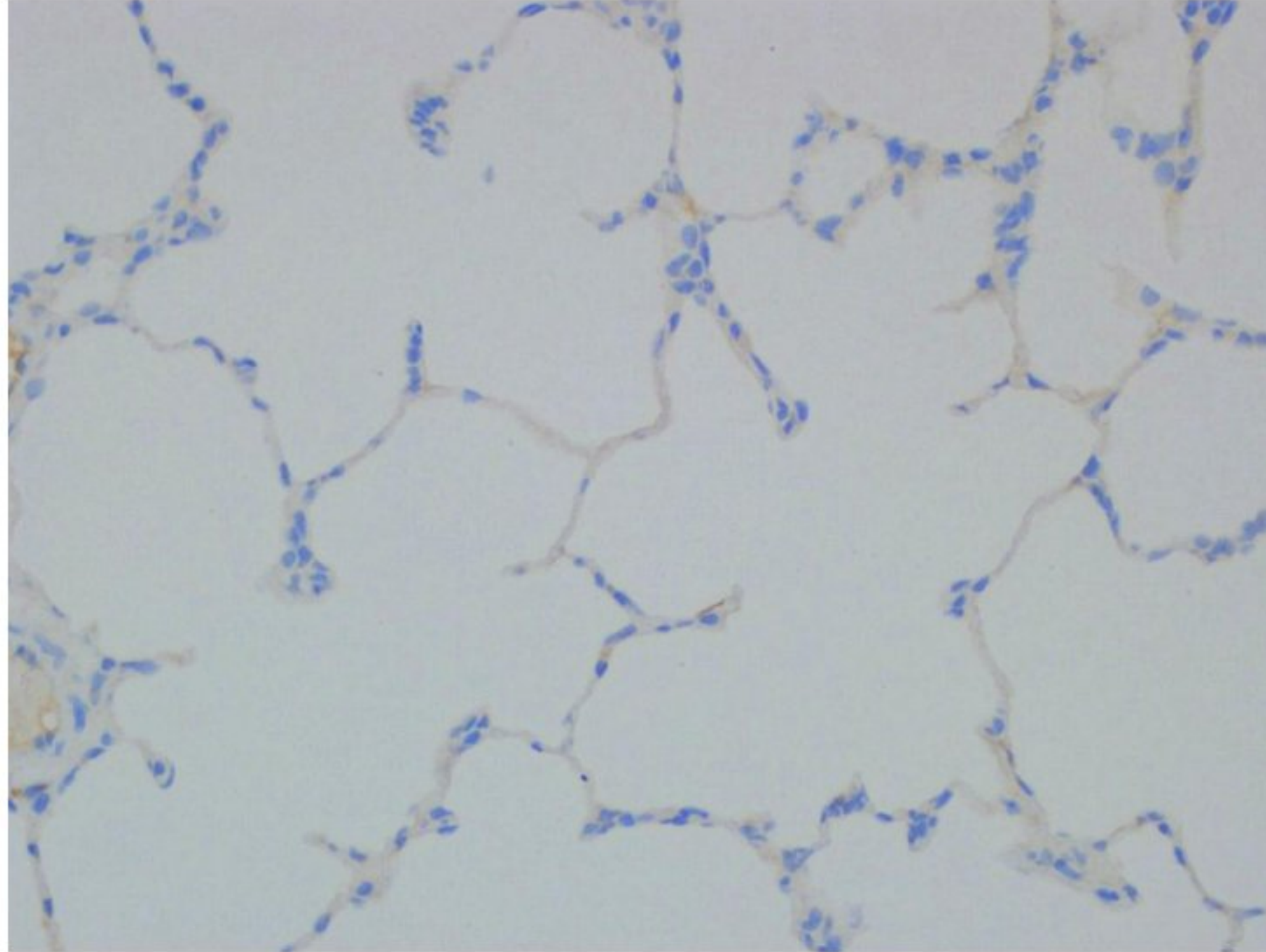
eNOS Skoru	Gruplar					Test Değeri P
	AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (83,3)	
1	3 (37,5)	2 (28,6)	2 (25,0)	4 (50,0)	1 (16,7)	
2	2 (25,0)	4 (57,1)	6 (75,0)	4 (50,0)	0 (0,0)	
3	3 (37,5)	1 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
<i>Min-Maks</i>	1 – 3	1 – 3	1 – 2	1 – 2	0 – 1	$\chi^2: 16,046$
<i>Medyan</i>	2	2	2	1,5	0	^a0,003**
<i>Ort±SS</i>	2,00±0,93	1,86±0,69	1,75±0,46	1,50±0,53	0,17±0,41	

^aKruskal Wallis Test AK:Aciğer kontüzyonu B: Bosentan ** $p < 0,01$

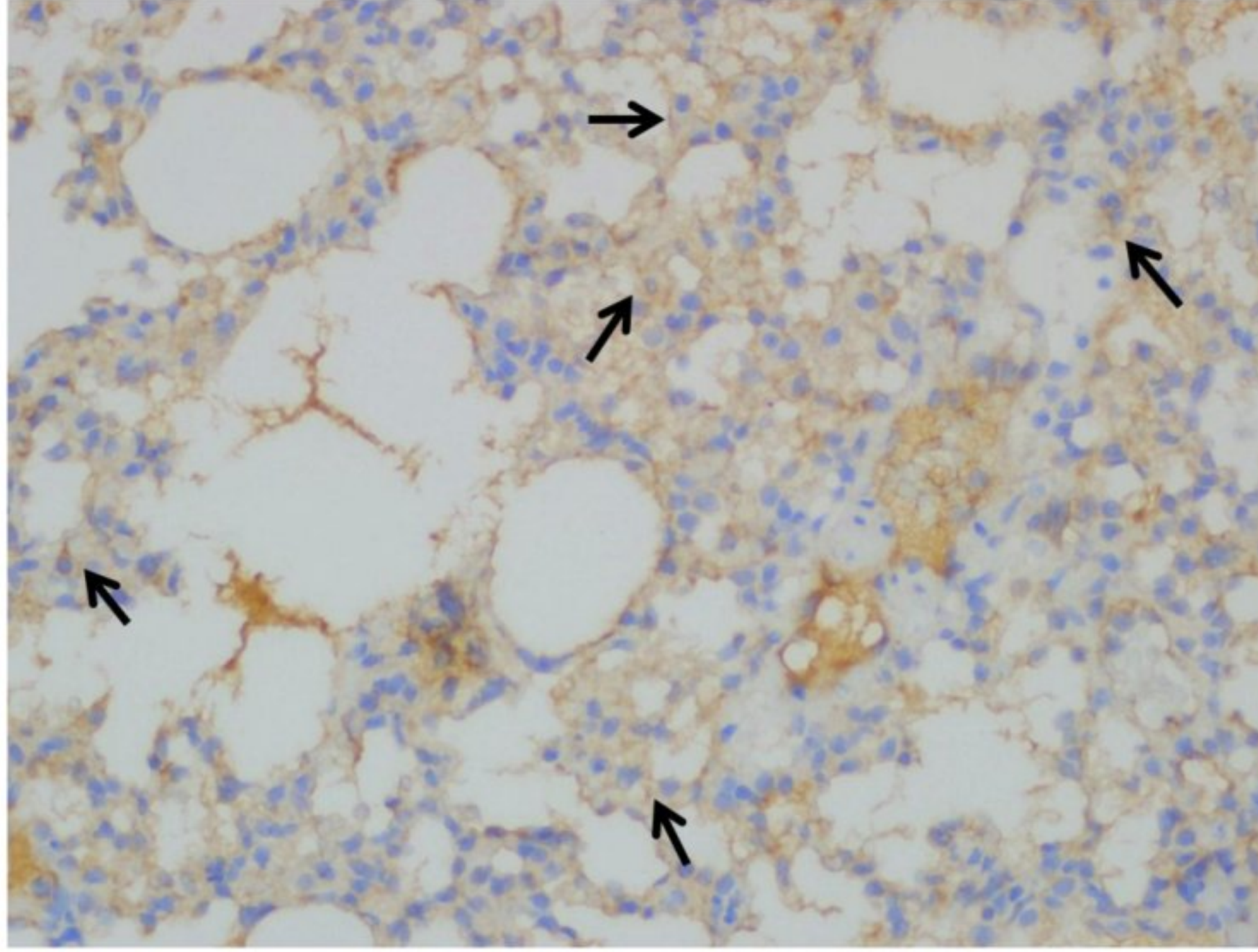
Grupların eNOS skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 4.13) (Şekil 4.24). eNOS sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3, AK 7, B 3 ve B 7 grubu deneklerin eNOS skorları, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,05$) (Şekil 4.27,4.28). A 3 ve A 7 gruplarının eNOS düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). AK 3 ve B 3 grupları arasında eNOS skorları açısından anlamlı farklılık saptanmamış olup ($p > 0,05$), AK 7 ve B 7 grupları arasında da eNOS skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.14).



Şekil 4.24. Grupların eNOS dağılımı



Şekil 4.25. Kontrol grubu: normal akciğerde eNOS boyaması (eNOS)(40X)



Şekil 4.26. AK 3 grubu: kontüzyondan sonra 3. günde ratlarda eNOS değerlendirmesi kahverengi sitoplazmik eNOS boyanmanın gösterilmesi (oklar) (eNOS)(40X).

Tablo 4.14. eNOS Skoru Sonuçlarının Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	3	1	2	2	0
2	3	2	1	2	0
3	1	2	2	2	0
4	2	3	2	2	0
5	3	2	2	1	1
6	2	1	1	1	0
7	1	2	2	1	
8	1		2	1	
Ortalama	2,00*	1,86*	1,75**,***	1,50*,****	0,17
Standart Sapma	0,93	0,69	0,46	0,53	0,41

Mann Whitney U Test, AK:Akciğer kontüzyonu, B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$

** Kontrol grubuna göre $p < 0.01$

*** AK3 grubuna göre $p > 0.05$

**** AK7 grubuna göre $p > 0,05$

4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tablo 4.15. Gruplara Göre SOD, MDA ve NO Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

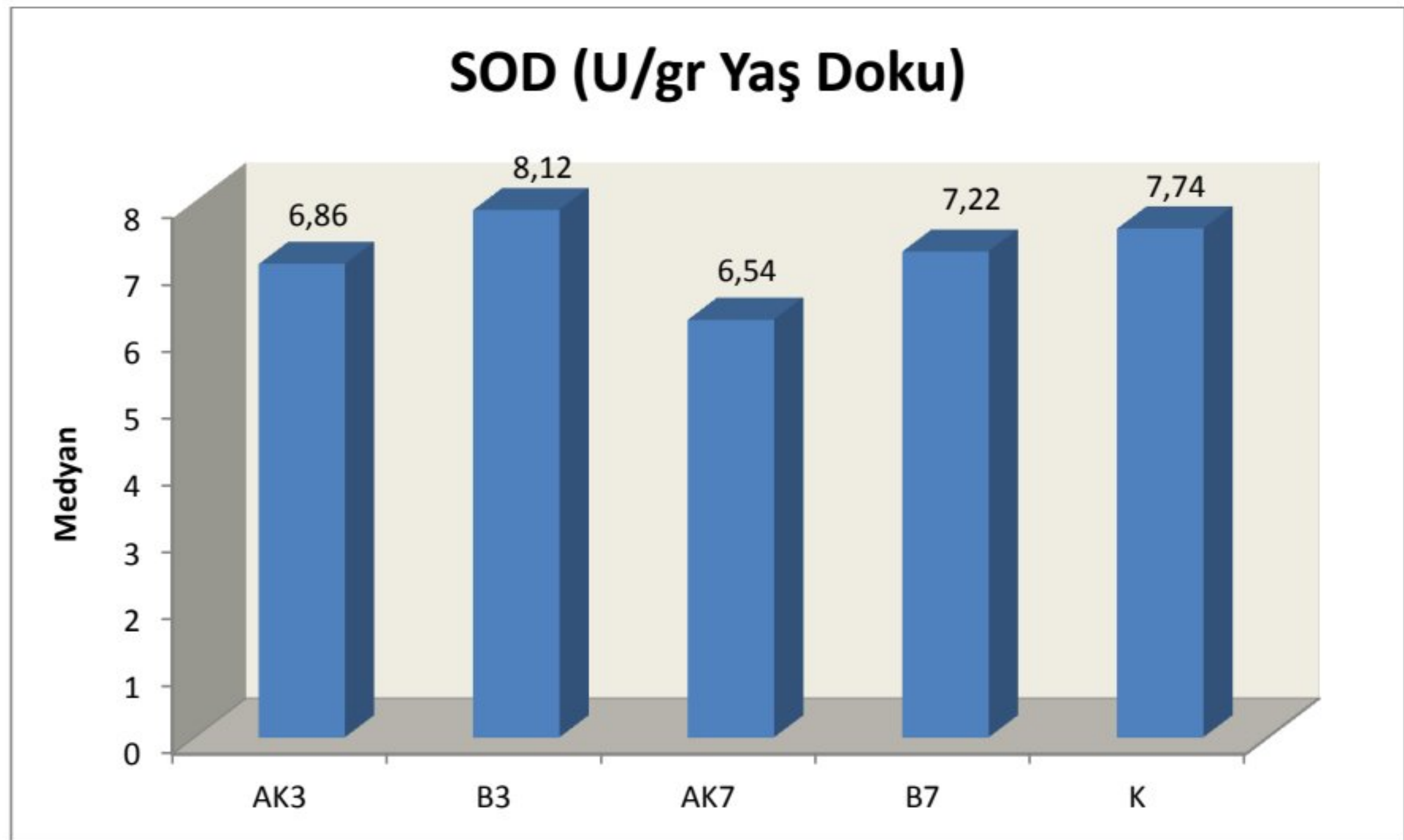
		Gruplar					Test Değeri
		AK 3	AK 7	B 3	B 7	Kontrol	P
SOD (U/gr yaş doku)	Min-Maks	4,79-7,61	6,04-7,08	6,84-10,26	6,24-7,87	7,26-8,89	χ^2 :16,881
	Medyan	7,07	6,24	7,88	7,26	7,6	α0,002**
	Ort±Ss	6,86±0,87	6,54±0,49	8,12±1,27	7,22±0,49	7,74±0,59	
MDA (μ mol/gr yaş doku)	Min-Maks	1,63-3,24	8,33-13,87	0,94-2,72	2,1-4,28	0,56-2,23	χ^2 :21,740
	Medyan	2,1	9,49	2,1	3,24	2,09	α0,001**
	Ort±Ss	2,29±0,53	10,02±2,00	2,05±0,55	3,03±0,80	1,86±0,64	
NO (μ mol/gr yaş doku)	Min-Maks	32,21-86,54	60,19-4,93	49,18-98,26	38,17-84,83	46,15-75,7	χ^2 :3,671
	Medyan	68,67	69,28	58,32	66,45	67	α0,452
	Ort±Ss	64,69±18,42	71,19±9,27	61,51±15,89	65,51±14,40	62,4±13,17	

^aKruskal Wallis Test

AK:Acığer kontüzyonu

B: Bosentan ** $p < 0,01$

Gruplara göre deneklerin NO ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Gruplara göre deneklerin MDA ve SOD ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 4.15).



Şekil 4.27. Grupların SOD dağılımı

Grupların SOD ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$) (Tablo 4.15) (Şekil 4.27). SOD sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 grubu SOD değeri, B 3 grubu ve kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0,05$). AK 7 grubu SOD değeri ölçümü, B 7 ve kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0,05$) (Tablo 4.16) A 3 ve A 7 gruplarının SOD düzeylerinde farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.16. SOD Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	7,35	6,15	10,26	6,24	7,69
2	7,61	7,08	7,89	7,26	7,38
3	7,05	6,18	7,52	7,24	8,89
4	7,03	7,05	6,84	7,26	7,60
5	7,08	6,24	6,84	7,87	7,26
6	6,80	7,03	9,83	7,43	7,61
7	4,79	6,04	7,86	7,26	
8	7,18		7,89	7,22	
Ortalama	6,86*	6,54*	8,12**	7,22***	7,74
Standart Sapma	0,87	0,49	1,27	0,49	0,59

Mann Whitney U Test,

AK:Akciğer kontüzyonu,

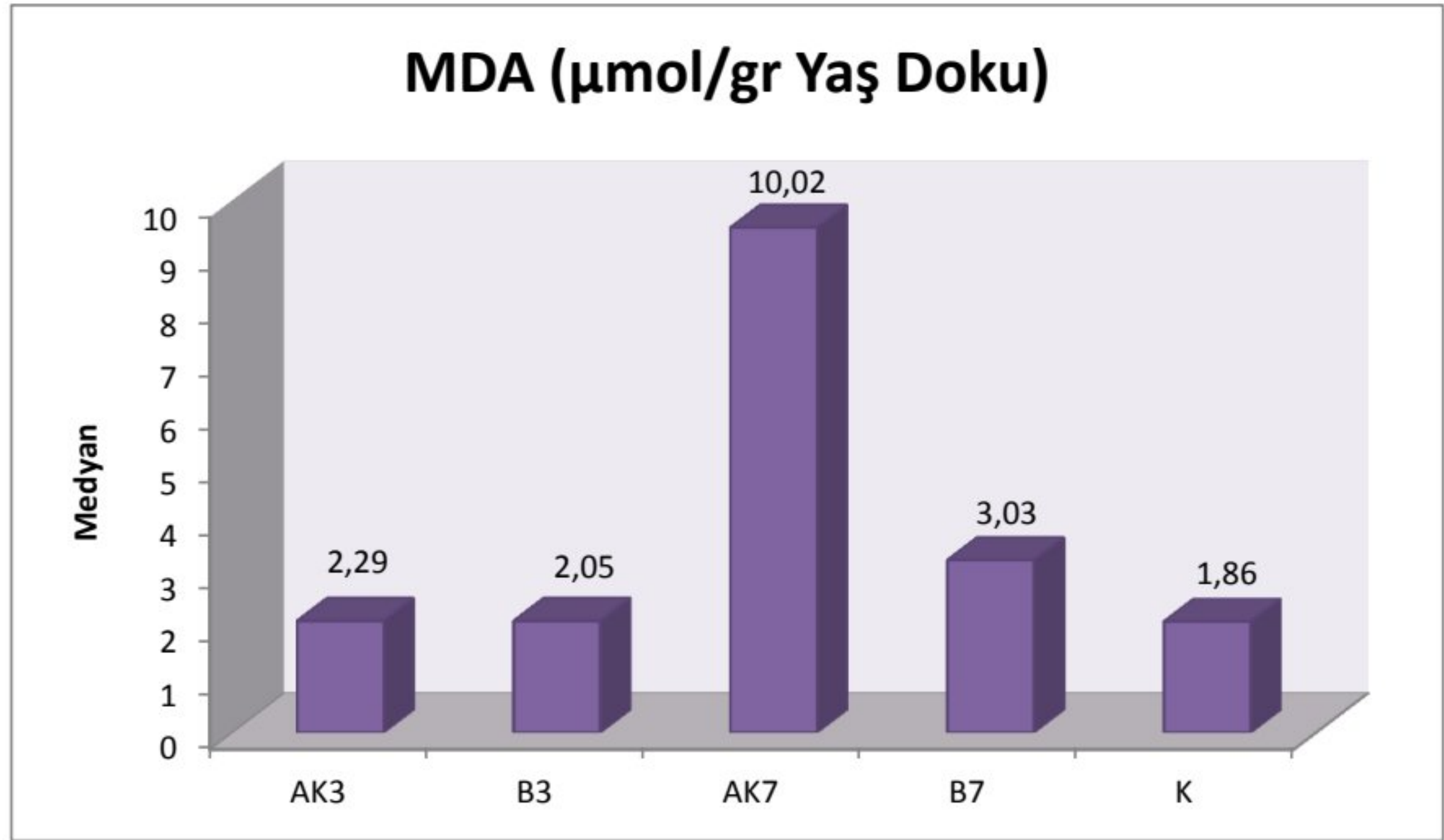
B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p<0.05$

** AK3 grubuna göre $p<0.05$

*** AK7 grubuna göre $p<0,05$

Grupların MDA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$) (Tablo 4.15) (Şekil 4.28). MDA sonuçlarının gruplar arası karşılaştırmalarında, AK 3 ve AK 7 grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$). AK 7 grubu MDA değeri, AK 3 grubu ile karşılaştırıldığında, AK 7 grubunda MDA değerinin belirgin yüksek olduğu görüldü ($p<0,01$). AK 3 ve B 3 grupları arasında MDA ölçümleri açısından anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,05$), bosentan tedavisi alan B 7 grubunda, AK 7 grubu MDA değerlerine göre anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.17).



Şekil 4.28. Grupların MDA dağılımı

Tablo 4.17. MDA Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırmaları

Ratlar	AK 3 (n: 8)	AK 7 (n: 7)	B 3 (n: 8)	B 7 (n: 8)	Kontrol (n: 6)
1	2,14	10,47	0,94	2,12	
2	1,63	11,04	2,72	2,59	2,22
3	1,91	8,52	2,09	3,46	2,23
4	2,07	13,87	1,88	2,10	2,10
5	1,98	8,39	2,44	3,24	2,08
6	3,24	9,49	2,12	3,39	0,56
7	2,53	8,33	1,78	4,28	1,94
8	2,83		2,47	3,03	
Ortalama	2,29*	10,02*,**	2,05***	3,03****	1,86
Standart Sapma	0,53	2,00	0,55	0,80	0,64

Mann Whitney U Test , AK:Akciğer kontüzyonu,

B: Bosentan

* Kontrol grubuna göre $p < 0.05$ ** AK3 grubuna göre $p < 0.01$ *** AK3 grubuna göre $p > 0.05$ **** AK7 grubuna göre $p < 0.05$

TARTIŞMA ve SONUÇ

Travma sonrası AK gelişen hastalar, travmanın şiddeti, uygulanış şekli ve hastanın yapısal özelliklerine göre değişebilmekle birlikte, basit oksijen desteğinden ciddi mekanik ventilasyon gereksinimine kadar varan değişik yöntemlerle tedavi edilmektedirler. Günümüzde gelişmiş tıbbi olanaklar ve yoğun bakım koşullarında iyileşmeye rağmen toraks travmalarında mortalite ve morbidite yüksek seyretmektedir (2, 3). Toraks travmaları sonrası en sık ortaya çıkan yaralanma türü AK olup, halen kontüzyon için standart ve hastalığa özgü bir tedavi yöntemi ortaya konmamıştır.

Künt toraks yaralanması fizyopatolojisinin bilinmesinin, tanı ve tedavi sürecini aydınlatarak morbidite ve mortaliteyi azaltacağı açıktır. Bu sebeple AK oluşturmak için çeşitli hayvan deney modelleri geliştirilmiş ve bu modellerde domuz, köpek, rat gibi birçok farklı deney hayvanı kullanılmıştır. Literatürdeki deneysel AK modellerindeki temel amaç, standardize edilmiş bir enerjiyi çeşitli yollarla göğüs boşluğuna iletme ve mortalite oluşturmayacak düzeyde bir enerji ile maksimum travma sağlayarak gerçek hayatla bağdaşır bir travma düzeneği oluşturmaktır.

Akciğer hasarı oluşturmak amacıyla göğüs boşluğuna enerji iletimi için, açık veya kapalı göğüs modelleri üzerine ağırlık düşürme, havalı tabanca veya basınç hava jeneratörleri yardımıyla toraksa basınçlı hava uygulayarak patlama yaralanması oluşturma şeklinde farklı kontüzyon modelleri uygulanmaktadır (51, 52, 124, 125).

Travmanın oluş mekanizması dışında, enerjinin iletim yönü de sonuçları farklı şekilde etkileyebilmektedir. Uygulanan travmanın yönünün akciğerde oluşturulan hasar üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, çalışmacılar ratlara yüksekten ağırlık düşürme yöntemiyle anterolateral,

posterior ve posterolateralden travma uygulamışlar ve akciğer dokusunda en fazla hasarın posterolateralden travma uygulanan grupta oluştuğunu saptamışlardır (126).

Bu çalışmada, AK oluşturmak için Raghavendran ve arkadaşlarının tanımladığı yüksekte ağırlık düşürme ile izole bilateral akciğer kontüzyon modelinin modifiye edilmesi ile oluşturulan tek taraflı akciğer kontüzyon modeli uygulandı (117).

Bu modelde travma şiddetinin değişkenliğinin ve standardizasyonun kolayca sağlanması, tekrar edilebilme özelliği, uygulamada kolaylık, hayvan ölüm oranının düşük olmasıyla birlikte etkin bir sonuç sağlanması ve maliyetinin az olması gibi nedenlerle uygun bir yöntem olduğu düşünüldü.

Akciğer kontüzyonu gelişen hastaların klinik bulgularını yalnızca geçirdiği travmayla ilişkilendirmek doğru olmaz. Travma etkisi ile doğrudan oluşan doku hasarının yanı sıra eşlik eden oksidatif stres ve inflamatuvar mekanizmaların varlığı artık pek çok klinik ve deneysel çalışmalarla ispatlanmıştır (9, 48, 120).

Toraks travması sonrası oluşan fiziksel yaralanmadan saatler ya da günler sonra ilerleyici bir doku hasarı oluşmaktadır (5). Toraks travmasında yaralanma birincil hasar ve ikincil hasar olmak üzere iki mekanizmayla olur. Birincil hasar travmanın direkt etkisiyle mekanik yırtılma sonucu ortaya çıkar. Bunun sonucu olarak, akciğer parankiminde meydana gelen aşırı gerilme ve yırtılma, alveollerin bronşiollerden ayrılması, intraalveolar kanama, interstisyel ödem ve alveolokapiller hasar oluşturur (6). Damar dışına çıkan protein ve sıvılar dolaşımın azalmasına ve mikrosirküler şok haline yol açar. Oluşan konjesyon vasküler permabilite artışına sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu başlar. İkincil hasar ise inflamatuvar yanıt ve oksidatif hasar mekanizmalarının da aktivasyonu ile meydana gelir. Potansiyel inflamatuvar mediatörler olan makrofaj ve nötrofiller, künt göğüs travmasını takiben aktive olurlar ve böylece ilerleyici yıkım süreci başlar (5, 6, 41).

Bu mekanizmalar üzerinden pek çok çalışmacı farklı ajanların akciğer kontüzyonu üzerindeki etkilerini çalışıp, sonuçlarını yayınlamıştır. Antiinflamatuvar özellikleri olduğu bilinen N-asetilsistein (NAC), aprotinin, bir steroid türevi olan deksametazon ve antioksidan özellikleri olduğu

bilinen dimetilsülfoksit ve sfingofosforilkolin bunlardan bazılarıdır (127-131).

NAC ve steroid türevlerinin AK üzerinde etkilerini değerlendiren oldukça fazla sayıda çalışma mevcuttur (127-129). Deneysel akciğer kontüzyon modelinde deksametazon, NAC ve aprotinin vererek yapılan bir çalışmada deksametazon ve NAC'ın biyokimyasal parametreler üzerinde iyileştirici etkisi saptanmıştır (127). Yine NAC tedavisinin ödem, pulmoner vasküler direnç ve oksijenasyon üzerine olumlu etkisinin olduğunu gösteren ve NAC kullanımının SOR'un yaptığı akciğer hasarına karşı akciğer dokusunu koruduğunu savunan çalışmalar mevcuttur (128, 129).

Künt toraks travması ile oluşturulmuş başka bir çalışmada dimetilsülfoksit ve deksametazon verilerek yapılan değerlendirmede, dimetilsülfoksitin endotel hasarını ve nötrofil infiltrasyonunu azaltarak inflamasyonu baskılayıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Deksametazonun ise MPO aktivitesini azaltarak inflamasyonu azaltmada aktif rol alabileceği fakat akciğer dokusu üzerinde histopatolojik olarak etkisini gösteremedikleri ifade edilmiştir (130).

Bir sfingolipit türevi olan sfingofosforilkolinin ise AK'ye doz bağımlı olarak etki ettiği ve düşük doz kullanımda antioksidatif ve apoptozu engelleyici etkisinin olduğu gösterilmiştir (131).

Bosentan ET reseptörlerinin mikst ve kompetitif bir antagonistidir. ET'ler vücutta başlıca damar endotelinde olmak üzere, düz kas hücreleri, kardiyomyosit, fibroblast, makrofaj ve keratinosit gibi bazı hücrelerde de yaygın olarak sentezlenmektedir (98). Bosentan, ET reseptörlerini bloke ederek antiinflamatuvar, antioksidan ve antiproliferatif etki gösterir (11).

Literatürde bosentanın çeşitli akciğer hasar modellerinde kullanımına ait az sayıda çalışma mevcut olmakla beraber, künt toraks travmasına bağlı akciğer kontüzyonunda bosentan kullanımına özgü bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Deneysel olarak oluşturulan aspirasyon pnömonisi ve akciğer amfizemi modellerinde bosentanın etkinliği değerlendirilmiştir (116, 132). Ratlara hidroklorik asit (HCL) verilerek aspirasyon pnömonisi oluşturulan bir çalışmada, çalışmacılar ratları kontrol grubu, 30mg/kg dozunda oral yolla bosentan verdikleri grup ve 90 mg/kg dozunda oral yolla bosentan

verdikleri grup olarak 3 gruba ayırmışlardır. Grupların serbest oksijen radikal düzeylerini incelediklerinde, 90mg/kg dozunda bosentan uyguladıkları grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düzelme saptamışlardır (116).

Ratlara intratrakeal olarak pankreatik elastaz verilerek deneysel akciğer amfizem modeli oluşturulmuş bir başka çalışmada ise deney grupları; kontrol grubu, tedavi alan ve tedavi almayan grup olarak belirlenmiştir. Tedavi grubuna 15 gün boyunca günde 1 kez 100mg/kg olacak şekilde oral yolla bosentan tedavisi uygulamışlardır. 15 gün sonunda bronkoalveolar lavaj ve akciğer doku örneklerinde proinflatuar sitokin değerlerini incelediklerinde, bosentan alan grupta TNFa, interlökin-1, interlökin-6 ve interlökin-8 düzeylerinde belirgin azalma saptamışlar ve bunu bosentanın hava yollarındaki inflammatuar yanıtı baskılayabileceği şeklinde yorumlamışlardır (132).

Bu çalışmada, künt toraks travması ile oluşturulmuş AK'de, bosentanın 3. ve 7. günlerde antiinflammatuar, antioksidan ve fibrozis üzerindeki etkileri, elde edilen histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal sonuçlar ile değerlendirildi. Bu çalışmadaki amacımız travmalarda oluşan sistemik inflammatuar yanıtlar ve akciğer dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine yapılan araştırmalara katkı sağlamaktır. Bu doğrultuda künt toraks travması yapılarak oluşturulan akciğer kontüzyona bağlı akciğer hasarının düzeltilebilmesi amacı ile bosentan tedavisinin denendiği ve sonuçlarının da birbirleri ile karşılaştırıldığı bir çalışma olması bakımından önemlidir.

Doku hasarlanması sonrası oluşan inflammatuar değişiklikler, inflammatuar mediyatörlerin artışı, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ile bunlara ikincil gelişebilecek alveolar ödemi içermektedir (45). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki akciğer yaralanmasının temeli inflamasyona dayanır ve doku hasarına neden olan başlıca etkili hücreler nötrofillerdir (45, 49, 133).

Akciğer kontüzyonunda gelişen histopatolojik bulguların değerlendirildiği bir çalışmada, çalışmacılar yüksekten ağırlık düşürme ile oluşturdukları AK modelinde, ratlarda ilk 24 saat sonunda yaptıkları değerlendirmede nötrofil hakimiyeti ve alveolar yüzey değişiklikleri ile atelektazi olduğunu ve 48. saatte devam eden lökositik hücre hakimiyeti ile intraalveolar ödemi tespit etmişlerdir (49). Travmadan 24 saat sonra parankimal ve perivasküler

nötrofil infiltrasyonunun başladığı, 48 saat sonra ise anlamlı olarak arttığı saptanmışlar ve inflamasyonun artması ile 48 saatin sonunda akciğer parankim hasarı ve bronşiyal hasar geliştiğini ve geç dönemde bu hasar sonucu ortaya çıkan fibroblastik aktiviteyi bildirmişlerdir. İnflamasyonun günler içerisinde arttığını ve hasar sürecinin travmadan sonra da devam ettiğini tespit etmişlerdir (49).

Künt toraks travması ile AK oluşturulan ve non-steroid antiinflamatuvar ilaçların kontüze akciğer üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise, ratlar 3., 24., 48. ve 72. saatte sakrifiye edildikten sonra yapılan histopatolojik incelemede önceki çalışmalara benzer şekilde 3. saatte perihiler bölgelerde daha belirgin olmak üzere yaygın intraalveolar ve intersitisyel kanama bulguları saptamışlar, 24. saatten sonra nötrofil ağırlıklı lökositik infiltrasyonun başladığını, 48. saatten sonra ise lökositik infiltrasyonun belirginleştiğini ve intraalveolar ödem geliştiğini göstermişlerdir (134).

Çalışmamızda, benzer çalışmalardan da yola çıkarak 3. ve 7. günlerde akciğer dokularını histopatolojik olarak hematoksilen-eozin boyama ile değerlendirdiğimizde, lökosit infiltrasyonunun kontüzyon gruplarında kontrol gruplarına oranla daha fazla olduğunu saptadık. Aynı şekilde alveolar ödem ve konjesyonun da kontüzyon gruplarında anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit ettik. Literatürde asit aspirasyonu ile akciğer hasarı meydana getirilen bazı çalışmalarda, akciğerdeki hasarlanma ve inflamatuvar sürecin kısa süreli ve geçici olduğundan bahsedilmektedir (135, 136). Bu çalışmada 3. ve 7. günlerde yapılan değerlendirmede iki grup arasında anlamlı fark saptanmamış olup, 7. günde inflamasyonun 3. gün grubuyla aynı şiddette sebat ettiği görüldü. Literatürdeki künt travma ile akciğer kontüzyonu oluşturulan çalışmalar ve çalışmamızda da bunu destekler şekilde travmatik akciğer kontüzyonundaki inflamatuvar bulguların travma sonrası uzun bir süre devam ettiğini söyleyebiliriz.

Bosentan ile tedavi edilen gruplarda ise lökosit infiltrasyonu, alveolar ödem ve konjesyonun, kontüzyon gruplarına oranla anlamlı derecede az olduğunu saptadık. Endotelin, çeşitli tipte akciğer hasarında aktiveleşebilen, polimorf nüveli nötrofillerden reaktif oksijen ürünlerinin üretimini ve sitokin salınımını indükleyen, proinflamatuvar vazoaaktif bir peptittir (137). Bu durumda bir endotelin reseptör antagonisti olan bosentanın endotelin

reseptör blokajı ile inflamasyon sürecini baskılayabilceği öngörülebilir. Çalışmamızda elde ettiğimiz histopatolojik sonuçlar ışığında bosentanin antiinflamatuvar etki ile oluşan lökosit infiltrasyonu, alveolar ödem ve konjesyonun ilerlemesini azalttığını düşünmekteyiz.

Çeşitli sebepler ile epitelyal hasarlanmalarda, infektif bir epitelyal tamir süreci dokuda fibrozis ile sonuçlanabilmektedir (49, 138, 139). Akciğer hasarında belirteçler konulu bir derlemede, akut akciğer hasarı oluşumunda, interstisyel inflamasyon ve interstisyel fibrozisin ortalama 3. günde artmaya başladığı ve 7. günden sonra daha hızlı bir ivme ile yükselişe geçtiği ifade edilmiştir (138).

Künt akciğer travması ile AK oluşturulmuş bir çalışmada ise, çalışmacılar kontüzyon sonrası 7. günde MTK boyama ile solunum yolu bronşioelleri çevresinde daha belirgin olmak üzere interstisyel fibrozis ile uyumlu fibrotik odakları göstermişlerdir (49).

Bir herbisit olarak dünyada yaygın kullanımı olan ve respiratuvar yetmezliğe yol açabilen paraquat ile oluşturulan akut akciğer hasar modeli ile yapılan bir çalışmada, 3., 7., 14. ve 21. günlerde histopatolojik inceleme ve hidroksiprolin (HYP) ile pulmoner fibrozis değerlendirilmiş ve bosentanin pulmoner fibrozis üzerine etkinliği incelenmiştir (139). Paraquat verilen grupta 3. günden itibaren HYP düzeylerinde artış olduğunu ve 21. günde maksimum seviyeye ulaştığını saptamışlar ve MTK boyama ile alveol duvarlarında kalınlaşma ve fibroglial fibrilleri göstermişlerdir. Bosentan tedavisi uygulanan grupta ise günler içerisinde HYP düzeylerinde azalma olmakla birlikte erken dönemde kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmezken, 21. günde paraquat grubuna göre anlamlı azalma saptamışlardır (139).

Çalışmamızda kontüzyon sonrası 3. ve 7. günde fibrozis gelişimini ve bosentanin fibrozis üzerine etkisini inceledik. MTK ile boyama sonrası yapılan değerlendirmede 3. günde hiçbir grupta fibrozis lehine bulgu yoktu. 7. gün değerlendirmesinde her iki grupta da değişen derecelerde alveolar septaların kalınlaşmış olduğunu gördük fakat fibrotik odaklar saptanmaması nedeniyle fibrozis skoru 1. ve 2. derece olarak değerlendirildi. Bosentan tedavisi alan ve almayan grupta fibrozis skorlarında anlamlı fark saptanmadı. Literatürdeki benzer çalışmalara göre

çalışmamızda fibrozis skoru daha düşüktü. Yine çalışmamızda, paraquat verilerek akciğer hasarı oluşturulan çalışmadan farklı olarak 3. günde fibrozis saptanmaması, fibrozisin değerlendirilme tekniğiyle bağlantılı olabilir. Fibrozis değerlendirilmesinde HYP kullanılmaması bu çalışmanın fibrozis değerlendirilmesindeki eksik tarafıdır. Aynı çalışmada, çalışmacılar 21 gün bosentan tedavisi verdikleri grupta tedavi almayan gruba göre fibroziste anlamlı fark saptamışlardır. Çalışmamızda gruplar arasında fark olmaması 7 gün tedavinin fibrozis üzerinde etkinliği değerlendirmede yetersiz olabileceğini düşündürdü. Bu nedenle daha uzun süreli planlanacak bir çalışmada farklı sonuçlar elde edilebilir.

Akciğer kontüzyonu gibi akut akciğer hasarına yol açan durumlarda alveolar makrofajların süperoksit radikalleri adı verilen potent SOR'lar üretebildiği bilinmektedir (140). Salınan bu serbest SOR'lar lipit peroksidasyonu yoluyla oksidatif hasara neden olabilmektedir. SOR aracılığı ile hücre membranının bütünlüğünün bozulması sonrası lipit peroksidasyonu ile hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerine indirgenerek hücre membranında hasar ve yıkım ortaya çıkar. Membran peroksidasyonu membran akışkanlığı ve geçirgenliğinde değişikliğe neden olur. Lipit peroksidasyonunun akciğerde nötrofil göçü ve başlayan inflamatuvar süreç ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (140).

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir (85). Oksidatif strese maruz kalan dokularda, MDA düzeyinde artış görülür. Başka bir deyişle plazma MDA düzeyi oksidatif stres için biyomarker olarak kullanılabilir.

SOD ise süperoksitin oksijen ve hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen enzim ailesindendir (87). Bu nedenle oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir (141).

Bosentanın farklı patolojilerde MDA ve SOD üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (142, 143). Deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda diyabetin akciğer komplikasyonları üzerine bosentanın etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, oral yolla 100mg/kg dozunda bosentan tedavisi uygulanan grupta MDA değerlerinde azalma ve SOD ve GSH değerlerinde artış tespit edilmiştir (142).

Parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesinde bosentanın kullanıldığı başka bir çalışmada ise, SOD,GSH ve MDA ölçümleri ile bosentanın oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (143).

Çalışmamızda serbest oksijen radikalleriyle birlikte artış gösterdiği bilinen lipid peroksidasyonunu akciğer dokusunda MDA düzeyini ölçerek takip ettik. MDA'nın 3. günde kontüzyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı, bosentan grubunda ise kontüzyon grubuna göre azaldığı fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmadığı görüldü. Üçüncü ve yedinci gün kontüzyon grupları karşılaştırıldığında, MDA düzeyinin 7. günde ivmeli bir şekilde yükselmeye devam etmesi kontüzyonun ilerleyici etkisi olarak düşünüldü. Yedinci günde kontüzyon ve tedavi grubu karşılaştırıldığında ise, bosentan grubunda MDA değerlerinin anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. SOD düzeylerini değerlendirildiğimizde, 3. günden itibaren başlayarak hem 3. gün, hem de 7. günde kontüzyon grubundaki SOD değerlerinin, kontrol ve bosentan grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu gördük. Tedavi gruplarında ise erken dönemden itibaren SOD düzeylerinin yüksek olduğunu saptadık. Tedavi ile MDA değerlerindeki geç dönem baskılanmayı ve SOD değerlerindeki erken dönemden itibaren yüksekliği göz önünde bulundurduğumuzda bu durum, tedavi süresinin uzamasıyla birlikte ilacın kümülatif etkiyle etkinliğinin artması şeklinde yorumlanabilir.

Pulmoner kontüzyonda travmaya bağlı gelişen inflamasyon ve oksidatif reaksiyonlarda NO önemli bir rol oynamaktadır (66). Nitrik oksit, fizyolojik koşullarda yararlı etkiler sergilemesine rağmen, uygunsuz üretimi sonucu pek çok patolojik durum ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, nitrik oksit aktivitesini modüle eden ajanların terapötik değeri olduğu düşünülmektedir (70, 71).

Nitrik oksit, L-argininden, nitrik oksit sentetaz enziminin katalizlediği bir reaksiyon aracılığı ile oluşur. Üç tür nitrik oksit sentetaz izoformu bulunur. Bunlar, endotelyal nitrik oksit sentetaz, nöronal nitrik oksit sentetaz ve uyarılabilen nitrik oksit sentetazdır (65). Bu üç izoform da akciğerde mevcuttur. iNOS, solunum yolu epitelinde ve özellikle makrofajlarca, travma veya özgül sitokinlerin indüklemesi sonrasında fazla miktarda salgılanır. eNOS' un pulmoner vasküler endotelde düşük dozda devamlı olarak salımı bilinmekle birlikte travma sonrasında eNOS cevabı

konusundaki çalışmalar çelişkilidir. Koyunlarda duman inhalasyonu ve yanık ile akciğer hasarı oluşturularak meydana getirilen bir çalışmada çalışmacılar nitrik oksit sentetaz formlarını değerlendirmişler ve normal akciğer dokusunda her üç NOS formunun da bulunduğu fakat travma sonrası eNOS ve nNOS düzeyleri değişmezken, iNOS düzeylerinde belirgin artış olduğunu saptamışlardır (144).

Sıçanlarda travmatik şok modeli ile tüm vücut hasarı oluşturulan başka bir çalışmada ise travma sonrasında akciğer dokusunda eNOS düzeylerinde artış gösterilmiştir (145).

Bu çalışmada da immünohistokimyasal olarak eNOS düzeyi değerlendirildi. Kontüzyon grubunda eNOS düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu saptandı. Yukarıda bahsedilen duman inhalasyonu ile oluşturulan akciğer hasarı modelinden farklı ve travmatik şok modeli ile oluşturulan akciğer hasarı sonuçlarıyla benzer olarak, uygulanan travma modeli eNOS'daki artış ile ilişkilendirilebilir. eNOS'un endotel duvarında bulunan bir nitrik oksit sentetaz formu olması nedeniyle künt toraks travmasında direk hasarlanma ile endotel bütünlüğünün bozulması sonrası eNOS'da artış olduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte literatürle uyumlu olarak akciğer dokusundaki iNOS düzeylerinin de kontüzyon grubunda belirgin olarak yüksek olduğunu saptadık.

Endotelin reseptör antagonistlerinin proinflamatuvar bir peptit olan endotelin 1'i baskılayarak inflamasyonu azalttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir, fakat ikincil mediyatörler ile oluştuğu düşünülen reaktif oksijen ürünlerinin ve nitrik oksit yolağı üzerindeki etkisi net değildir (137, 146).

Nitrik oksit ve endotelin ilişkisi üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan intestinal iskemi/reperfüzyon hasarında nitrik oksit düzeylerinin artış ve azalışında portal venöz endotelin ölçümü ile endotelin cevabının değerlendirildiği bir çalışmada, nitrik oksit ve endotelin arasında hem fizyolojik hem patolojik koşullarda karşılıklı bir geribildirim etkileşimi saptanmıştır (147).

Aynı çalışmanın ikinci basamağında endotelin 1 ve endotelin reseptör antagonisti verdikleri gruplarda, reaktif oksijen ürünleri, nitrik oksit ve

peroksinitrit düzeylerini karşılaştırdıklarında, entotelin reseptör blokajının oksidatif stresi azalttığı sonucuna varmışlardır (148).

Çalışmamızda mikst endotelin reseptör antagonisti olan bosentanın travma sonrası artan iNOS ve eNOS düzeyleri üzerine etkisini değerlendirdik. Üçüncü gün bosentan verilen grup ile kontüzyon grubu arasında anlamlı fark olmasına karşın, 7. günde bosentan grubunda iNOS skorları daha düşük olmasına rağmen, iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Yine eNOS değerlerinde 3. ve 7. günlerde kontüzyon ve bosentan grupları arasında, bosentan gruplarında skorların daha düşük olmasına rağmen anlamlı fark saptanmadı. Eş zamanlı akciğer dokularında biyokimyasal olarak ölçülen nitrik oksit düzeyleri değerlendirildiğinde, kontüzyon gruplarında, kontrol grubundan farklı olarak bir miktar yükseklik olduğunu fakat bunun gruplar arasında bir farklılık oluşturmadığını gördük. Bu sonuçlardan yola çıkarak, çalışmamızda bosentanın akciğer kontüzyonunda gelişen oksidatif süreçteki etkisi, bosentanın birincil olarak iNOS ve eNOS sentezini baskılamadığı, bununla birlikte iNOS ve eNOS düzeylerindeki kısmi azalmanın ve nitrik oksit düzeylerinde major bir artış olmamasının bosentanın antiinflamatuvar etki ile ikincil olarak oksidatif sürece katkıda bulunduğu şeklinde yorumlanabilir.

Canlılarda ökaryot hücreler, patolojik hücre ölümü olan nekroz ve programlanmış hücre ölümü apoptoz ile iki farklı yolla yok olmaktadır. Fizyolojik durumlar dışında bazı viral enfeksiyonlar, diyabet, oksidatif stres, alkolizm ve radyasyon gibi patolojik etkenler de apoptozu başlatabilmektedir (149). Fakat dış etkenlere maruz kalan bir hücrenin ne zaman, hangi ölüm yolunu seçtiği konusunda ortak bir görüş yoktur. Bazı bakteriyel endotoksinlerin epitel hücrelerinde doğrudan lizis oluşturarak nekroza yol açtığı, bununla birlikte doku hasarlanması ile hücre içinde ve epitelde oluşturulan sinyaller ile aktive olan mitokondriyon yolu ve Fas/CD95/Apo-1 gibi bazı ölüm reseptörlerinin aktivasyonu ile hücrenin kendi ölümünü başlatabildiği düşünülmektedir (150, 151). Doku hasarına hücrel cevabın değerlendirildiği bir çalışmada, sekonder bakteri endotoksine (lipopolisakkarid [LPS]) maruz kalan domuz endotel hücrelerinin, oksidatif mekanizmalarla ısı şok cevabı oluşturarak nekroz ile değil apoptoz ile öldüğü gösterilmiştir (152).

Apopitotik hücre ölümü iskemi/reperfüzyon, yanık, sepsis ve travmatik beyin hasarı gibi çeşitli travmatik olayları takiben artmaktadır (153, 154, 155). Travmatik beyin ve spinal hasar sonrası programlı hücre ölümünün oluşumunu araştıran çalışmalarda posttravmatik sekellerin patogenezinde apopitozisin öneminin altı çizilmiştir (155, 156). Hipoksinin, birçok organda apopitotik hücre ölümünü indükleyebildiği bilinmektedir. Künt göğüs travmasının da programlanmış hücre ölümünü indüklediğini gösteren yayınlar mevcuttur (56).

Travma sonucu akciğer hasarında gelişen apopitozisin fizyopatolojisi hakkında iki hipotez öne sürülmektedir (45). Akut akciğer hasarı ve apopitoz konusunda yapılan bir derlemede de ayrıntılı olarak belirtildiği şekilde birinci hipotez, nötrofillerin apopitoziste anahtar rolü olduğunu ve kalıcı nötrofilik yanıtın, hasarın ilerlemesine katkıda bulunduğunu savunan 'nötrofil hipotezi' dir. İkinci hipotez ise 'epitel hipotezi' olarak adlandırılmaktadır. Alveolar epitel hasarı ve sonrasında gelişen olayların apopitoz patogenezinde belirleyici rol oynadığını öne sürmektedir. Aslında nötrofil aracılı ve epitel aracılı süreçler birbirinden bağımsız değil birbirleri ile ilişkili olan süreçlerdir (157)

Akciğer kontüzyonunu takiben akciğerde programlı hücre ölümünün başladığına dair ilk kanıtları Liener ve arkadaşları ortaya koymuşlardır (56). Bununla birlikte aynı çalışmada, göğüs travmalı ratlarda sistemik hipoksiye rağmen apopitotik karaciğer hücresinde artış belgelenememiştir. Bu nedenle programlanmış hücre ölümünün induksiyonunda lokal mekanizmaların sorumlu olabileceğini ifade etmişlerdir (56).

Patlama dalgası etkisiyle oluşturulan bir deneysel akciğer kontüzyonu modelinde akciğer hasarından 48 saat sonra artmış tip II hücre apoptozu gösterilmiştir. Artmış kaspaz 3, 8 ve Fas gibi apoptotik belirteçleri, apoptotik sürecin ekstrinsik Fas/Fas ligand mekanizması yoluyla oluştuğu şeklinde yorumlanmışlardır (57).

Oksidatif stres, nitrik oksit ve iskeminin apopitotik hücre ölümünü indükleyen faktörler olduğu belirtilmiştir. Apopitotik hücre ölümüne masif serbest oksijen radikallerinin üretiminin neden olduğu çeşitli çalışmalarla ifade edilmiştir (153, 156).

Bu hipotez üzerinden yola çıkarak, çalışmamızda TUNEL boyama yöntemi ile apoptozisi araştırdık. Kontüzyon gruplarında TUNEL pozitif hücrelerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu immünohistokimyasal olarak saptadık. Tedavi gruplarında ise TUNEL pozitif hücrelerin kontüzyon gruplarına oranla anlamlı olarak daha az olduğunu tespit ettik.

Asit aspirasyonu ile oluşturularak yapılan bir akciğer hasar modelinde çalışmacılar akciğer dokusunda H&E ve TUNEL boyama ile 1.,4.,24. ve 72. saatte inflamatuvar hücreleri ve apoptozisi değerlendirmişler ve 24. saatte en yüksek düzeyde inflamatuvar hücre topluluğu ve apoptozis saptarken, 72. saatte herhangi bir tedavi uygulanmaksızın inflamatuvar hücre düzeyinin normale döndüğünü, apoptotik hücre sayısında da belirgin azalma olduğunu saptamışlardır. Bu sonucu, aktive olan doğal tamir mekanizmalarıyla akut inflamasyonun spontan çözülmesi ile ilişkilendirmişlerdir (159).

Bu çalışmada ise tedavi almayan akciğer kontüzyonu grubunda 7. günde de apoptotik hücrelerin yoğun bir şekilde var olduğu tespit edildi. Tedavi almayan akciğer kontüzyonu grubunda 3. ve 7. günlerde apoptoz düzeyinde belirgin fark saptanmadı. Künt toraks travması ile oluşturulmuş akciğer kontüzyonunda inflamatuvar sürecin günler içerisinde devam ettiği, yukarıda bahsedilen çalışmadan farklı olarak uygulanan hasar oluşturma yönteminin sonuçtaki farklılığa etki etmiş olabileceği düşünüldü.

Bosentan çeşitli iskemi/reperfüzyon modellerinde apoptoz üzerinde etkinliği gösterilmiş bir ajandır (160, 161). Ratlarda iskemi ve reperfüzyon ile oluşturulan deneysel spinal kord hasarlanması modelinde bosentan uygulanan grupta Bcl-2 artışı ve kaspaz-8 azalması ile birlikte apoptozun anlamlı derecede azaldığı gösterilmiş ve bosentanın bu etkiye apoptotik proteinlerin salınımını etkileyerek yol açtığını ifade edilmiştir (160).

Deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada ise periinfarkt alanında apoptoza giden kardiyomiyositler değerlendirildiğinde, bosentan verilen grupta tedavi almayan gruba göre iyileşme saptamışlardır (161).

Literatürde ingilizce yayınlar tarandığında travmatik akciğer kontüzyonunda bosentanın apoptoz üzerine etkinliğini değerlendiren bir

çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular sonucunda, bosentan verilen grupta 3. günde tedavi verilmeyen gruba göre anlamlı fark saptanırken, 7. günde tedavi alan ve almayan grup arasında ileri derecede anlamlı fark gözlenmiştir. Bu bulgular ışığında bosentanın akciğer kontüzyonunda olduğu gösterilen apoptozisi azaltmada etkili bir ajan olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, akciğer kontüzyonu travma sonrası akciğer dokusunda ciddi lokal hasarın yanında, ikincil olarak gelişen inflamatuvar yanıt mekanizmaları ve açığa çıkan reaktif oksijen ürünleri vasıtasıyla ilerleyici bir doku hasarına neden olmaktadır. Erken dönemde akut akciğer hasarı ve akut solunum sıkıntısı, geç dönemde ise fibrozis gelişimiyle birlikte kronik akciğer hastalığına yol açabilir.

Akciğer kontüzyonunda mortalite ve morbiditenin azalması amacıyla erken ve geç dönemde bosentan uygulanmasının etkinliğini araştırdığımız çalışmamızda, travmanın oluşturduğu birincil ve ikincil hasarın azaltılmasında, bosentan değişik oranlarda olumlu etki göstermiştir. 100mg/kg dozunda oral yolla bosentan kullanımı antiinflamatuvar etkileri ile, akut inflamatuvar yanıtı baskılamıştır. Ancak NO üzerinde anlamlı etkisi yoktur. NO yolu üzerinden etkinliği gösterilemese de inflamasyona ikincil olarak gelişen oksidatif stresi dolaylı olarak azaltarak doku hasarını önlediği ve apoptozisi önemli ölçüde engellediği saptandı. Fibrozis üzerine etkinliği gösterilemedi. Fibrozis üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla daha uzun süreli bosentan kullanımı ile yapılacak çalışmalara gerek vardır. Çeşitli deneysel akciğer hasarlanması modellerinde bosentanın etkinliği çalışılmış olsa da literatürde künt travma sonrası akciğer kontüzyonunda bosentan kullanımına dair veri saptanmadı. İnsanlarda çeşitli hastalıklarda kullanım alanı olan bosentanın, klinik çalışmalar sonucunda akciğer kontüzyonunun ikincil hasarını önlemede kullanılabilecek bir tedavi ajanı olabileceği kanısındayız.

5.1. SONUÇLAR

Künt toraks travması ile oluşturulmuş akciğer kontüzyonunda bosentanin erken ve geç dönemde inflamasyon, oksidatif süreç ve fibrozis üzerine etkileri, histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak değerlendirildi.

Histopatolojik değerlendirmede, kontüzyon gruplarında alveolar ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonunun erken ve geç dönemde kontrol grubuna göre yüksek olduğu, 7. günde azalmakla birlikte devam ettiği saptandı. Tedavi gruplarında ise hem 3., hem de 7. günlerde, mevcut bulgularda düzelme saptandı. Kontüzyon sonrası 7. günde düşük dereceli fibrozis gelişimi gösterildi. Tedavi alan grupta fibrozis derecesinde anlamlı değişim olmadığı görüldü.

Biyokimyasal değerlendirmede, MDA düzeyinin kontüzyon gruplarında süreyle birlikte ivmeli bir şekilde arttığı, tedavi gruplarında ise erken dönemde anlamlı fark saptanmazken geç dönemde azaldığı görüldü. SOD düzeyinin ise hem erken hem de geç dönemde kontüzyon gruplarında azalırken, tedavi gruplarında arttığı saptandı. NO değerlerinde gruplar arasında kontüzyon gruplarında artış olmakla birlikte anlamlı fark saptanmadı.

İmmünohistopatolojik değerlendirmede, TUNEL boyama ile apoptozis değerlendirmesinde kontüzyon gruplarında TUNEL pozitif hücrelerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, tedavi gruplarında ise TUNEL pozitif hücrelerin kontüzyon gruplarına oranla anlamlı olarak daha az olduğunu tespit edildi. iNOS ve eNOS değerlendirmesinde her iki parametrenin de travma sonrası erken ve geç dönemde kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı. Tedavi alan gruplar ile karşılaştırıldığında erken dönemde iNOS değerlerinde bir azalma saptanırken geç dönemde anlamlı fark saptanmadı. eNOS değerlerinde erken ve geç dönemde tedavinin etkinliği saptanmadı.

Kaynaklar

1. Peclet MH, Newman KD, Eichelberger MR, et al. Thoracic Trauma in Children: An Indicator of Increased Mortality. *J Pediatr Surg.* 1990, 25: 961-965
2. Demirhan R, Onan B, Oz K, et al. Comprehensive analysis of 4205 patients with chest trauma: a 10-year experience. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2009, 9: 450-453
3. Coran AG, Adzick NS, Krummel TM et al. Thoracic injuries. *Pediatric Surgery* 7th ed, Elsevier 2012, 271-287
4. Miller PR, Croce MA, Bee TK, et al. ARDS after pulmonary contusion: accurate measurement of contusion volume identifies high-risk patients. *J Trauma.* 2001, 51: 223-228
5. Cohn SM, Zieg PM. Experimental pulmonary contusion: Review of the literature and description of a new porcine model. *Journal of Trauma-Injury Infection and Critical Care.* 1996, 41: 565-571
6. Elsayed NM, Gorbunov NV, Kagan VE. A proposed biochemical mechanism involving hemoglobin for blast overpressure-induced injury. *Toxicology.* 1997, 121: 81-90
7. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, et al. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *CHEST Journal.* 2002, 122: 314-320
8. Dewar D, Moore FA, Moore EE, et al. Postinjury multiple organ failure. *Injury-International Journal of the Care of the Injured.* 2009, 40: 912-918
9. Akca T, Canbaz H, Tataroglu C. The effect of N-acetylcysteine on pulmonary lipid peroxidation and tissue damage. *J Surg Res.* 2005, 129: 38-45

- 10.** Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988, 332: 411-415
- 11.** Clozel M, Breu V, Gray GA, et al. Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J Pharmacol Experiment Ther*. 1994, 270: 228-235
- 12.** Keith L. Moore, Arthur F. Dalley. *Clinically Oriented Anatomy*. 5th ed: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 1: 177-184
- 13.** www.alignedforlife.co.uk
- 14.** Skandalakis JE, Colborn GL, Weidman TA, et al. Solunum Sistemi. Skandalakis JE ed. In: Skandalakis Cerrahi Anatomi. Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri. Çeviri Editörü Başaklar AC. Palme Yayıncılık, 2008, 272-296
- 15.** www.legacy.owensboro.kctcs.edu
- 16.** Sadler TW. *Langman's Medical Embriyology*. 10th Edititon. Lippincott Williams & Wilkins 2006, 195-201
- 17.** www.respiratory-system.weebly.com/lungs
- 18.** Coran AG, Adzick NS, Krummel TM et al. *Respiratory Physiology and Care*. *Pediatric Surgery* 7th ed. Elsevier 2012, 109-122
- 19.** Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology text & atlas*. McGraw- Hill 11th ed. *The Respiratory System*. 2005, 340-359
- 20.** Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji*. *Solunum Sistemi*. Nobel Tıp Kitapevleri. Çeviri editörleri: Aytekin Y, Solakoğlu S. 2006, 349-368
- 21.** Fahy JV, Dickey BF. *Airway Mucus Function and Dysfunction*. *New English Journal of Medicine*. 2010, 364: 2233-2247
- 22.** Rock JR, Hogan BLM. *Epithelial Progenitor Cells in Lung Development, Maintenance, Repair and Disease*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2011, 27: 493-512

- 23.** Guyton AC, Hall EC. Tıbbi Fizyoloji. 10.ed. Nobel Tıp Kitap Evleri.Çeviri Editörü: Çavuşoğlu H. Gaz Değişimin Temel İlkeleri: Solunum Membranlarında Oksijen ve Karbondioksit Difüzyonu. 2001, 252-262
- 24.** Locicero J. Epidemiology of Chest Trauma. Surgical Clinics of North America. 1989, 69: 15-19
- 25.** Bafloğlu A, Akdağ AO, Çelik B, et al. Göğüs travmaları: 521 olgunun değerlendirilmesi. Ulus Travma Derg. 2004, 10: 42-46
- 26.** Galan G, Caffarena JM, Blasco E, et al. Blunt chest trauma in 1696 patients. Eur J Cardiothorac Surg. 1992, 6: 284-287
- 27.** Nakayama DK, Ramenofsky ML, Rowe MI. Chest trauma in childhood. Ann Surg. 1989, 210: 770-775
- 28.** Ismail MF, Al-Refaie RI. Chest Trauma in Children, Single Center Experience. Arch Bronconeumol. 2012, 48: 362-366
- 29.** Cohn SM. Pulmonary contusion: Review of a clinical entity. J Trauma 1997, 42: 973-979
- 30.** Hood RM. Thoracic Trauma Management In Patient With Coexistent Diseases. In Hood RM, Boyd AD, Culliford AT (eds): Thoracic Trauma. WB Saunders, WB Saunders Co. Philadelphia, 1989, 11: 402-413
- 31.** Fallon M. Lung injury in intact thorax with report of a case. Br J Surg. 1940, 28: 39-49
- 32.** Laurent EA. Rupture of both lungs without external injury. Lancet. 1883, 2: 457
- 33.** Kaynak K, Mattax LK, Dilege S, et al. Toraks travmaları. In: Erkin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu M, editors. Travma. İstanbul: Medikal yayıncılık, 2005, 819-873
- 34.** King JD, Curtis GM. Lung injury due to the detonation of high explosive. Surg Gynecol Obstet. 1942, 74: 53-56
- 35.** Williams ERP. Blast effects in warfare. Br J Surg. 1942, 30: 38-49
- 36.** Lockwood AL. Some experiences in the last war. BMJ. 1940, 1: 356-358

- 37.** Kretzschmar CH. Wounds of the chest treated by artificial pneumothorax. *Lancet*. 1940, 1: 832-834
- 38.** Hooker Dr. Physiological effects of air concussion. *Am J. Physiol*. 1924, 67: 219-274
- 39.** Zuckerman S. Experimental study of blast injuries to the lungs. *Lancet*. 1940, 2: 219-238
- 40.** Cameron GR, Short RHD, Waqkeley CPG. Pathological changes produced in animals by depth charges. *Br J Surg*. 1942, 30: 49-64
- 41.** Hoth JJ, Stitzel JD, Gayzik FS, et al. The pathogenesis of pulmonary contusion: an open chest model in the rat. *J Trauma*. 2006, 61: 32-44
- 42.** Huller T, Bazini Y. Blast injuries of the chest and abdomen. *Arch Surg*. 1970, 100: 24-30
- 43.** Oppenheimer L, Craven KD, Forkert L. Pathophysiology of pulmonary contusion in dogs. *J Applied Phys*. 1979, 47: 718-728
- 44.** Fulton RL, Peter ET. The progressive nature of pulmonary contusion. *Surgery*. 1970, 67: 499-506
- 45.** Raghavendran K, Notter RH, Davidson BA, et al. Lung Contusion: Inflammatory Mechanisms and Interaction with Other Injuries. *Shock*. 2009, 32: 122-130
- 46.** Mostay GJ, Alho AV, Schultz LS, et al. Pulmonary capillary permeability in the posttraumatic pulmonary insufficiency syndrome. Comparison of isogravimetric capillary pressures. *Ann Surg*. 1971, 173: 244-250
- 47.** Kaya H, Kafalı ME, Aydın K, et al. A Novel Experimental Bilateral Blunt Chest Trauma Model on Rabbits and its Effects in Lung. *Journal of Academic Emergency Medicine (JAEM)*. 2011, 10: 103-109
- 48.** Güneş S. Bilateral izole akciğer kontüzyonu yapılan ratlarda vitamin C ve vitamin E etkinliğinin araştırılması. T.C.Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, 2013, Tıpta Uzmanlık tezi, Isparta

49. Raghavendran K, Davidson BA, Woytash JA, et al. The evolution of isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma in rats: cellular and cytokine responses. *Shock*. 2005, 24: 132-138
50. Raghavendran K, Davidson BA, Knight PR et al. Surfactant dysfunction in lung contusion with and without superimposed gastric aspiration in a rat model. *Shock*. 2008, 30: 508-517
51. Göçmen C. Lipid Kökenli Otakoidler: Prostaglandinler ve Lökotrienler. *Türkiye Klinikleri J Int Med*. 2005, 1: 1-9
52. Knöferl MW, Liener UC, Seitz DH, et al. Cardiopulmonary, histological, and inflammatory alterations after lung contusion in a novel mouse model of blunt chest trauma. *Shock*. 2003, 19: 519-525
53. Kelly ME, Miller PR, Greenhaw JJ. Novel resuscitation strategy for pulmonary contusion after severe chest trauma. *J Trauma*. 2003, 55: 64-105
54. Knight PR, Rutter T, Tait AR, et al. Pathogenesis of gastric particulate lung injury: A comparison and interaction with acidic pneumonitis. *Anesth Analg*. 1993, 77: 754-760
55. Ward PA. Acute lung injury: how the lung inflammatory response works. *European Respiratory Journal*. 2003, 22: 22-23
56. Liener UC, Knöferl MW, Sträter J, et al. Induction of apoptosis following blunt chest trauma. *Shock*. 2003, 20: 511-516
57. Seitz DH, Perl M, Mangold S, et al. Pulmonary contusion induces alveolar type 2 epithelial cell apoptosis: role of alveolar macrophages and neutrophils. *Shock*. 2008, 30: 537-544
58. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, et al. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *Journal of Immunology*. 2003, 171: 4672-4679
59. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*. 1991, 91: 14-21
60. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the tool? *Redox Report*. 2004, 9: 145-152

- 61.** Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *American Physiological Society*. 1996, 271: 1424-1437
- 62.** Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987, 84: 9265-9269
- 63.** Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988, 333: 664-666
- 64.** Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol (USA)*. 1993, 54: 171-178
- 65.** Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem.J*. 1994, 298: 249-258
- 66.** Özkan M, Yüksekol İ. Nitrik Oksit ve Akciğerler. *Toraks Dergisi*. 2003, 4: 88-94
- 67.** Karakaya D, Barış S, Tür A. Nitrik Oksit. *OMÜ Tıp Dergisi*. 2000, 17: 139-148
- 68.** Kuyumcu A, Polat Düzgün A, Özmen MM, et al. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg*. 2004, 10: 149-159
- 69.** Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacology Reviews*. 1991, 43: 109-137
- 70.** Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994, 120: 227-237
- 71.** Kubes P, McCafferty DM. Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med*. 2000, 109: 150-158
- 72.** Science, Snyder SH. Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. 1992, 257: 494-496
- 73.** Vallance P, Leiper J. Blocking NO synthesis: How, where and why? *Nature Reviews Drug Discovery*. 2002, 1: 939-950

- 74.** Shibata T, Nagata K, Kobayashi Y. Pivotal Advance: A suppressive role of nitric oxide in MIP-2 production by macrophages upon coculturing with apoptotic cells. *Journal of Leukocyte Biology*. 2006, 80: 744-752
- 75.** Connelly L, Palacios-Callender M, Ameixa C, et al. Biphasic regulation of NF-kappa B activity underlies the pro and anti-inflammatory actions of nitric oxide. *Journal of Immunology*. 2001, 166: 3873-3881
- 76.** Al-Ali MK, Howarth PH. Nitric oxide and the respiratory system in health and disease. *Respir Med*. 1998, 92: 701-715
- 77.** Dweik R. The promise and reality of nitric oxide in the diagnosis and treatment of lung disease. *Clev Clin J Med*. 2001, 68: 486-493
- 78.** Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987, 327: 524-526
- 79.** Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, et al. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet*. 1991, 338: 1173-1174
- 80.** Ozkan M, Laskowski D, Dweik RA, et al. High levels of nitric oxide in individuals with pulmonary hypertension receiving epoprostenol therapy. *Lung*. 2002, 179: 233-243
- 81.** Dweik RA, Laskowski D, Abu-Soud HM, et al. Nitric oxide synthesis in the lung. Regulation by oxygen through a kinetic mechanism. *J Clin Invest*. 1998, 101: 660-666
- 82.** Ozkan M, Dweik R. Nitric Oxide and Airway Reactivity. *Clin Pulm Med*. 2001, 8: 199-206
- 83.** Barnes PJ. Nitric Oxide and Airway Disease. *Ann Med*. 1995, 27: 389-393
- 84.** Khatri SB, Ozkan M, McCarthy K, et al. Alterations in Exhaled Gas Profile during Allergen-induced Asthmatic Response. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001, 164: 1844-1848

- 85.** Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*. 1995, 49: 1341-1348
- 86.** Bedreag OH, Rogobete AF, Sarandan M, et al. Oxidative stress in severe pulmonary trauma in critical ill patients. Antioxidant therapy in patients with multiple trauma-a review. *Anesteziol Intens Ter.* 2015, 47: 351-359
- 87.** Case AJ. On the Origin of Superoxide Dismutase: An Evolutionary Perspective of Superoxide-Mediated Redox Signaling. *Antioxidants (Basel)*. 2017, 6: 82-103
- 88.** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005, 38: 1103-1111
- 89.** Elmalı M, Baydin A, Nural MS, et al. Lung parenchymal injury and its frequency in blunt thoracic trauma: the diagnostic value of chest radiography and thoracic CT. *Diagn Interv Radiol*. 2007, 13: 179-182
- 90.** Shorr RM, Crittenden M, Indeck M, et al. Blunt thoracic trauma: Analysis of 515 patients. *Ann Surg*. 1987, 206: 200-205
- 91.** Kaewlai R, Avery LL, Asrani AV, et al. Multidetector CT of blunt thoracic trauma. *Radiographics*. 2008, 28: 1555-1570
- 92.** Rashid MA, Wikstrom T, Ortenwall P. Outcome of lung trauma. *Eur J Surg*. 2000, 166: 22-28
- 93.** Vidhani K, Kaue J, Parr M. Should we follow ATLS guidelines for the management of traumatic pulmonary contusion: the role of non-invasive ventilatory support. *Resuscitation*. 2002, 52: 265-268
- 94.** Gallagher JJ. Management of blunt pulmonary injury. *AACN Adv Crit Care*. 2014, 25: 375-386
- 95.** Požgain Z, Kristek D, Lovrić I, et al. Pulmonary contusions after blunt chest trauma: clinical significance and evaluation of patient management. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2017, doi: 10.1007/s00068-017-0876-5
- 96.** Richardson JD, Adams L, Flint LM. Selective management of flail chest and pulmonary contusion. *Ann Surg*. 1982, 196(4): 481-7

- 97.** Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988, 332: 411-415
- 98.** Boniface S, Reynaud-Gaubert M. Endothelin receptor antagonists- Their role in pulmonary medicine. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2011, 28: 94-107
- 99.** Kido T, Sawamura T, Masaki T. The processing pathway of endothelin-1 production. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1998, 31: 13-15
- 100.** Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *SC Health Risk Manag*. 2007, 3: 887-900
- 101.** Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth*. 2008, 11: 6-14
- 102.** Dupuis J. Endothelin receptor antagonists in pulmonary hypertension. *Lancet*. 2001, 358: 1113-1114
- 103.** Roux S, Breu V, Ertel SI, et al. Endothelin antagonism with bosentan: A review of potential applications. *J Mol Med*. 1999, 77: 364-376
- 104.** Dingemans J, van Giersbergen PL. Clinical pharmacology of bosentan, a dual endothelin receptor antagonist. *Clinical pharmacokinetics*. 2004, 43: 1089-1115
- 105.** Weber C, Banken L, Birnboeck H, et al. Effect of the endothelin-receptor antagonist bosentan on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin. *J Clin Pharmacol*. 1999, 39: 847-854
- 106.** Ubeaud G, Schmitt C, Jaeck D, et al. Bosentan, a new endothelin receptor antagonist: prediction of the systemic plasma clearance in man from combined in vivo and in vitro data. *Xenobiotica*. 1995, 25: 1381-1390
- 107.** Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, et al. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2007, 131: 1917-1928

- 108.** Galiè N, Torbicki A, Barst R, et al. Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology . Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension . Eur Heart J. 2004, 25: 2243-2278
- 109.** Nogueira RG, Bodock MJ et al. High-dose Bosentan in the Prevention and Treatment of Subarachnoid Hemorrhage-induced Cerebral Vasospasm: An Open-label Feasibility Study. Neurocrit Care. 2007, 7: 194–202
- 110.** Caires A, Fernandes GS et al. Endothelin-1 receptor antagonists protect the kidney against the nephrotoxicity induced by cyclosporine-A in normotensive and hypertensive rats. Braz J Med Biol Res. 2017, 51: 63-73
- 111.** Hauber HP, Blaukovitsch M. Current and future treatment options in idiopathic pulmonary fibrosis. Inflamm Allergy Drug Targets. 2010, 9: 158-172
- 112.** Clozel M, Salloukh H. Role of endothelin in fibrosis and anti-fibrotic potential of bosentan. Ann Med. 2005, 37: 2-12
- 113.** Filep JG, Fournier A, Foldes-Filep E. Acute pro-inflammatory actions of endothelin-1 in the guinea-pig lung: Involvement of ETA and ETB receptors. Br J Pharmacol. 1995, 115: 227-236
- 114.** Park SH, Saleh D, Giaid A, et al. Increased endothelin-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the effect of an endothelin receptor antagonist. Am J Respir Crit Care Med. 1997, 156: 600-608
- 115.** Andrasi TB, Kekesi V, Blazovics A, et al. ET(A) receptor blockade protects the small intestine against ischaemia/reperfusion injury in dogs via an enhancement of antioxidant defences. Clinical Sci. 2002, 148: 59-63
- 116.** Trabold B, Pawlik M, Nietsch R, et al. Bosentan reduced oxidative burst in acid aspiration-induced lung injury in rats. Injury. 2009, 40: 946-949
- 117.** Raghavendran K, Davidson BA, Helinski JD, et al. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma. Anesth Analg. 2005, 101: 1482-1489

- 118.** Karaca S. Tek taraflı akciğer kontüzyonu oluşturulan ratlarda s-metilisotioüre tedavisinin etkileri. T.C.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, 2013, Tıpta Uzmanlık tezi, Edirne
- 119.** William E. Lawson et al. Increased and Prolonged Pulmonary Fibrosis in Surfactant Protein C-Deficient Mice Following Intratracheal Bleomycin. Am J Pathol. 2005, 167: 1267-1277
- 120.** Ayvaz S, Aksu B, Karaca T et al. Effects of methylene blue in acute lung injury induced by blunt chest trauma. HIPPOKRATIA. 2014, 18: 50-56
- 121.** Kaminski A, Pohl CB, Sponholz C et al. Up-Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Inhibits Pulmonary Leukocyte Migration Following Lung Ischemia-Reperfusion in Mice. Am J Pathol. 2004, 164: 2241-2249
- 122.** Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988, 34: 497-500
- 123.** Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 1979, 95: 351-358
- 124.** Nichols RT, Pearce HJ, Greenfield LJ. Effects of experimental pulmonary contusion on respiratory exchange and lung mechanics. Arch Surg. 1968, 96: 723-730
- 125.** Wang ND, Stevens MH, Doty DB, et al. Blunt chest trauma: an experimental model for heart and lung contusion. J Trauma. 2003, 54: 744-748
- 126.** Özel ŞK, Özel HB, Colakoğlu N, et al. Protective effect of the thoracic cage on parenchyma in response to trauma direction in blunt thoracic trauma: an experimental study. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2010, 16: 287-292
- 127.** Turut H, Ciralik H, Kılınç M et al. Effects of early administration of dexamethasone, N-acetylcysteine and aprotinin on inflammatory and oxidant/antioxidant status after lung contusion in rats. International Journal of the Care of the Injured. 2009, 40: 521-527

- 128.** Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, et al. Protective effects of N-acetylcysteine in entoxemia. *Am. J. Physiol.* 1994, 266: 1746-1754
- 129.** Sala R, Moriggi E, Corvasce G, et al. Protection by N-acetylcysteine against pulmonary endothelial cell damage induced by oxidant injury. *Eur Respir J.* 1993, 6: 440-446
- 130.** Boybeyi O, Bakar B, Aslan MK, et al. Evaluation of dimethyl sulfoxide and dexamethasone on pulmonary contusion in experimental blunt thoracic trauma. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2014, 62: 710-715
- 131.** Aksu B, Ayvaz S, Aksu F, et al. Effects of sphingosylphosphorylcholine against oxidative stress and acute lung injury induced by pulmonary contusion in rats. *J Pediatr Surg.* 2015, 50: 591-597
- 132.** Gamze K, Mehmet HM, Deveci F, et al. Effect of bosentan on the production of proinflammatory cytokines in a rat model of emphysema. *Exp Mol Med.* 2007, 39: 614-620
- 133.** Lee CC, Maril KA, CarterWA, et al. A current concept of trauma induced multiorgan failure. *Ann Emerg Med.* 2001, 38: 170-176
- 134.** Dolkart O, Amar E, Shapira S, et al. Protective effects of rosuvastatin in a rat model of lung contusion: Stimulation of the cyclooxygenase 2-prostaglandin E-2 pathway. *Surgery.* 2015, 157: 944-953
- 135.** Davidson BA, Knight PR, Helinski JD, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of aspiration pneumonitis in rats. *Anesthesiology.* 1999, 91: 486-499
- 136.** Knight PR, Druskovich G, Tait AR, et al. The role of neutrophils, oxidants, and proteases in the pathogenesis of acid pulmonary injury. *Anesthesiology.* 1992, 77: 772-778
- 137.** Fujitani Y, Trifilieff A, Tsuyuki S, et al. Endothelin receptor antagonists inhibit antigen-induced lung inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997, 155: 1890-1894
- 138.** Bhargava M, Wendt CH. Biomarkers in acute lung injury. *Transl Res.* 2012, 159: 205-217

- 139.** Zhang Z, Jian X, Zhang W, et al. Using bosentan to treat paraquat poisoning-induced acute lung injury in rats. *PLoS One*. 8:e759432013
- 140.** Gris D , Hamilton EF, Weaver LC. The systemic inflammatory response after spinal cord injury damages lungs and kidneys. *Experimental Neurology*. 2008, 211: 259-270
- 141.** Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 1997, 43: 1209-1214
- 142.** Cayir A, Ugan RA, Albayrak A, et al. The lung endothelin system: a potent therapeutic target with bosentan for the amelioration of lung alterations in a rat model of diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest*. 2015, 38: 987-998
- 143.** Yayla M, Halici Z, Unal B, et al. Protective effect of ET-1 receptor antagonist bosentan on paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol*. 2014, 726: 87-95
- 144.** Cox RA, Burke AS, Soejima K, et al. Airway obstruction in sheep with burn and smoke inhalation injuries. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003, 29: 295-302
- 145.** Minchenko AG, Armstead VE, Opentanova IL, at al. Endothelin-1, endothelin receptors and ecNOS gene transcription in vital organs during traumatic shock in rats. *Endothelium*. 1999, 6: 303-314
- 146.** Finsnes F, Skjøsberg OH, Tønnessen T, et al. Endothelin production and effects of endothelin antagonism during experimental airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997, 155: 1404–1412
- 147.** Durakbasa CU, Dagli TE, Mouni H, et al. Nitric oxide and endothelin relationship in intestinal ischemia/reperfusion injury. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1998, 59: 379-383
- 148.** Ozel SK, Yuksel M, Haklar G, et al. Nitric oxide and endothelin relationship in intestinal ischemia/reperfusion injury (II). *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2001, 64: 253-257
- 149.** Kannan K, Jain Sk. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*. 2000, 7: 153-163

- 150.** Martin TR, Hagimoto N, Nakamura M, et al. Apoptosis and epithelial injury in the lungs. *Proc Am Thorac Soc.* 2005, 2: 214-220
- 151.** Tang PS, Mura M, Seth R, et al. Acute lung injury and cell death: how many ways can cells die? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008, 294: 632-641
- 152.** Buchman TB, Abello PA, Smith E, et al. Induction of the heat shock response leads to apoptosis in endothelial cells previously exposed to endotoxin. *Am J Physiol.* 1993, 265: 165-170
- 153.** Ikeda H, Suzuki Y, Suzuki M, et al. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. *Gut.* 1998, 42: 530-537
- 154.** Abello PA, Fidler SA, Bulkley GB, et al. Antioxidants modulate induction of programmed endothelial cell death (apoptosis) by endotoxin. *Arch Surg.* 1994, 129: 134-140
- 155.** Raghupathi R, Graham DI, McIntosh TK. Apoptosis after traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2000, 17: 927-938
- 156.** Lee YB, Yune TY, Baik SY, et al. Role of tumor necrosis factor-alpha in neuronal and glial apoptosis after spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2000, 166: 190-195
- 157.** Matute-Bello G, Martin TR. Science review: apoptosis in acute lung injury. *Crit Care.* 2003, 7: 355-358
- 158.** Buttke TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today.* 1994, 15: 7-10
- 159.** Hussain N, Wu F, Zhu L, et al. Neutrophil apoptosis during the development and resolution of oleic acid induced acute lung injury in the rat. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998, 19: 867-874
- 160.** Gong S, Peng L, Yan B, et al. Bosentan reduces neuronal apoptosis following spinal cord ischemic reperfusion injury. *Spinal cord.* 2014, 52: 181-185
- 161.** Oie E, Clausen OP, Yndestad A, et al. Endothelin receptor antagonism attenuates cardiomyocyte apoptosis after induction of ischemia in rats. *Scand Cardiovasc J.* 2002, 36: 108-116



T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU
(YÜDHEK)
ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
12.05.2017	601	28.04.2017	Burhan AKSU

‘Künt Toraks Travması ile Akciğer Kontüzyonu Oluşturulan Ratlarda Bosentan’ın Akciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi’ adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl	Hayvan Türü ve cinsiyeti: Sıçan ♂♀	Hayvan Sayısı: 38
------------------------------------	---------------------------------------	----------------------

GÖREVİ	ADI SOYADI
Başkan	Prof. Dr. Bayram YILMAZ
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA
Raportör	Vet. Hekim Engin SÜMER
Üye	Prof. Dr. M. Ece GENÇ
Üye	Doç. Dr. Rukset ATTAR
Üye	Doç. Dr. Soner DOĞAN
Üye	Doç. Dr. Ediz DENİZ
Üye	Prof. Dr. Gamze TORUN KÖSE
Üye	Yrd. Doç. Dr. Aylin YABA UÇAR
Üye	Hakan GÖKSEL
Üye	Ahmet ŞENKARDEŞLER

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ

TEZ DEĞERLENDİRME FORMU

TEZ BAŞLIĞI

KÜNT TORAKS TRAVMASI İLE AKCİĞER KONTÜZYONU
OLUŞTURULAN RATLARDA BOSENTANIN AKCİĞER HASARI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YAZAR

Dr. Gonca GERÇEL

DANIŞMAN

Doç. Dr. Burhan AKSU

VAR YOK

SCI-Exp Kapsamında Yayınlanma Potansiyeli

☐☐

Patent Alma Potansiyeli

☐☐

KARAR

YORUMLAR

Tarih

... / ... / 20..

İsim Soyad

İmza