



**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**AKUT AKCİĞER HASARI VE APOPTOZİSİ ÖNLEMEDE  
OLEANOLİK ASİTİN ETKİSİ**

**Dr. Abdulkerim BAYÜLGEN  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Erhan AYAN**

**MERSİN 2014**



**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**AKUT AKCİĞER HASARI VE APOPTOZİSİ ÖNLEMEDE  
OLEANOLİK ASİTİN ETKİSİ**

**Dr. Abdulkerim BAYÜLGEN  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Erhan AYAN**

**Bu tez, BAP-TF CTB (AB) 2013-3 TU kodlu proje olarak  
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**MERSİN 2014**

## TEŐEKKÜR

Çalışmanın planlanmasını, yürütülmesini yönlendiren ve her aőamada desteğini esirgemeyen sevgili hocam ve değerli danıőmanım sayın Doç. Dr. Erhan Ayan'a teőekkürü bir borç bilirim.

Tezimin hazırlanmasında emeği geçen ve yorucu tetkikleri büyük bir başarı ile gerçekleőtiren Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Rabia Bozdoğan Arpacı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Lülüfer Tamer Gümüő, Uzman Biyolog Ayőegül Görür, Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Semra Erdoğan ve Arő. Gör. A. Ayça Özdemir'e teőekkürlerimi sunarım.

Bizleri bilimsel verileri kılavuz alarak, mesleğini ve insanları seven, etik kurallara saygılı birer hekim olarak yetiőtirmek için tüm güçleri ile çalıőan baőtta değerli anabilim dalı baőtkanımız ve baőtşekimimiz Sayın Prof. Dr. M. Oğuz Köksel olmak üzere sevgili hocalarım Sayın Prof. Dr. Ali Özgülger, Sayın Doç. Dr. Erhan Ayan ve ayrıca benim üzerimde emeği geçen diğer tüm hocalarıma ayrı ayrı minnetlerimi ve őükranlarımı sunarım.

Bizlerin eğitimi için çağdaő, özgür ve bilimsel bir çalışma ortamı yaratmak için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan rektörümüz sayın Prof. Dr. Süha Aydın'a ve dekanımız sayın Prof. Dr. Ahmet İlvan'a őükranlarımı sunarım.

Baőtta Arő. Gör. Dr. Bülent Arslan olmak üzere beraber çalıőmaktan onur duyduğum araştırma görevlisi, hemőire ve sağlık personeli arkadaşlarıma teőekkürlerimi sunarım.

Son olarak, özellikle tezimin yazımında olmak üzere tezimin her aőamasında bana yardımcı olan eőtıme, bir gülüőü ile bütün sıkıntılarımı unutturan biricik kıızıma, her zaman olduğu gibi uzmanlık eğitimim sırasında da desteğini esirgemeyen canım aileme teőekkürü bir borç bilirim.

Dr. Abdulkerim Bayülgen

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
<b>ÖZET</b>	5
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b>	6
<b>GENEL BİLGİLER</b>	7
Akut Akciğer Hasarı ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu	7
Non-Farmakolojik Tedavi	14
Farmakolojik Tedavi	20
Apoptozis	24
Peroksinitrit	28
Oleanolik Asit	30
<b>MATERYAL VE METOD</b>	34
Çalışma Grupları	34
Kimyasallar	35
Biyokimyasal Analiz	35
Patolojik İnceleme	36
İstatistiksel Analiz	37
<b>BULGULAR</b>	38
<b>TARTIŞMA</b>	57
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	61
<b>KAYNAKLAR</b>	62
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	74
<b>ŞEKİLLER VE RESİMLER</b>	78
<b>TABLolar VE GRAFİKLER</b>	80

## ÖZET

Akut akciğer hasarı (ALI) ve akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), yüksek mortalite oranı (~%40) ile akut solunum yetmezliğinin hayatı tehdit eden formlarıdır<sup>1</sup>. ARDS dünya çapında yoğun bakım ünitelerindeki hastaların morbidite ve mortalitesine düzeyini artıran ve ciddi finansal gideri olan bir tablodur<sup>2</sup>. 1967 yılında ilk tanımlanmasından bu yana hakkında birçok çalışma yapılmasına rağmen halen etkin bir tedavi bulunamamıştır. Bu durum bize antiinflamatuvar etkinliği gösterilmiş olan oleanolik asitin ALI/ARDS tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada her biri 10 Wistar Albino rat içeren yedi grup oluşturduk. Kontrol grubu hariç tüm gruplara intratrakeal yoldan peroksinitrit verilerek trakea hasarı ile akut akciğer hasarı oluşturduk. Deneysel olarak oluşturduğumuz akut akciğer hasarında oleanolik asitin etkisini ve bronkoalveolar lavajla (BAL) ve intraperitoneal (IP) yolla verilmesi arasında fark olup olmadığını araştırdık. Bu amaçla her bir rattan toplanan kan örneklerinde malondialdehit (MDA), interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin 4 (IL-4), interlökin 10 (IL-10) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ölçümleri yaptık. Ayrıca akciğer ve trakea doku örneklerini histopatolojik olarak da inceledik ve apoptozis oranını değerlendirdik.

Sonuçların değerlendirilmesinde; peroksinitrit gruplarında (P24 ve P48), kontrol grubuna (K) göre inflamatuvar sürecin mediatörü kabul edilen IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10 ve MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. P24 ve P48 grupları kendi saatlerindeki tedavi grupları ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğunu gördük. Histopatolojik olarak P24 ve P48 gruplarında K'e göre doku hasarı skorlarında anlamlı bir artış gözlenirken, oleanolik asit tedavisi uygulanan gruplarda peroksinitrit gruplarına göre anlamlı derecede azalma saptandı.

Yaptığımız bu çalışmada peroksinitritle oluşturduğumuz akut akciğer hasarını önlemede oleanolik asitin etkili bir ajan olabileceğini saptadık.

**Anahtar Sözcükler:** Peroksinitrit, ALI, ARDS, Oleanolik Asit

## ABSTRACT

### **The Role Of Oleanolic Acid In The Prevention Of Acute Lung Injury And Apoptosis**

Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are life-threatening forms of acute respiratory failure with a high mortality rate (40%)<sup>1</sup>. The acute respiratory distress syndrome (ARDS) continues as a contributor to the morbidity and mortality of patients in intensive care units throughout the world, imparting tremendous financial costs<sup>2</sup>. Since its first description in 1967, it has been studied widely but no effective treatment has been found yet. These results made us think to investigate oleanolic acid which has been known for its anti-inflammatory effects for the treatment of ALI/ARDS.

To experiment this, 70 albino Wistar rats were randomly divided into 7 groups each containing 10 rats. Except those in the Control Group, acute lung injury was induced by intratracheal peroxyntirite instillation. We investigated the effect of oleanolic acid in experimental lung injury and comparison of bronchoalveolar and intraperitoneal instillation. To document the effectiveness of the oleanolic acid treatment for ALI, serum specimens for the determination of MDA, IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10 and TNF- $\alpha$  levels were examined. Lung tissue and trachea tissue specimens also, underwent histopathologic examination and we investigated the apoptosis count.

There were statistically significant differences between Peroxyntirite Groups (P24 and P48) and Control (C) Groups regarding inflammatory mediators such as IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10 and MDA. There were statistically significant differences between P24, P48 groups and treatment groups at the same hour. Histopathologic examination revealed a significant increase Peroxyntirite groups (P24 and P48) and C regarding tissue damaging scores, and significant decrease in treatment groups.

In this study, we determined that oleanolic acid could be an effective agent for the treatment of ALI.

**Keywords:** Peroxyntirite, ALI, ARDS, Oleanolic Acid

## GENEL BİLGİLER

### Akut Akciğer Hasarı ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), her iki akciğeri de içine alabilen non-kardiyojenik özellikteki diffüz infiltrasyonla karakterize, oksijen tedavisine cevap vermeyen akut solunum yetmezliği sendromudur<sup>3,4</sup>. ARDS akciğerlerin hava yolları veya dolaşım yoluyla etkilendiği çok çeşitli nedenlere bağlı olarak (pulmoner ve ekstrapulmoner travmalar) ortaya çıkan akut bir klinik tablo olup, farklı hastalıklara bağlı olarak (pnömoni ve ekstrapulmoner sepsis) geliştiğinden hastalık olarak değil sendrom olarak nitelendirilir<sup>5-8</sup>.

Vietnam savaşı sırasında, hızlı müdahaleye ve yaraların uygun şekilde tedavi edilmesine rağmen, bazı askerler beşinci günden sonra hipoksiden ölüyorlardı. Akciğer filmlerinde bilateral masif infiltrasyon görüldüğü için, ilk olarak “beyaz akciğerler” olarak adlandırılan ve ani gelişen taşikardi, takipne, ciddi dispne, oksijen tedavisine yanıtız siyanoz, akciğer kompliyansının kaybı sonucu askerlerin ölümüne sebep olan bu sendroma 1967 yılında Ashbaugh ve arkadaşları, Adult Respiratory Distress Syndrome (Erişkin Solunum Yetmezliği Sendromu) adını verdiler. Aynı klinik ve radyolojik tablo erişkinlerde gözlemlendiği gibi çocuklarda ve hatta yeni doğan bebeklerde de gözlemlendiği ortaya çıkınca, sendromun erişkinlere özgü olmadığı anlaşıldı ve Acute Respiratory Distress Syndrome (Akut Solunum Yetmezliği Sendromu) olarak yeniden adlandırıldı<sup>1,5,6,9,10</sup>. ARDS ile eş anlamlı, günümüzde kullanılan ve bir ölçüde de karışıklığa neden olan birçok isimlendirme vardır. Örneğin; erişkin hiyalen membran hastalığı, erişkin solunum yetersizlik sendromu, konjestif atelektazi, De Nang akciğeri, hemorajik akciğer sendromu, şok akciğeri ve travmatik ıslak akciğer gibi. Bununla birlikte kliniklerde günümüzde en çok kullanılan isimlendirme ise non-kardiyojenik pulmoner ödemdir<sup>10</sup>.

1967 yılında ilk tanımlandığı günden bugüne kadar tanımında birçok değişiklikler oldu. 1988 yılında Murray ve ark. patofizyolojik özellikleri de içeren genişletilmiş bir ARDS tanımı yapmıştır. Murray skorlama sistemi 4 kriter içermektedir (Bakınız Tablo 1). Hipoksi skorlaması, solunum sistemi kompliyansı skorlaması, göğüs radyolojisi skorlaması ve PEEP (Positive End Expiratory

Pressure - Ekspirasyon Sonu Pozitif Basınç) düzeyi skorlamasıdır. Her skora 0 ile 4'e kadar ciddiyetle değerlendirilmiş, elde edilen değer kriter sayısı olan 4'e bölünerek hesaplanmıştır. 0 hasarın olmadığını, 1-2,5 hafif- orta akciğer hasarını ve >2,5 ise ARDS varlığını göstermektedir<sup>11</sup>.

**Tablo 1.** ARDS için kullanılan skora sistemi: Lung Injury Score (LIS).

<b>Akciğer Röntgen Skoru</b>		<b>Hipoksi Skoru</b>	
Alveolar konsolidasyon yok	0	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> > 300	0
1 Kadranda konsolidasyon	1	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> 225-299	1
2 Kadranda konsolidasyon	2	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> 175-224	2
3 Kadranda konsolidasyon	3	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> 100-174	3
4 Kadranda konsolidasyon	4	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 100	4
<b>PEEP İhtiyacı (Ventile Edilirken)</b>		<b>Dinamik Akciğer Kompliyans (Ventile Edilirken)</b>	
<5 (cmH <sub>2</sub> O)	0	>80 (ml/ cmH <sub>2</sub> O)	0
6-8 (cmH <sub>2</sub> O)	1	60-79 (ml/ cmH <sub>2</sub> O)	1
9-11 (cmH <sub>2</sub> O)	2	40-59 (ml/ cmH <sub>2</sub> O)	2
12-14 (cmH <sub>2</sub> O)	3	20-39 (ml/ cmH <sub>2</sub> O)	3
>15 (cmH <sub>2</sub> O)	4	<19 (ml/ cmH <sub>2</sub> O)	4

ARDS'li bir hastanın LIS sistemine göre aldığı puanları toplandığında 0 puan normal, 0.1-2.5 puan hafif veya orta ARDS, >2.5 şiddetli ARDS olarak değerlendirilir

Ayrıca, akciğer dışı organ disfonksiyonunun bulunup bulunmadığı da belirtilmiştir. Puanlama sisteminin bulunması ve sistemik bir hastalığın bulunup bulunmadığının göz önüne alınması avantaj gibi görülmesine rağmen, kardiyojenik pulmoner ödem ayırt edilmesi gibi noktaların bulunmaması bir dezavantaj olarak görülmüştür<sup>10</sup>.

En son olarak 1992'de gerçekleştirilen "The American – European Consensus Conference on ARDS (Amerika-Avrupa Konsensus Komitesi)" sonrasında 1994 yılında Avrupa-Amerika Yoğun Bakım ve Toraks Dernekleri tarafından tanımlanmıştır<sup>8,12</sup>. Bu tanımlamaya göre ALI (Acute Lung Injury: Akut akciğer hasarı), ARDS'nin erken safhası olarak gösterilmektedir (Bakınız Tablo 2). Bu sınıflandırmanın başlıca iki yararı ARDS'nin erken ve daha az şiddetli olan



safhasında tedaviye başlanmasının tedavi başarısını arttırabilmesinin yanı sıra erken safhada saptanan laboratuvar ve biyokimya sonuçları sendromun daha iyi tanınmasını sağlamaktadır<sup>6-8,10,12</sup>.

<b>Tablo 2. ALI ve ARDS'nin Tanımı (1994 Amerika-Avrupa Konsensüs Konferansı)</b>	
Uygun klinik ortam ve bir veya birden fazla risk faktörü	
Direk grafide akut gelişen bilateral, diffüz, yama şeklinde veya homojen infiltrasyonlar	
Sol ventrikül yetmezliğinin klinik bulguları veya Pulmoner Arter Oklüzyon Basıncı $\leq 18$ mmHg	
<b>ALI</b>	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> oranı $\leq 40$ kPa (300mmHg)
<b>ARDS</b>	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> oranı $\leq 26,6$ kPa (200mmHg)

ALI, vasküler geçirgenlik artışıyla seyreden akut ve yaygın akciğer inflamasyonu olmakla birlikte her zaman ARDS'ye dönüşmesi beklenemez. ARDS tanımı ALI ile benzer olup en önemli farkı hipokseminin daha derin olmasıdır (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> oranı 200 mmHg veya altındadır). ALI ve ARDS'nin insidansı saptamak farklı tanımlamalar olması, etiyolojik varyasyonlar, coğrafik varyasyonlar, yetersiz dokümantasyon olması ve hastalığın tanınmaması nedenleri ile zor ve kesin insidansı farklılık göstermektedir<sup>10,12</sup>.

1994 yılında yayınlanan konsensus raporuna göre, İskandinav ülkelerinde yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalara göre akut akciğer hasarı insidansı; 17,9/100.000, ARDS insidansı ise 13,5/100.000 olarak bulunmuştur<sup>13</sup>. ALI ve ARDS'nin insidansı 1998'de ABD'de yıllık 50.000-190.000 vaka olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmada ALI insidansı 22-86/100.000 vaka olarak ve bunların %40-43'ünün ARDS olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada asıl olarak erişkin vakaları içermektedir. ALI/ARDS insidansı pediatrik grupta ise 2-8/100000 vaka olarak belirtilmiştir<sup>14</sup>.

2003 yılında Goss ve ark. 1996-1999 yılları arasındaki ALI hastalarını saptamak amacı ile ARDS network bilgi bankasını kullanmışlar ve 64,2/100.000 vakalık bir insidans saptamışlardır<sup>12</sup>. 2005 yılında Rubenfeld ve ark. (Amerika'da) King County Lung Injury Project (KCLIP) ile ALI/ARDS insidansının 78.9/100.000 vaka olarak hesaplamıştır. 2001-2008 yılları arasında Li ve ark. Mayo Clinic'te

yoğun bakım hastalarından 8 yıllık bir retrospektif kohort çalışması yayınlamış olup İnsidans oranının yılda 81/100.000 vakadan 38/100.000 vakaya düştüğünü saptamışlardır<sup>11</sup>.

Avrupa Yoğun Bakım Derneği ve Amerikan Toraks Derneği ile Yoğun Bakım Derneği 2011 yılında Berlin'de ARDS tanımının revizyonu için toplanmıştır. Yeni tanıma Berlin tanımlaması denir (Bakınız Tablo 3). Bu tanıma göre; ALI terimi kullanılmamaktadır. Komite ALI'nın uygunsuz kullanıldığını ve yardımcı olmadığını düşündü ve ARDS'yi hafif (ılımlı), orta ve ağır olarak değerlendirdi<sup>15,16</sup>.

<b>Tablo 3. ARDS Berlin tanımı</b>			
Akut gelişim, respiratuar tablonun bozulmaya başlamasında itibaren bir hafta olarak, O2 değerlendirilmesinde, PEEP $\geq$ 5 cmH <sub>2</sub> O olması, Direk grafide en az üç kadranın pleural efüzyon, nodül veya atelektazi ile açıklanamayan bilateral opasite olması gerekmektedir.			
ARDS oksijenizasyona göre;			
	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mmHg)	İnsidans	Mortalite
Hafif ARDS	201-300	5,6/100.000	%27
Orta ARDS	$\leq$ 200	16,3/100.000	%32
Ağır ARDS	$\leq$ 100	10/100.000	%45
olarak belirtilmiştir.			

Akut solunum sıkıntısı sendromu, yüksek oranda mortaliteye neden olmaktadır. 1967'de Ashbaugh ve arkadaşları 12 hastadan 7'sinin öldüğünü (%58) bildirmiştir<sup>11</sup>. ARDS mortalite oranı 1980'lerde %64-70 iken yeni çalışmalarda bu oranın %27-45 olduğu bildirilmiştir.

Phua ve ark. 2009 yılında yaptığı çalışmaya göre travma hastalarında mortalite oranları nispeten (%10-15) düşükken, en çok sepsis, pnömoni ve aspirasyonda gözlenmektedir<sup>17</sup>.

Yapılan başka bir çalışmada sepsis (%43) majör travmaya (%11) göre daha yüksek mortalite oranına sahiptir<sup>12</sup>. Mortaliteyi etkileyen diğer faktörler yaş, ırk ve cinsiyettir<sup>11,12</sup>.

Rubinfeld ve ark. 15-19 yaşındaki hastalardaki mortalitenin (%24) 85 ve üzeri yaştaki hastalardaki mortaliteye (%60) göre anlamlı bir şekilde az olduğunu göstermiştir<sup>18</sup>. ARDS'den sağ kalan hastaların taburculuk sonrası 2 yıllık takiplerinde sağlıkla ilişkili yaşam kalitesi azalmıştır ve fiziksel limitasyonları vardır<sup>19</sup>. Yakın zamanlı bir çalışmada, taburculuk sonrası 5. yılda geçmiş ARDS hastalarında halen belirgin azalmış 6 dakika yürüme testi saptanmıştır<sup>20</sup>. .

**Tablo 4.** ALI/ARDS Etiyolojisinde Rol Oynayan Hastalıklar ve Etiyolojik Faktörleri<sup>6,7,10,11,17,21,22</sup>

Primer ARDS (Pulmoner ARDS, Direk)	Sekonder ARDS (Ekstrapulmoner ARDS, İndirek)
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Mide içeriği aspirasyonu</li> <li>▪ Pnömoniler</li> <li>▪ Koroziv madde inhalasyonu</li> <li>▪ Pulmonel emboli</li> <li>▪ Septik emboli</li> <li>▪ Yağ embolisi</li> <li>▪ Amniotik sıvı embolisi</li> <li>▪ Suda boğulma</li> <li>▪ Ağır göğüs travması (akciğer kontüzyonu)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sepsis</li> <li>▪ Şok</li> <li>▪ İlaç intoksikasyonu</li> <li>▪ Yanıklar</li> <li>▪ Kan ve kan ürünleri transfüzyonu</li> <li>▪ Reperfüzyon hasarı</li> <li>▪ Akut pankreatit</li> <li>▪ Göğüs harici ciddi organ travması</li> <li>▪ Multiple travmalar</li> </ul>

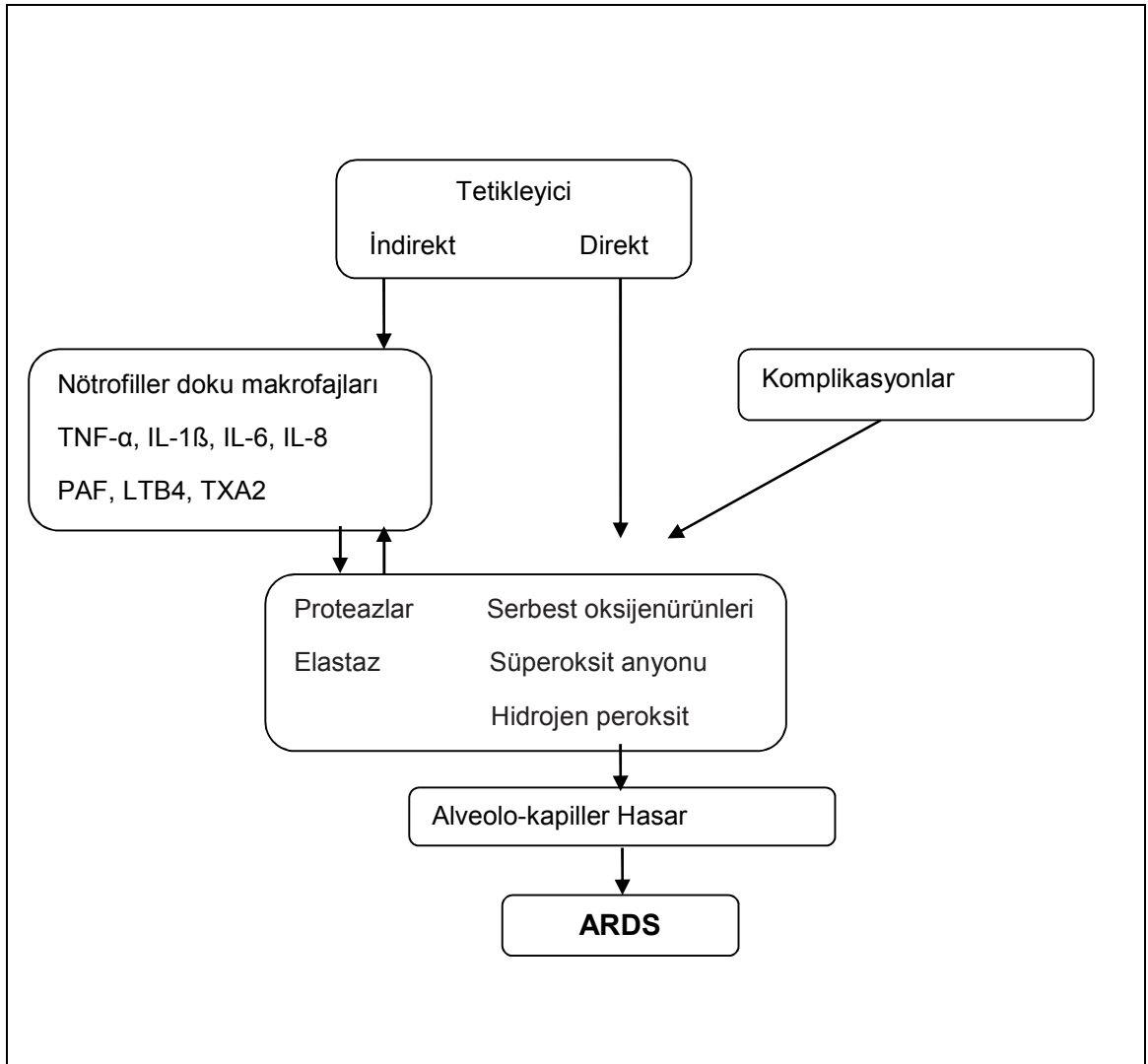
Akut solunum sıkıntısı sendromunda, akciğerlerin morfolojisi yaygın alveolar hasar olarak tanımlanmaktadır. ARDS'de ister pulmoner olsun, ister ekstrapulmoner (Bakınız Tablo 4) olsun, akciğerlerde oluşan patofizyolojik değişiklikler farklılık göstermez (Bakınız Tablo 5 ve 6). Akciğerlerde oluşan hasarın başlamasını takiben, yani kliniğin başladığı ilk 24 saat içinde eksüdatif fazı, daha sonraki 7-10 günlerde de fibroproliferatif faz takip eder<sup>6,17</sup>.

Eksüdatif faz klinik olarak 24-72. saatlerde tespit edilebilir. Hipoksemi gelişimi, akciğer grafisinde infiltrasyonlar ve akciğer kompliyansında azalma ile karakterizedir. Bunlara alveol içine proteinden zengin sıvı kaçması, hemoraji, endotelial ve epitelyal hasar ile sonlanan diffüz nötrofilik alveoler infiltratlar eşlik eder<sup>17,19,23</sup>. Akciğerde, ekstravasküler akciğer sıvısının (EVLW) artması kompliyansın düşmesine, dolayısı ile solunum işinin artmasına neden olur. Daha

ileri günlerde akciğer Tip 1 ve Tip 2 pnömositlerin ölümü ve apoptozisi sonucu alveolün doku bütünlüğü ve surfaktan yapımı bozularak hiyalin membran formasyonu gelişir<sup>6</sup>.

Subakut ya da proliferatif faz 5. günde başlar. Proliferatif anormal kollajen doku istilası söz konusudur. Devam eden hipoksemi, artmış ölü boşluk (> %70-80), düşmüş akciğer kompliyansı ile karakterizedir. İntertisyel fibrozis ve kapiller fonksiyonun bozulması eşlik eder. Bazı hastalarda değişiklikler çözülüp iyileşme gözlenirken, bazı hastalarda ise kronik veya fibrotik faza ilerleme olur (Bakınız Tablo 7). Bu faz yaygın pulmoner fibrozis ve akciğerlerin normal yapısının kaybına bu da akciğer kompliyansında kötüleşme ve ölü boşlukta artmaya neden olur. Bu faz genellikle 14. gün gibi erken dönemde başlayıp haftalarca sürebilir<sup>6,17</sup>.

**Tablo 5.** ARDS patogenezi<sup>10</sup>



ALVEOL-KAPİLLER BARIYER	Endotel hasarı (vasküler lümen)	Dolaşan inflamatuvar hücrelerin etkileşimlerinin değiştirilmesi Mikrovasküler permeabilite artışı
	Epitel hasarı (alveoler alan)	Tip 1 Bariyer hasarı permeabilitede artış, gaz değişimi bozulur Tip 2 Anormal sürfaktan, kollaps, pulmoner ödem, solunum işinin artışı, hipoksemi

**Tablo 6. Alveol-kapiller hasar<sup>10</sup>**

**Tablo 7. ARDS'nin patolojik evreleri<sup>10</sup>**

	<b>Eksudatif</b>	<b>Proliferatif</b>	<b>Fibrotik</b>
<b>Süre</b>	Ödem Erken < 1 hafta	Organizasyon (tamir) Ara dönem	Fibrozis Geç > 3 hafta
<b>Makroskobik</b>	Sert, katı, hemorajik	Konsolide, soluk gri	Süngerimsi, kistik, soluk
<b>Vasküler yapılar</b>	Endotel hasarı (ılımlı), konjesyon, nötrofil agregasyonu, minimal trombüs	Endotel hasarı, intimal proliferasyon, medial hipertrofi, trombüs	Endotel hasarı, distorsiyon, kompresyon, proliferasyon
<b>Alveoller</b>	Tip I pnömositlerde nekroz, inflamatuvar eksudasyon, hiyalin membranlar, Parsiyel kollaps	Tip II pnömositlerde proliferasyon, fibroblast invazyonu, fibronektin artışı, kollojen birikimi	Fibrozis, mikrokistler
<b>Bazal membran</b>	Soyulmuş	Fibroblast invazyonlu aralıklı yapı	Bozulmuş kesilmiş
<b>Alveolar duvar</b>	Ödem	Miyofibroblast proliferasyonu	Kalın kollajen
<b>Alvolar kanallar</b>	Dilate	Miyofibroblast proliferasyonu	Fibrozis
<b>İnterstisyum</b>	Volüm ↑, ödem	Volüm ↑↑, miyofibroblast proliferasyonu	Volüm ↑↑↑, fibrozis
<b>Plevra</b>	Subplevral iskemik değişiklikler	Subplevral nekroz	Subplevral nekroz

Akut solunum sıkıntısı sendromu yüksek morbidite, mortalite ve finansal bedelinden dolayı tedavisi konusunda birçok çalışma yapılmıştır<sup>11,24</sup>. ALI/ARDS tedavinin hedefi akciğer hasarını önleme, akciğer ödemi azaltma ve doku oksijenizasyonu sürdürmektir<sup>17</sup>. ARDS'de temel tedavi prensipleri şu şekilde sıralanabilir;

1. Yeterli doku oksijenizasyonunun sağlanması,
2. ARDS nedeninin bulunarak ortadan kaldırılması,
3. Hastaya metabolik destek sağlanması,
4. Medikal (farmakolojik) tedavi uygulanması,
5. Yoğun bakım desteğidir<sup>10,11</sup>.

Bu tedavilerin uygulanmasına rağmen, bazı ALI/ARDS hastaları ciddi hipoksemiye progrese olabilir ve ek olarak "kurtarma" tedavilere ihtiyaç duyulabilir. ARDS'de tedavi non-farmakolojik ve farmakolojik olarak ikiye ayrılmaktadır.

### **Non-Farmakolojik Tedavi**

Hipoksik hastalar için başlangıç destek tedavisi, ilave oksijen verilmesidir. Eğer maske ile oksijen vererek uygun oksijenizasyon devam ettirilemezse veya hasta solunum sıkıntısı yaşamaya devam ederse mekanik ventilasyon (MV) hayat kurtarıcıdır<sup>6,17</sup>.

### **Mekanik Ventilasyon Tedavisi**

Akut solunum sıkıntısı sendromunda doku oksijenizasyonunun artırılmasında en önemli nokta hastaya optimum oksijen tedavisi ve mekanik ventilasyon (MV) desteği uygulamaktır<sup>10,25</sup>. ARDS'li olgularda MV'nin amacı yeterli ve istenilen konsantrasyonda oksijen verilebilmesi, PaO<sub>2</sub>'nin %60'ın üzerinde olmasını sağlama, solunum işinin ve solunum kaslarının oksijen tüketiminin azaltılması, kardiyak output ve doku oksijenizasyonunu çok fazla etkilemeden kalbe venöz dönüşün azaltılmasıyla akciğer ödeminin bir miktar indirgenmesi, atelektatik akciğer alanlarının açılarak havalanmasının sağlanması (recruitment) ve yeterli PEEP düzeyleri ile bunların ekspiryumda kapanmalarının önlenmesidir (derecruitment)<sup>10,26,27</sup>. Bu tedavi yönteminin faydaları olduğu gibi

komplasyonları da vardır. Bunlar klasik olarak yüksek volümden (volotravma) veya yüksek basınçtan (barotravma) kaynaklanan pnömotoraks, bronko-alveoler fistül gibi makroskopik komplasyonlardır<sup>9,25</sup>. ARDS'de volüm yüklenimi ve barotravmadan korunmak amacıyla düşük tidal volüm ventilasyonunun yararı artık tartışmasız olarak kabul görmektedir<sup>9,27,28</sup>. Bu güne kadar sağ kalıma katkısı olduğu gösterilen tek girişim akciğer koruyucu düşük tidal mekanik ventilasyondur. Tidal volümün 6-8 mL/kg'ın altında tutulmasına riayet edilmelidir<sup>8,14,27,29</sup>.

Akut solunum sıkıntısı sendromu network'un 861 hastasında yaptığı çok merkezli randomize kontrollü bir çalışmada 6 mL/kg tidal volüm ile 12 mL/kg tidal volüm karşılaştırılmış ve düşük tidal volüm grubunda mortalitenin anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca düşük tidal volüm grubundaki hastalarda ventilatörden ayrı olunan ve akciğer dışı organ yetmezliği olan gün sayısı daha fazladır. Hatta bu strateji ALI ilişkili inflamatuvar yanıtı (IL-6 ve IL-8) bile azaltmıştır<sup>12</sup>.

Ancak, çok merkezli başka bir çalışmada, düşük tidal volüm uygulanan ve plato basıncı 30 cmH<sub>2</sub>O'nun altında tutulan 549 ARDS'li hastada düşük (ortalama 8 cmH<sub>2</sub>O) ya da yüksek (ortalama 13 cmH<sub>2</sub>O) PEEP uygulanmasının mortaliteyi etkilemediği saptanmıştır<sup>30</sup>.

İlk defa 1990 yılında Hickling ve arkadaşları düşük tidal volüm, basınç sınırlı ventilasyon ve permisif hiperkapniyi uygulayarak "lung protective ventilation" modelini yayınladılar<sup>31</sup>. Permisif hiperkapnide PCO<sub>2</sub> < 100 mmHg, ph > 7,2'ye kadar müsaade edilir. Permisif hiperkapni kontrendikasyonları yüksek kafa içi basıncı, ciddi pulmoner hipertansiyon ve konvülsiyondur. 1995 Amato ve ark. alternatif "lung protective" model geliştirmişler ve bunu "open lung" modeli olarak adlandırmışlardır. Open lung modelinde çok kısa süreli yüksek basınç uygulayarak akciğer açılması sağlanırken hemen sonrasında volütravmadan korunma amacıyla düşük tidal volüm uygulanırken, akciğer açıklığının devam ettirilmesi için de yüksek PEEP uygulanır<sup>32</sup>.

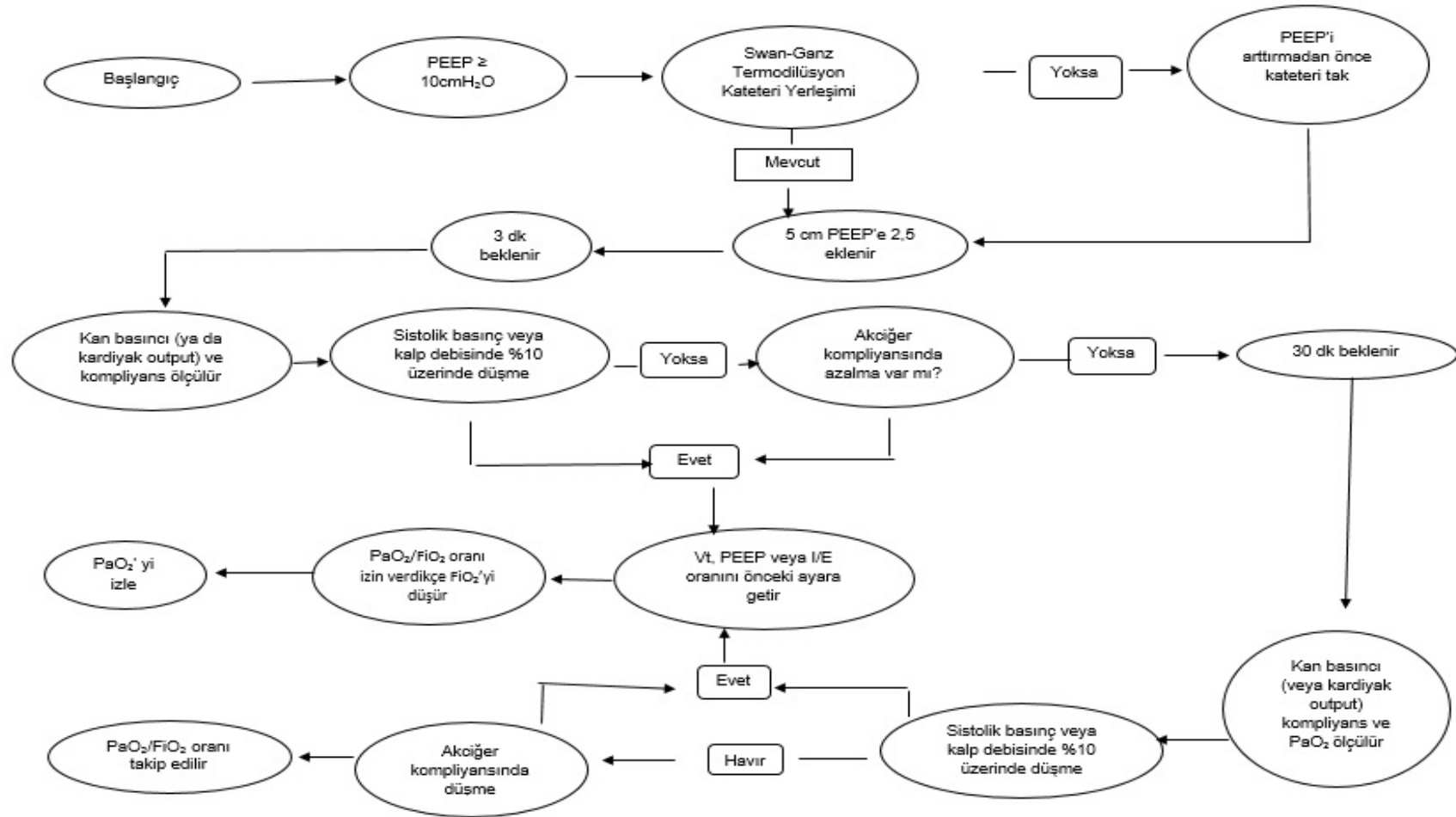
Dreyfuss ve arkadaşları, MV'a bağlı gelişen ARDS'den ilk bahsedenler olmuşlardır. Ventilatör ilişkili akciğer hasarı (Ventilator Induced/Associated Lung Injury, VILI) olarak tanımlanan bu komplasyonun, yüksek tidal volüm (Vt) ile

ventile olan hastalarda daha sıklıkla meydana geldiği ve mortaliteyi yükselttiği saptanmıştır<sup>33</sup>. Yüksek tidal volüme bağlı olarak, alveol ve kapiller yüzeylerinin mekanik strese maruz kalmaları sonucu yırtılmaların meydana geldiği ve beraberinde inflamatuvar yanıtın geliştiği düşünülmüştür<sup>34</sup>.

Alveolleri açmanın ve oksijenizasyonu iyileştirmenin standart yöntemi PEEP arttırılmasıdır<sup>35</sup>. PEEP'in oksijenizasyonu düzeltme mekanizmaları ise ekspiryum sonunda akciğerlerin volümünü arttırmak, atelektatik alveolleri açmak, atelektatik alveollerin perfüzyonunu azaltmak, ventilasyon/perfüzyon (V/Q) oranını düzeltmek, intrapulmoner şanti azaltmaktır. Bunların sonucunda PEEP ile fonksiyonel rezidüel kapasite artacak, atelektazi engellenecek, alveoldeki ödem sıvısının interstisyel alana geçişi sağlanacak ve sürfaktan aktivitesinin artması gibi pozitif etkiler ortaya çıkacaktır<sup>36</sup>. PEEP tedavisinin birincil amacı oksijenizasyonu sürdürürken FiO<sub>2</sub>'yi azaltmaktır. Eğer FiO<sub>2</sub> %40 ve altında ise PEEP genellikle gereksizdir. PEEP'in ARDS akciğerinde ortaya çıkan etkisi atelektatik akciğerleri açmaktan çok, açık olan alveolleri açık tutmaya devam etmektir (Bakınız Tablo 8). PEEP tedavisinin taşıdığı başlıca riskler ise kardiyak outputu düşürmesi, oksijen sunumunda azalma oluşturması ve barotravma meydana getirebilmesidir<sup>8,28</sup>.

Birçok çalışmada nöromüsküler blokerler (NMB) ile ARDS hastalarında oksijenizasyonda bir artış olduğu gösterilmiştir. NMB'ler ayrıca akciğer koruyucu MV stratejisinin barotavmayı azaltıcı etkisine katkı yapmaktadır<sup>37</sup>.





Vt: Tidal Volüm, İ/E: İnsipiryum/Eksipiryum oranı, PaO<sub>2</sub>: Arteriyel oksijen basıncı, FiO<sub>2</sub>: Havadaki fraksiyone Oksijen

**Tablo 8.** Pozitif end-ekspiratuar basınç (PEEP) uygulamasındaki diagramı

## **“Prone” Pozisyon (Yüzüstü Pozisyon)**

İlk olarak 1994 yılında hastayı sırtüstü yerine yüzüstü yatırarak uygulanan solutma yöntemidir<sup>38</sup>. ARDS’de oksijenizasyonu arttırmak için uygulanır<sup>9</sup>. Hastaya yüzükoyun pozisyonda mekanik ventilasyon tedavisi uygulanır<sup>10</sup>. Kalbin toraks içinde yer değişimini sağlayarak ventilasyon-perfüzyon oranını düzenler. Arteriyel oksijenizasyonu iyileştirmesine rağmen, mortalite oranında anlamlı bir azalmaya neden olmamıştır<sup>15</sup>. Prone pozisyona yanıt ARDS’nin erken dönemlerinde ve sekonder ARDS’de daha iyidir<sup>8</sup>.

Prone pozisyonunun etki mekanizması olarak<sup>28,39</sup>;

- 1- Fonksiyonel respiratuar kapasiteyi arttırması,
- 2- Perfüzyon dağılımını değiştirmesi,
- 3- Postural drenaj sağlaması,
- 4 - Diyaframın hareketli bölgesini değiştirmesi,
- 5 - Lenfatik akımı düzeltmesi kabul edilir.

Stocker ve ark.’nın ARDS olguları serisinde “prone” pozisyonu uygulanan hastaların mortalitesinin %12’ye dek gerilediği bildirilmiştir<sup>40</sup>.

Prone pozisyonu ekip gerektiren güç bir yöntemdir. Hemodinamik durumu stabil olmayan kişilere uygulanamaz. Multipl travma, şok, gebelik, abdominal cerrahi, intrakranial basınç artışı gibi durumlarda uygulanması kontrendikedir. Endotrakeal tüp veya vasküler kateterin yerinden çıkması, diyaframa hareketlerinde kısıtlılık, fasiyal kompresyon, retina hasarı, venöz staz gibi komplikasyonlara da yol açmakta ve yüzüstü pozisyondaki hastanın bakımıyla ilgili zorluklar yaşanmaktadır<sup>8,41</sup>.

## **Ekstrakorporeal Yaşam Desteği (ECLS)**

İlk olarak Hill ve ark. tarafından 1972’de tarif edilmiştir. Amaç Akciğerin istirahate alınarak toparlanma süresince oksijen alımının membran oksijenasyonu ile sağlamaktır<sup>6,42</sup>.

Bu uygulamanın gerçekleştirilmesi için iki ayrı teknik tarif edilmiştir<sup>6</sup>.

1-Ekstrakorporeal membran oksijenasyonu (ECMO): Akciğerler yetmezliğe girdiğinde ve dokuların oksijenizasyonunu yeterli ölçüde sağlayamadığında kullanılan yaşam desteği sunan bir tekniktir. ECMO sadece akut solunum yetmezliği, yeni doğanlarda etkili olduğu gösterilmiştir<sup>43</sup>. Burada amaç oksijenizasyonu arttırmaktır<sup>10</sup>. Yapılan gelişmelerde erişkinlerde de avantajları saptanmıştır<sup>43</sup>.

2- Ekstrakorporeal CO<sub>2</sub> removal ( ECCO<sub>2</sub>R): Düşük akımlı veno-venöz bypass kullanarak oksijenizasyon yanında CO<sub>2</sub> de atılımı sağlanır. Yapılan iki çalışmada ağır ARDS'de yaşam oranını %46-66 olarak belirtilmiştir. Buna karşılık ECMO uygulanarak yapılan iki prospektif, randomize çalışma kontrol grubuna kıyasla klinik sonuçlarda herhangi bir fark olmadığını göstermiştir<sup>6,8</sup>.

Her iki yöntem de konvansiyonel tedavinin başarısız olduğu durumlarda alternatif olarak uygulanabilir, ancak henüz çalışmalar sınırlı olup rutin tedavide yer almamaktadır<sup>10</sup>.

### **Parsiyel ve Total Likit Ventilasyonu**

Akut solunum sıkıntısı sendromunda uygulanan yeni bir tedavi rejimidir. Akciğerler renksiz, gaz alışverişini sağlayan bir madde olan perflorokarbon ile doldurularak mekanik ventilasyon uygulanır<sup>10</sup>. Perfluorokarbon (PFC) renksiz ve inert olup, oksijen taşıyabilen, düşük yüzey gerilimli bir sıvıdır. Bu madde ağır ARDS olgularında parsiyel ya da total olmak üzere iki farklı teknikle uygulanabilir<sup>6,44</sup>.

Parsiyel likit ventilasyonunda (LV) akciğerler tidal volüm kadar PFC ile doldurulur ve hasta konvansiyonel mekanik ventilatörlerle havalandırılır. Total LV'de ise akciğerler tamamen PFC ile doldurulur ve hasta özel mekanik ventilatörle havalandırılır<sup>44</sup>. Alveoler debris ve sekestrasyonlar sıvı tarafından sekestre edilerek kolaylıkla temizlenir. Visköz karakterdeki bu sıvı aynı zamanda alveolleri açık tutarak kollabe olmasını önler<sup>45</sup>.

Yapılan çalışmada fizyolojik şantın azaldığı, statik akciğer kompliyansının düzeldiği gösterilmiştir<sup>6</sup>. Ayrıca yüzeyler arası gerilimin azaltılması sıvının sürfaktan benzeri etkisi sayesinde olmakta ve alveoler kollapsı önlemede bu

özelliği de etkin rol oynamaktadır<sup>8</sup>. Bu yöntemin avantajı volüt travma, diffüz alveoler hasar riskinin düşük olmasıdır<sup>10</sup>.

Bu uygulamanın en önemli dezavantajı ise sıkça görülen yoğun ve yapışkan karakterdeki sekresyonlara sekonder gelişen hava yolu tıkanıklıklarıdır. Bu tıkaçların elimine edilmesinde esas olan acil bronkoskopi şartlarının bulunmadığı durumlarda uygulanmaması ilkesine uyulmalıdır<sup>8</sup>.

## **Farmakolojik Tedavi**

### **Kortikosteroid Tedavisi**

1970'li yıllarda ve 1980'li yılların başlarında steroid tedavisi sıkça uygulanırken, 1980'li yılların sonlarında ARDS'nin erken döneminde etkili olmadığı gösterilmiştir<sup>46</sup>. Kortikosteroidlerle yapılan çalışmalarda ARDS'nin erken fazında kullanılmasının minimal veya hiç bir yarar sağlamadığı yönünde, buna karşılık geç fazda (başlangıçtan 5-10 gün sonra) yani proliferatif fazda kullanılmasıyla sitokin aktivasyonunu inhibe eden, proinflamatuvar sitokinlerin yapımını artırarak morbitideyi azalttığı gösterilmiştir<sup>47</sup>.

Meduri ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada ise erken ciddi ARDS'li hastalara daha düşük dozda metilprednizolon ile tedaviye başlanmasının sistemik inflamasyonu baskıladığı, pulmoner ve ekstrapulmoner organ disfonksiyonunu ve mekanik ventilasyon süresi ile yoğun bakım kalış sürelerini azalttığı bildirilmiştir<sup>48</sup>. İlk 72 saat içerisinde hastalara 1 mg/kg/gün steroid verilmesi ve tedavinin 28 gün süre ile sürdürülmesi önerilmektedir. Erken steroid tedavisi yoğun bakım mortalitesini anlamlı düzeyde düşürmekte, hastane mortalitesindeki düşüş ise anlamlılık sınırına yaklaşmaktadır. Bu çalışmada da enfeksiyon hızında artış gösterilmemiştir<sup>7</sup>.

Kortikosteroidlerin ARDS'de kullanımının planlanması öncesinde kan, idrar, balgam ve bronkoalveoler lavaj kültürlerinin negatif olduğu belgelenmeli ya da gizli bir enfeksiyon olasılığının dışlanması gerekmektedir<sup>8</sup>.

### **İnhale Nitrik Oksit Tedavisi**

Nitrik oksit (NO) akciğerlerde L-arjininden NO sentetaz aracılığı ile doğal olarak sentezlenmektedir<sup>7</sup>. NO akciğerin iyi ventile olan segmentlerine selektif olarak dağılarak şant fraksiyonunu ve pulmoner ödemi azaltarak lokal

vazodilatasyon oluşumuyla oksijenizasyonun artmasını sağlar<sup>49</sup>. İn hale vazodilatatörler kullanımı ile ortalama pulmoner arter basıncı düşürülür ve pulmoner vazokonstrüksiyona bağlı gelişen hipoksemi düzeltilir<sup>10</sup>. İn hale NO hemoglobin tarafından hemen bağlanarak inaktive olduğu için sistemik etkisi görülmez<sup>6</sup>. NO inhalasyonunda NO<sub>2</sub> ve methemoglobin gibi toksik metabolitlerin artma riski olduğu için hastalar monitörize edilmelidir<sup>10,49</sup>.

Erişkin hasta grubunda ise oksijenasyonun iyileşmesi ve pulmoner arter basıncın düşürülmesi için gereken NO dozlarının değişiklik gösterebileceği, ancak çok yüksek NO dozlarının da oksijenasyonu bozabildiği bildirilmiştir<sup>7</sup>.

Bu uygulamanın da bazı dezavantajları bulunmaktadır. Sürekli uygulamaya hastanın transportu nedeniyle ara verildiğinde yaşamı tehdit eden hipoksi ya da sağ kalp yetmezliği gelişebilmektedir<sup>49</sup>.

### **Sürfaktan Tedavisi**

Sürfaktan yüzey gerilimini azaltan ve alveoler kollapsı engelleyen, esas olarak tip 2 alveol hücreleri tarafından salgılanan bir lipoprotein kompleksidir. Ayrıca, antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleri de vardır<sup>50</sup>. ARDS'de hem üretimi azalmıştır, hem de mevcut sürfaktan inaktive olmaktadır. Ayrıca az miktarda üretilmekte olan sürfaktanın da disfonksiyonel olduğu bilinmektedir. Bu bilgilerden yola çıkılarak ARDS'de sürfaktan tedavisinin yararlı olabileceği düşünülmüş ve sürfaktan replasman tedavisi uygulanmıştır<sup>7</sup>. Nebülizator, bronkoskopi gibi farklı yöntemlerle hastalara ekzojen sürfaktan replasmanı yapılmıştır. Ancak kısa sürede serum proteinleri ve oksidanlar tarafından inaktive edildiği için yüksek dozda ve sürekli kullanılması gerekmektedir<sup>10</sup>.

Bir küçük çalışmada, kardiyak cerrahi sonrası ARDS gelişen hastalarda erken dönemde intrabronşiyal sürfaktan verilmesinin oksijenasyonu düzelttiği ve mortaliteyi belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir<sup>51</sup>. Bir başka çalışmada çeşitli nedenlere bağlı ARDS'si olan 448 hastanın bir kısmına standart tedavinin yanı sıra 24 saat süreyle sürfaktan verilmiştir. Çalışma sonuçlarında bu 24 saat içerisinde oksijenizasyonda düzelme olmakla beraber mortalite ve mekanik ventilatör bağımlılığı üzerine herhangi bir etki gösterilememiştir<sup>52</sup>.

Oksijenizasyon ve sağ kalım üzerine pozitif etkisini savunan çalışmalar olsa da, bugun için ARDS'nin rutin tedavisinde sürfaktanın yeri yoktur<sup>10</sup>.

### **Antioksidan Tedavi**

Antioksidan maddelerin ARDS'nin önlenmesinde ve oluşan akciğer hasarının şiddetinin azaltılmasında etkili oldukları gösterilmiştir<sup>10</sup>. N-asetilsistein ve prosistein akciğerlerde ve eritrositlerde glutasyon düzeyini yükseltmeleri nedeniyle faydalı olabileceği düşünölen ajanlardır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada mortalite üzerine belirgin etkileri gösterilememiş olsa da glutasyon düzeylerini yükselttikleri ve oksijenasyonu olumlu etkiledikleri bildirilmektedir<sup>7</sup>. Bugun için rutin tedavide uygulanılmamaktadır<sup>10</sup>.

### **$\beta$ 2-adrenerjik Agonistler**

$\beta$ -adrenerjik reseptör agonistler, apikal Na kanalları ve bazolateral membrandaki Na-K-ATPaz pompalarından aktif Na transportunu sağlayarak, ödem sıvısı klerensini artırmaktadır. Ayrıca vasküler yatağın geçirgenliğini azaltırlar. Sürfaktan sentezini artırdıkları ve bazı antiinflamatuvar etkileri olduğu düşünölmektedir. ARDS'li hastalarda da solunum sistemi direncini, hava yolu ve alveoler basınçları düşürdükleri, bu nedenle de barotravma ve alveoler hasar riskini azaltabilecekleri gösterilmiştir. Kritik hastalarda gösterilmiş ciddi yan etkileri yoktur. Bu nedenlerle  $\beta$ 2-adrenerjik reseptör agonistlerinin ARDS tedavisinde kullanımının faydalı olabileceği düşünölmektedir. Ancak mortalite üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışma yoktur<sup>7</sup>.

### **3-Hidroksi-3-Metil-Glutaril Koenzim A (HMGCoA) Redüktaz İnhibitörleri**

HMG-CoA redüktaz inhibitörleri güçlü kan kolesterol ve lipid düzeylerini düşürücü etkileri olan ajanlardır. Ancak yapılan çalışmalarda aterosklerozda mortaliteyi azaltıcı etkilerinin, sadece lipid düzeylerini düşürücü etkileri ile açıklanamayacak boyutta olduğu gözlenmiştir. Yapılan incelemelerde bu ajanların antiinflamatuvar, immünmodülatuar, endotel disfonksiyonunu düzeltici ve ayrıca prokoagölan aktivite ve trombosit fonksiyonları üzerine etkileri de olduğu gösterilmiştir<sup>7</sup>.

## **Hemodinamik Destek Tedavisi, Sıvı Rejimi ve Beslenme**

Akut solunum sıkıntısı sendromunda hastalar yoğun bakım ünitesinde takip edilir ve yoğun bakım ünitesinde takip sırasında hastalarda birtakım komplikasyonlar ortaya çıkabilir<sup>10</sup>. Hastaların organ fonksiyonlarını en iyi düzeyde koruyabilmek için diğer yoğun bakım hastalarında olduğu gibi gereken destek tedaviler planlanmalıdır. Bu hastalarda sıvı tedavisi dikkatli planlanmalıdır<sup>7</sup>. Her ne kadar sıvı kısıtlaması ve akciğer ödeminin azaltılarak oksijenizasyonun düzeltilmesinin ARDS'li olgularda yararlı olduğu gösterilmişse de sıvı kısıtlamasının kardiyak outputu düşürdüğü ve organların perfüzyonu ile oksijenizasyonunu azalttığını bilinmektedir<sup>53</sup>.

Yapılmış olan çalışmalarda sıvı kısıtlamasının ve diüretik kullanımının oksijenasyon ve mekanik ventilatör süresi üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir. Bir çalışmanın sonucunda, hypoalbuminemik ARDS'li hastalara albümin ile furosemid verilmesinin oksijenasyonu ve organ yetmezliği gelişimini olumlu yönde etkilediği, hemodinamik stabilitenin daha kolay sağlandığı bildirilmiştir. Ancak bu esnada ekstrapulmoner organların perfüzyonlarının korunduğundan emin olunmalıdır<sup>54</sup>.

Akut solunum sıkıntısı sendromlu olgularda herhangi bir kontrendikasyon mevcut değilse enteral beslenme tercih edilmelidir<sup>8,10</sup>. İmmün nütrisyon, inflamatuvar mediatörlerin salınımında modifikasyon sağlayarak inflamatuvar hasarın önlenmeye çalışılması için kullanılan bir yöntemdir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş beslenme ile akciğerlerdeki inflamasyonun daha az olduğu görülmüştür<sup>55</sup>.

Gadek ve ark.'nın yaptığı çalışmada da balık yağı, gama-linolenik asit ve antioksidanlardan zengin bir solüsyonla hastalarda oksijenizasyonun düzelerek, mekanik ventilatör desteği süresini azalttığı ve multiorgan yetmezlik insidansında dahi düşme yarattığının gösterilmesine karşın mortalite oranına etkmediği saptanmıştır<sup>56</sup>.

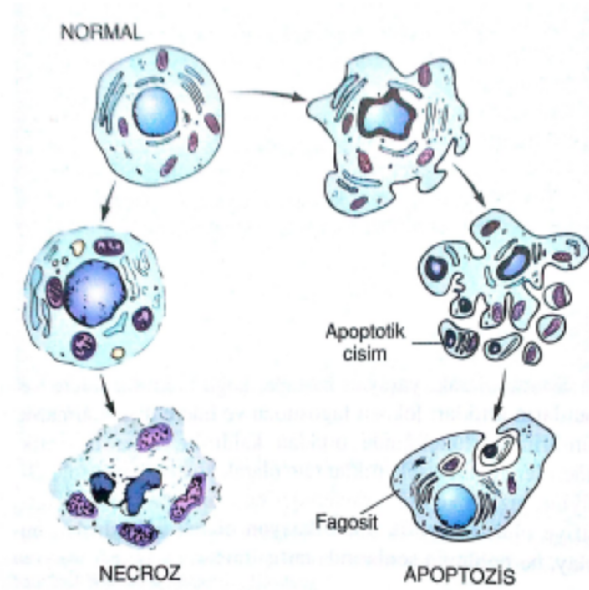
## **ALI/ARDS'de Gen Tedavisi**

Akciğer hasarı sonrası epitelyal hasar tip 1 ve tip 2 alveoler hücrelerde apoptozis ve nekroz ile karakterizedir. Epitelyal hasar artmış permeabilite ile ilişkili alveoler ödem formasyonuna, hava boşluklarının nötrofillerce

infiltrasyonuna neden olur. Akut eksudatif faz sonrasında ödemin temizlenmesi ve tip 1 alveoler epitelyal hücrelerin tip 2'ye diferansiyasyonu akciğer hasarının rezolüsyonuna yol açar. Anormal doku onarımı, doku hasarının ciddiyetine göre ekstrasellüler matriks depozisyonu ve fibroze yol açar. Akut eksudatif fazda ventilasyon- perfüzyon uyumsuzluğuna alveoler sıvı artışı ve tam olmayan klerensi neden olur ve ARDS hastasında hipoksiye neden olur. Bu akciğeri kuru tutmak için birçok çalışma yapılmasına neden olmuştur<sup>15</sup>.

## Apoptozis

Organizma sürekli bir denge içindedir. Yeni hücreler sentez edilirken, var olan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün apoptozis ve nekroz olmak üzere iki tipi vardır (Bakınız Şekil1). Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu hücre ölümü meydana gelir<sup>57</sup>.

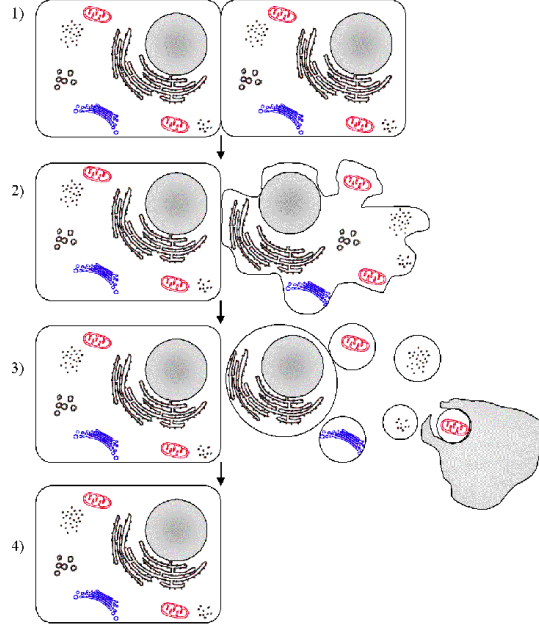


**Şekil 1.** Hücre ölümü tipleri

Apoptozis Eski Yunanca' da "ayrı düşme" anlamına gelen, programlı hücre ölümüdür<sup>57,59-61</sup>. Çoğunlukla apoptozis, hücre intiharı ile aynı anlama gelir<sup>62</sup>. Apoptozis hücre proliferasyonu ile ölümü arasındaki dengeyi düzenleyen hücre ölümünün senkronize ve selektif bir türüdür<sup>60,63</sup>. Hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı olarak ölümüdür<sup>64</sup> (Bakınız Şekil 2). Hücre proliferasyonu



nasıl mitozla belirlenmekte ise belirli bir dokuda olması gereken hücre sayısı da apoptozis ile belirlenmektedir. Apoptozis ve mitoz dokularda sürekli bir denge halindedir<sup>57</sup>.



**Şekil 2.** Apoptozis

Nekrozda ise hücre şişer, organeller çözünür, plazma membranı yırtılır. Sitoplazma materyal hücre dışına geçerek inflamasyona neden olur. Apoptozis sırasında ise plazma membranı yırtılır. Apoptozisin oluşması için yüksek ATP düzeylerine ihtiyaç vardır. Hücredeki ATP miktarı hücre ölümünün nekroz ile mi apoptozis ile mi gelişeceğini belirler. Eğer hücre ciddi olarak yaralanırsa apoptozis için gerekli ATP'yi sağlayamayacak ve nekroz yoluna gidecektir<sup>57</sup>. Apoptozis ve nekroz arasındaki farklılıklar Tablo 9'da verilmiştir.

Işık mikroskopunun ve yeni boya tekniklerinin keşfiyle 1920 yılında hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler ortaya çıkmış ve ilk olarak nekroz tanımlanmıştır<sup>64</sup>. Programlanmış hücre ölümü terim olarak ilk kez 1965 yılında kullanılmıştır.

Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Kerr, ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçaları gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır.

**Tablo 9.** Apoptozis ve nekroz arasındaki farklılıklar

<b>Özellikler</b>	<b>Apoptozis</b>	<b>Nekroz</b>
<i>Stimulus</i>	Fizyolojik	Patolojik (hasar)
<i>Oluşumu</i>	Tek tek hücrelerde	Hücre gruplarında
<i>Geriye dönüş</i>	Olmaz	Olabilir
<i>Nedenler</i>	Fizyolojik / Patolojik	Her zaman patolojik
<i>ATP gereksinimi</i>	Vardır	Yoktur
<i>Hücreler arasında ve bazal membrana olan adezyonlar</i>	Erken dönemde kaybolur	Geç dönemde kaybolur
<i>Sitoplazmik organeller</i>	Geç dönemde şişer	Erken dönemde şişer
<i>Lizozomal enzim salınımı</i>	Yoktur	Vardır
<i>Nükleus</i>	Parçalanır (karyoreksis)	Ortadan kaybolur (karyolizis)
<i>Nüklear kromatin</i>	Birbirine benzeyen yoğun kitleler halinde bir araya toplanır	Sınırları belirsiz bir şekilde kümelenir
<i>DNA parçalanması</i>	İnternükleozomal	Rastgele
<i>Hücre</i>	Apoptotik cisimler oluşturur	Şişer ve geç dönemde parçalanır
<i>Diğer hücreler tarafından fagositoz</i>	Vardır	Yoktur
<i>Eksudatif inflamasyon</i>	Yoktur	Vardır
<i>Mekanizma</i>	Makromolekül sentezini gerektiren aktif hücresel yıkım	Kimyasal ya da yapısal parçalanma
<i>Skar oluşumu</i>	Yoktur	Vardır

Cohen 1993 yılında yaptığı çalışmada yüksek doz steroid uygulanması sonrası timüs hücrelerinin direk apoptozisi seçmediğini, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturarak hücreleri apoptozise yönlendirdiğini bildirmiştir. Böylece apoptozisin genler tarafından düzenlenen bir hücre ölüm şekli olduğu gösterilmiştir<sup>57</sup>.

Apoptozis, hücre ölümüne giden moleküler olaylar serisinin aktivasyonunu da içeren regüle bir süreçtir<sup>65</sup>. Apoptozis, birçok sağlıklı erişkin dokuda hücre

döngüsünde rol alır ve normal gelişimde hücrelerin fokal eliminasyonundan sorumludur<sup>66</sup>. Normal dokularda homeostazın sağlanması ve immün sistemin gelişimde pivot rol oynar, küçük bir doku hasarı ile birçok hücre temizlenebilir<sup>66,67</sup>. Apoptozisin başarısız olması durumunda genellikle malignensilerin gelişeceği düşünülmektedir ve apoptozisin indüklenmesi kanser tedavisi için ilgi gören bir durumdur<sup>60,67</sup>.

Apoptozis birçok önemli fizyolojik ve patolojik olayda programlanmış hücre ölümünden sorumludur:

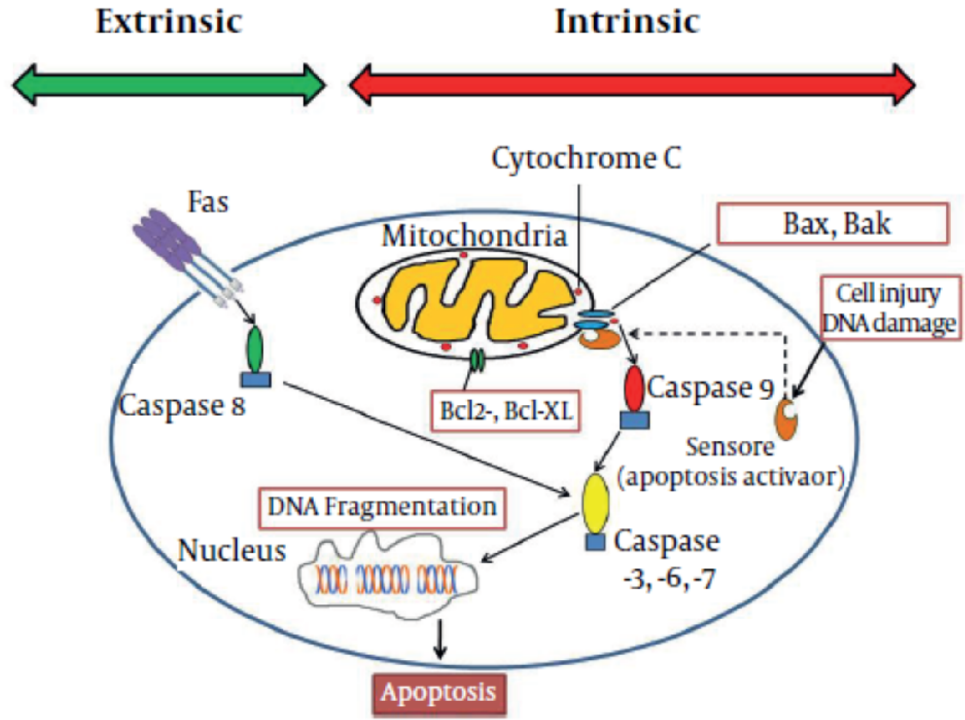
1. İmplantasyon, organogenezis ve embriyogenezis süresinde hücrelerin planlanmış yıkımı
2. Menstrüel siklus süresinde endometriyumda veya süttten kestikten sonra memede olduğu gibi hormona bağımlı fizyolojik involüsyonlar ya da kastrasyondan sonra prostatta olduğu gibi patolojik atrofi
3. Barsak hücre kriptleri gibi hızlı çoğalan hücrelerde hücre deseslerasyonları veya tümörlerde hücre ölümü
4. Timusta otoreaktif T hücre delesyonları, sitokinden yoksun lenfositlerin hücre ölümü veya sitotoksik T hücreler tarafından oluşturulan hücre ölümüdür<sup>61</sup>.

Apoptozisin kanıtlanmış 2 yolu vardır (Şekil 3). Ölüm reseptörü yolu (ekstrinsik yol) ve mitokondriyal yol (intrinsik yol). Her 2 yolda aynı efektör kaspazlar ve apoptozis efektör molekülleri aktive ederler. Her 2 yolda aynı (strese uğrayan hücrelerin eliminasyonu) sonuçla bitse de, oluşum mekanizmaları farklıdır<sup>65,67,68</sup>.

Ekstrinsik yol ölüm reseptörlerinde intrasellüler sinyal komplekslerinin oluşmasını sağlayan eksternal sinyallerle sağlanır. Bu tip apoptozis tipik olarak immün yanıtlarda aktive olur.

İkinci yol intrinsik yoldur ve bu ultraviyole ışınlar, gamma radyasyon veya kemoterapötik ajanlarla DNA hasarı oluşması ve büyüme hormon eksikliği gibi birçok farklı sinyal ile aktive olur<sup>67</sup>. Mitokondriyal (intrinsik) yol esas olarak proapoptotik proteinler (Bax ve Bid gibi) ve anti-apoptotik proteinler (Bcl-2 ve Bcl-xL gibi) proteinlerin dengesi ile regüle edilir<sup>65</sup>. Apoptozis sitoplazma ve nükleusun

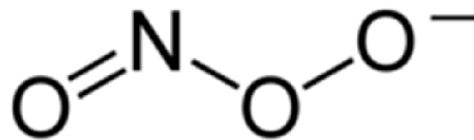
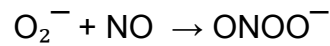
yoğunlaşması ile birlikte DNA' nın parçalanmasına yol açar. Son basamakta bu fragmente apoptotik cisimler inflamasyon oluşmadan fagosite edilirler<sup>59,69</sup>.



**Şekil 3.** Apoptozis yollarının şematik gösterimi

### Peroksinitrit

Peroksinitrit, formülü  $\text{ONOO}^-$  olan bir anyondur<sup>70</sup> (Bakınız Şekil 4). Birçok hastalıkta hücre ölümü ve doku hasarı ile ilişkili olan ve her ikisi de serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile süperoksit anyonlarının reaksiyonundan oluşan yüksek reaktif bir oksidandır<sup>70,71,72</sup>.



**Şekil 4.** Peroksinitrit anyonunun yapısı

Bu normal bireylerde in vivo oluşan bir durumdur. Fizyolojik koşullarda peroksinitrit üretimi düşüktür ve oksidatif hasar oluşumu endojen antioksidan

savunmalarla minimize edilmiştir<sup>72,73</sup>. Düşük miktarlarda hasara neden olmaz iken, yüksek miktarlarda doku hasarına neden olabilir<sup>72</sup>. Nitrik oksit ve süperoksitin arttığı patolojik durumlarda peroksinitrit üretimi de artacaktır. Nitrik oksit ve süperoksitteki 10 kat artış peroksinitritte yaklaşık 100 kat artışa neden olmaktadır<sup>73</sup>. Her ikisi de serbest radikaller olmasına rağmen peroksinitrit her iki ana molekülünden daha reaktif ve sitotoksiktir<sup>71,73</sup>. İnflamatuar hücreler, özellikle makrofajlar her iki ana molekülünün de kaynağı olmasından dolayı peroksinitrit oluşumuna katkıda bulunurlar<sup>73</sup>. İnflamatuar olayların değişik patofizyolojik süreçlerinde nitrik oksit aşırı salınımı gözlenir. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ile üretilen fazla miktarda nitrik oksit süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek bu toksik maddenin aşırı üretimini sağlarlar. Birçok çalışmada bu oluşan peroksinitritin nitrik oksitin aşırı sentezinin istenmeyen etkilerinden sorumlu olduğu bildirilmiştir<sup>74</sup>. Peroksinitrit; astım, mesleki akciğer hastalıkları, sürfaktan hasarı, sigara içimine bağlı akciğer hastalıkları ve ARDS gibi akciğer hastalıklarının da patogenezinde rol oynamaktadır<sup>72</sup>.

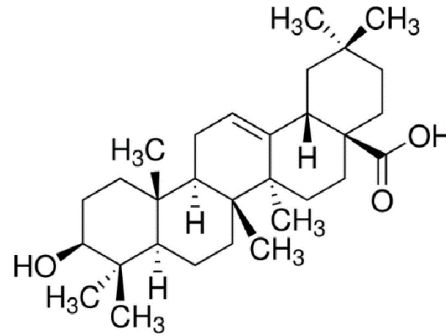
Peroksinitrit, yüksek reaktif anyon olması sayesinde lipidler ve proteinler gibi hücre komponentleri ile kolayca reaksiyona girebilir ve oksidan etkisi ile hücrelerdeki birçok molekülü (DNA, lipidler, proteinler, vb.) okside ederek hasar verebilir<sup>70,72,75</sup>. Bu reaksiyonlar bozulmuş hücre fonksiyonları ve bozulmuş hücre balansına neden olur<sup>72</sup>. Peroksinitritin yarı ömrünün kısa (yaklaşık 10 - 20 ms) olmasına rağmen bu süre 1 – 2 hücre çapı kadar biyolojik membranları geçmesi için yeterlidir. Peroksinitrit bağımlı sitotoksitenin büyük kısmı membranlarda lipid peroksidasyonu yapmasına bağlıdır<sup>73</sup>. Membran lipidlerinin, doku sülfidrillerinin oksidasyonu dokuların membran sodyum kanallarında hasara yol açar<sup>72</sup>. Peroksinitritin oksidatif hasarı hücre membranı ile sınırlı kalmaz. Peroksinitrit DNA' daki guanin rezidülerini okside ederek nitroguanine çevirir ve böylece DNA hızlıca depürine olur. Bunun sonucunda poli ADP riboziltransferaz aktive olur ve makrofajlar, nöronlar ve düz kas hücresinde tamir siklusunu başlatır. Bunu hücre enerjisinin tükenmesi ve hücre ölümü izler. Peroksinitrit birçok proteini de nitratlayarak fizyolojik hücre fonksiyonları bozar ve hücreyi apoptozise sürükler<sup>76</sup>. Aynı zamanda peroksinitritin mitokondriyal kalsiyum aşırı yüklenmesi ve hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir<sup>72</sup>. Peroksinitrit ile hücre

hasarı bir kez başlayıp tamir olasılığı yok ise hücrede 2 farklı ölüm tipini (apoptozis ve nekroz) ve doku hasarını tetikler<sup>71,73</sup>.

Peroksinitritin inflamatuvar kaskadın parçası olması gibi, peroksinitrit uygulanmasının kendisi de ayrıca bir inflamatuvar yanıtı tetikleyebilir<sup>72</sup>. Yapılan deneysel çalışmalarda peroksinitritin intratrakeal uygulanmasının ciddi solunum yolu epiteli ve düz kası hücre hasarı yaptığı gösterilmiştir<sup>72,77</sup>. Peroksinitritin intratrakeal uygulanmasının havayolu epitelinde inflamatuvar ve dejeneratif değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir<sup>72</sup>.

### Oleanolik Asit

Doğal bulunan bileşikler, ilaç endüstrisi için önemli kaynaklardır<sup>78</sup>. Doğal ilaçların birçok hastalıktan korunma ve tedavide kullanılabileceği fark edilmiştir<sup>79,80</sup>. Bitkilerden izole edilen doğal bileşenler birçok hastalığın tedavisinde sentetik olan moleküllere karşı daha az yan etkileri olması nedeni ile daha çok ilgi görmektedir<sup>81</sup>. Oleanolik asit, 120'den fazla bitkinin yaprak veya kökünden izole edilebilen ve gıda maddelerinde doğal olarak bulunan bir triterpenoiddir<sup>79-88</sup>. Oleanolik asitin kimyasal adı 3-β-hidroksi-olea-12-en-28-oic asittir<sup>81,85</sup>. Oleanolik asitin yapısı Şekil 5'te verilmiştir.



**Şekil 5.** Oleanolik Asit

Triterpenoid ve steroidlerin biyosentezindeki ana prekürsör skualen olarak kabul edilir (Price ve ark, 1987). Triterpenoidlerinde steroidler gibi birçok biyolojik etkileri mevcuttur. Bu nedenle triterpenoidlere olan ilgi büyümektedir<sup>85</sup>.

Oleanolik asit, 20 yıldan fazla süredir Çin' de kimyasal nedenlere bağlı karaciğer fibrozisi, kronik karaciğer fibrozisi ve siroz gibi karaciğer

rahatsızlıklarında hepatoprotektif olarak kullanılmaktadır<sup>87-89</sup>. Hepatoprotektif etkisinin yanında alternatif tıpta oleanolik asit içeren bitkiler antiinflamatuvar, hepatoprotektif, analjezi, kardiyotonik, sedatif ve tonik etkileri nedeni ile kullanılmaktadır. Bu terapötik etkilerin çoğu güncel bilimsel araştırmalarla doğrulanmıştır<sup>85</sup>.

Oleanolik asitin anti bakteriyel, anti parazitik, anti osteoporotik, antifertilite, anti hipertansif, anti hiperlipidemik, anti diyabetik (Teodoro ve ark, 2008; Wang ve ark, 2010), anti mutajenik (Resende ve ark, 2006), immünomodülatuar, anti inflamatuvar (Ruben ve ark, 2010; Santos ve ark, 2011), gastro ve hepatoprotektif, antiviral, anti tümöral (Liu ve ark, 1995), anti HIV, anti oksidan (Ovesna ve ark, 2006; Wang ve ark, 2010) etkileri gösterilmiştir<sup>79,84-86,88-94</sup>. Çalışmalar oleanolik asitin kolon kanseri (Janakriam ve ark, 2008), meme kanseri (Chu ve ark, 2010), karaciğer kanseri (Yan ve ark, 2010), akciğer kanseri (Feng ve ark, 2011), osteosarkom hücreleri (Zhou ve ark, 2011), insan lösemi hücreleri (Zhang ve ark, 2007), ve insan melanoma hücreleri (Praheeshkumar ve Kuttan, 2011) gibi birçok tümör hücrelerinde proliferasyonu inhibe edip, apoptozisi indüklediği gösterilmiştir<sup>83,88</sup>.

Oleanolik asit hücre siklusunu durdurarak (Zhang ve ark, 2007; Shyu ve ark, 2010; Pratheeshkumar ve Kuttan, 2011; Zhou ve ark, 2011), hücre adezyonu (Yan ve ark, 2010) ve cyclin D1 ve ICAM1 in down regülasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin (MMP) kaybı ve sitokrom C salınımı ile ilişkili mitokondriyal değişiklikleri regüle ederek (Shyu ve ark, 2010; Yan ve ark, 2010) proliferasyonu inhibe edip, apoptozisi indükler.

Ek olarak, oleanolik asit apoptozisi ayrıca kaspaz (Zhang ve ark, 2007; Shyu ve ark, 2010; Pratheeshkumar ve Kuttan, 2011; Zhou ve ark, 2011), Bcl-2 ailesi (Shyu ve ark, 2010; Feng ve ark, 2011; Pratheeshkumar ve Kuttan, 2011), p-Akt (Zhou ve ark, 2011), p53 (Pratheeshkumar ve Kuttan, 2011) ve NF-κB (Shyu ve ark, 2010; Pratheeshkumar ve Kuttan, 2011) gibi apoptozis ilişkili proteinlerin salınımını düzenleyerek indükler<sup>88</sup>.

Oleanolik asitin antiinflamatuvar etkisi ilk olarak 1960'larda bildirilmiştir. Gupta ve ark. (1969) karajenenle indüklenen rat pençe ödemi ve formaldehit ile indüklenen artritte oleanolik asitin antiinflamatuvar özelliğini bildirmişlerdir. Sonraki

çalışmalar ile oleanolik asitin antiinflamatuvar etkisi teyit edilmiştir (Takayi ve ark, 1980; Dai ve ark, 1989; Singh ve ark, 1992).

Takayi ve ark. ve Sigh ve ark. oleanolik asitin oral uygulanmasının subkutan veya intraperitoneal enjeksiyon kadar etkin olmadığını göstermişlerdir.

Dai ve ark. 1989' da yaptıkları çalışmada oleanolik asit ön tedavisinin ratlarda histaminle indüklenen vasküler permeabilite artışını %50 civarında azalttığını saptamışlardır. Gine domuzlarında Forssman kütanöz vaskülit ve ratlarda aktif Arthus reaksiyonu gibi alerjik yanıtların da oleanolik asit ön tedavisi ile önlenemediğini göstermişlerdir. Dai ve ark. ayrıca topikal dinitroklorobenzen uygulaması ile oluşan geç hipersensitivite yanıtının da oleanolik asit ile baskılandığını belirtmişlerdir.

Oleanolik asitin antiinflamatuvar etkileri şu mekanizmalarla ilişkilidir:

1. Mast hücrelerinden histamin salınımının inhibisyonu (Dai ve ark, 1989; Rajasekaran ve ark, 1990; Tsuruga ve ark, 1991; Balaneheru ve Nagarajan, 1994)
2. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz aktivitenin inhibisyonu ile (Simon ve ark, 1992; Najid ve ark, 1992) araşidonik asit kaskadında bazı inflamatuvar faktörlerin sentezini azaltarak
3. Romatolojik hastalıklardaki inflamatuvar olaylarda rol aldığı düşünülen elastaz inhibisyonu ile (Ying ve ark, 1991)
4. Muhtemelen klasik kompleman yolunda C<sub>3</sub>-konvertaz inhibisyonu yaparak kompleman aktivasyon inhibisyonu ile (Kapil ve ark, 1994)<sup>85</sup>
5. Nrf2' yi uyararak oksidan strese koruduğu gibi, proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ve aktivitesinin düzenlenmesi ve enzimatik antioksidan savunmayı sağlaması ile (Nataraju ve ark, 2009; Martin ve ark, 2010; Takada ve ark, 2010)<sup>91</sup>

Oleanolik asit, iNOS inhibisyonu ile nitrit oluşumunu, ALI patogenezine katkı sağlayan aşırı nitrik oksit yapılığını önleyerek oksidatif strese karşı koruyabilir<sup>91,95</sup>.

Ayrıca geçmiş çalışmalarda oleanolik asitin apoptozisi indükleyerek kanser hücrelerinde ölüme neden olabileceği gösterilmiştir<sup>88</sup>. Yapılan



çalışmalarda oleanolik asitin insan lkemi hücrelerinde ve pankreas kanseri hücrelerinde çoğalmaya belirgin inhibisyon yaptığı gözlenmiştir<sup>88,96</sup>.

Oleanolik asit rölatif olarak non toksiktir<sup>85,91,97</sup>. Bu nedenle kozmetik ve sağlık ürünlerinde kullanılmaktadır<sup>97</sup>. Ratlarda oleanolik asitin tek doz subkutan injeksiyonu (1gr/kg) sonrası 5 günde hiç mortalite gözlenmemiştir (Hunan Med Inst., 1975; Singh ve ark, 1992). Oleanolik asitin per oral 180 mg/kg 10 gün tekrarlayan uygulanması sonrası, beyin, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, tiroid, testis, mide, dalak ve bağırsaklarda herhangi bir anormallik saptanmamıştır (Hunan Med Inst., 1977). Yetmiş vakalık bir klinik çalışmada akut hepatit için oleanolik asit (60-90 mg/gün) 30 gün kullanımının terapötik olarak etkili ve yan etkisiz olduğu gösterilmiştir. Kronik hepatitli 188 vakalık bir çalışmada uzun süre (>3 ay) oleanolik asit kullanımının güvenli olduğu gösterilmiştir<sup>85</sup>.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışma için T.C. Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) onayı alınmıştır (17/01/2013 tarih ve 2013/04 sayılı izin). Çalışma Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'ndan temin edilen, ağırlıkları 180 - 200 gram arasında değişen, toplam 70 adet, dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar standart beslenme ve barınma koşulları altında tutularak, tüm ilaç uygulamaları ve sakrifikasyon Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nda yapıldı.

### **Çalışma Grupları**

Ratlar, her grupta on rat olacak şekilde yedi gruba ayrıldı. Gruplar, Kontrol grubu (K), Peroksinitrit 24. saat grubu (P24), Peroksinitrit ve bronkoalveolar lavajla oleanolik asit 24. saat grubu (POB24), Peroksinitrit ve intraperitoneal oleanolik asit 24. saat grubu (POİ24), Peroksinitrit 48. saat grubu (P48), Peroksinitrit ve bronkoalveolar lavajla oleanolik asit 48. saat grubu (POB48) ve Peroksinitrit ve intraperitoneal oleanolik asit 48. saat grubu (POİ48) olarak belirlendi. Ratlara cerrahi girişimler ve ilaç uygulamaları öncesinde 100 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile anestezi uygulandı.

Kontrol grubundaki ratlara herhangi bir işlem uygulanmaksızın 100 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile anestezi verildi. Abdominal kaviteyi açılarak vena cava inferiordan ponksiyon ile biyokimyasal inceleme için kan örneği alınarak ratlar sakrifiye edildi. Toraks boşluğu ve boyun bölgeleri açılarak sağ akciğer alt lobu ve trakea eksize edilerek histopatolojik inceleme amacı ile ayrıldı.

Diğer bütün gruptaki ratlara 100 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile anestezi verilmesini takiben boyun bölgesi açılarak trakea serbestlendi ve 0,5 ml hacimde 10 mM intratrakeal enjeksiyon ile peroksinitrit uygulandı. Boyun bölgesindeki cilt ve cilt altı dokular suture edildi.

Peroksinitrit gruplarında, işlemden 24 saat sonra P24 grubu ve 48 saat sonra P48 grubu ratlara tekrar 100 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile anestezi verildi. Abdominal kaviteyi açılarak vena cava inferiordan ponksiyon ile biyokimyasal inceleme için kan örneği alınarak ratlar sakrifiye edildi. Toraks

boşluğu ve boyun bölgeleri açılarak sağ akciğer alt lobu ve trakea eksize edilerek histopatolojik inceleme amacı ile ayrıldı.

Bronkoalveolar lavajla oleanolik asit verilen peroksinitrit uygulanmasını takiben intratrakeal 5 mg/kg oleanolik asit uygulandı. Ratlar gruplarına göre 24. ve 48. saatlerde kan ve doku örnekleri alınmasını takiben sakrifiye edildi.

Intraperitoneal oleanolik asit grubunda ise peroksinitrit uygulanmasını takiben intraperitoneal 10 mg/kg oleanolik asit uygulandı. Ratlar gruplarına göre 24. ve 48. saatlerde kan ve doku örnekleri alınmasını takiben sakrifiye edildi.

### **Kimyasallar**

Oleanolik asit ( $\geq 97$ ) ve peroksinitrit ( $\geq 90$ ), Sigma - Aldrich kimyasal Fabrikasından (St. Louis, MO) satın alındı.

### **Biyokimyasal Analiz**

#### **Örneklerin Alınması ve Saklanması**

İçeriksiz biyokimya tüplerine alınan çalışma gruplarına ait venöz kan örnekleri, 10 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve daha sonra çalışılmak üzere - 80°C'de saklandı. Çalışma gününde serum örnekleri, oda ısısına gelene kadar bekletildikten sonra analiz edildi.

### **Biyokimyasal Parametreler**

IL-10 düzeyi eBioscience Rat IL-10 Platinum ELISA (eBioscience company, San Diego, CA, Katalog No: BMS629, Lot: 92553013), IL-4 düzeyi eBioscience Rat IL-4 Platinum ELISA (eBioscience company, San Diego, CA, Katalog No: BMS628, Lot: 94252011), TNF- $\alpha$  düzeyi eBioscience Rat TNF- $\alpha$  düzeyi Platinum ELISA (eBioscience company, San Diego, CA, Katalog No: BMS622, Lot: 93556038) ve IL-1 $\beta$  düzeyi (eBioscience company, San Diego, CA, Katalog No: BMS630, Lot: 94640015) elisa kitleri kullanılarak DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA cihazında ölçüldü. Standartların absorbansları ve konsantrasyonları ile oluşturulan eğriye göre örneklerin içerdiği miktarlar hesaplandı.

### **TBARS Tayini**

Serum MDA düzeyi TBARS Assay Kit (Katalog No:10009055, Lot: 0449411 Cayman Chemical Company Michigan 48108, USA ) kullanılarak tayin edildi.

**Çalışma prensibi:** Lipit peroksidasyonu sonucunda sekonder bir ürün olarak oluşan MDA'nın aerobik şartlarda, pH 3,4'te tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C'deki su banyosunda (Memmert WNB 22, L510.0905, Germany) inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin, 532 nm'deki absorpsiyon değerinin elisa cihazında (Thermo scientific, MULTISCAN GO 1510-01012, USA) ölçümü esasına dayanmaktadır.

### **Patolojik İnceleme**

Yetmiş iki olguya ait akciğer ve trakea örneklerine, %10 luk formalinde 1 gün fikse edildikten sonra standart dehidratasyon ve parafine gömme işlemleri uygulandı. Hemotoksilen eosin (H-E) ile boyalı kesitler standart tekniklerle hazırlandı. Ayrıca immünohistokimyasal boyama işlemi için 4 mikrometrelik kesitler alındı. İmmünohistokimyasal boyama için Factor VIII antikoruna (dilüsyon 1/100), VEGFR2 antikoruna (dilüsyon 1/100), iNOS antikoruna (dilüsyon 1/100), ve In Situ Apoptosis Detection Kitleri kullanıldı. Kesitler, adhezivli lama alınarak, 37 santigrad derecede 1 gece bekletildikten sonra ksilolde 5 dakika, absolü alkolde 3 dakika ve sırasıyla %96-80-70 alkolde üçer dakika bekletildi. Daha sonra soğumaya bırakılan preparatlar, oda ısısına gelince distile suda 5 dakika bekletildi. PBS' de 5 dakika bekletilen preparatlar, %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' de 20 dakika bekletildi. Yine PBS' de 10 dakika ve sonrasında Bovin Serum Albuminde yıkanan preparatlara dilüe edilmiş primer antikorlar damlatıldı. PBS' de 2 defa 5 dakika yıkandı ve Sekonder antikor ile 20 dakika bekletildi. Yine PBS' de 2 defa 5 dakika yıkanan preparatlara Streptavidin Peroksidaz uygulandı ve 20 dakika bekletildi. PBS' de 2 defa 5 dakika bekletildikten sonra AEC kromojen damlatıldı. PBS' de 2 defa yıkandıktan sonra Mayer Hematoksilende 3-5 dakika boyandı. Daha sonra hızlıca %96' lık alkolden geçirildi. Absolü alkolde 3 dakika bekletildikten sonra gliserinli jel ile kapatılarak incelemeye hazır hale getirildi.

Örnekler, ışık mikroskopunda iki patolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Spesmenler akciğer dokusunda ve trakeada, pulmoner ve trakeal arktektür, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, doku hasarı ve büyük büyütme alanında apoptotik hücre sayımı şeklinde değerlendirildi. Sonuçlar doku hasarına göre 4 skora ayrıldı. Skorlama; Skor-1: normal histoloji, skor-2: hafif derecede perivasküler ödem ve hafif derecede dokuda hasarlanma, skor-3: orta derecede perivasküler ödem ve dokuda parsiyel hasarlanma, skor-4: şiddetli derecede

perivasküler ödem ve dokuda komplet destrüksiyon olarak belirlendi. Apoptotik hücre sayımı 5 büyük büyütme alanında mezenkimal hücrelerde sayıldı. iNOS ile akciğer ve trakeada 5 büyük büyütme alanında inflamasyonun en çok gözleendiği alanda makrofajlar sayıldı. VEGFR2 ile boyanan hücrelerde 5 büyük büyütme alanında inflamasyonun en çok görüldüğü alanda akciğer dokusunda alveol hücreleri, trakeada ise trakeal epitel hücreleri sayıldı. Factor VIII ile 5 büyük büyütme alanında inflamasyonun en çok görüldüğü ve damarlanmanın en çok izlendiği alanlarda damar sayımı yapıldı.

### **İstatistiksel Analiz**

Sürekli ölçümlere ait normallik kontrolleri ShapiroWilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için gruplar arası farklılıklar Varyans analizi ile test edilmiştir. Varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edilmiştir. Varyansların homojen olduğu durumlarda OneWay ANOVA, homojen olmadığı durumlarda ise Welch testi ya da Brown-Forsythe testi kullanılmıştır. İkili karşılaştırmalar için TukeyHSD ve Games-Howell testleri kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Kategorik verilerin analizi için Ki-Kare testi kullanılmıştır ve sonuçlar sayı(yüzde) olarak verilmiştir. Analizler SPSS for Windows 21 sürümünde yapıldı.

## BULGULAR

### 1. Biyokimya Sonuçları

Gruplara göre biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri Tablo 10'da verilmiştir.

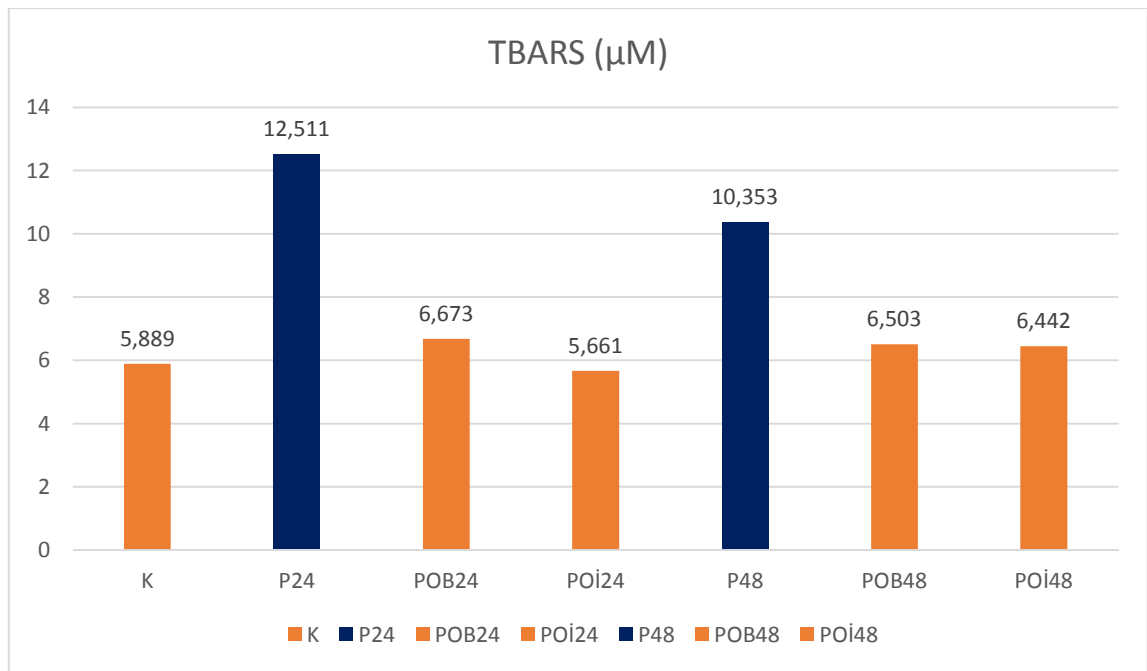
**Tablo 10.** Biyokimya Sonuçları

	<b>TBARS</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>
<b>K</b>	5,889 $\pm$ 0,876	0,374 $\pm$ 0,367	24,289 $\pm$ 6,190	86,163 $\pm$ 31,855	50,976 $\pm$ 9,885
<b>P24</b>	12,511 $\pm$ 7,547	0,717 $\pm$ 0,179	37,738 $\pm$ 7,635	163,173 $\pm$ 20,236	56,438 $\pm$ 24,883
<b>POB24</b>	6,673 $\pm$ 1,240	0,535 $\pm$ 0,173	34,623 $\pm$ 3,495	118,236 $\pm$ 40,363	41,465 $\pm$ 7,528
<b>POi24</b>	5,661 $\pm$ 1,108	0,492 $\pm$ 0,060	31,585 $\pm$ 7,281	99,102 $\pm$ 26,243	45,711 $\pm$ 19,467
<b>P48</b>	10,353 $\pm$ 4,491	0,736 $\pm$ 0,168	42,941 $\pm$ 14,430	141,449 $\pm$ 46,718	81,602 $\pm$ 45,420
<b>POB48</b>	6,503 $\pm$ 1,061	0,548 $\pm$ 0,107	41,514 $\pm$ 15,919	90,240 $\pm$ 24,860	45,964 $\pm$ 12,885
<b>POi48</b>	6,442 $\pm$ 1,291	0,583 $\pm$ 0,147	31,382 $\pm$ 4,508	88,701 $\pm$ 28,891	43,478 $\pm$ 8,177

## TBARS Sonuçları

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit, oksidatif hasarın bir indikatörüdür. MDA, oluşum yerinden kolayca diffüze olup membran yapısındaki lipid ve proteinlere çapraz bağlanarak bir zincirleme reaksiyonla membran bütünlüğünü bozar ve membran permeabilitesinin değişmesine neden olur. MDA ölçümü tiobarbitirik asit reaksiyonu (TBARS) ile ölçülür<sup>98</sup>.

**Grafik 1.** TBARS sonuçları

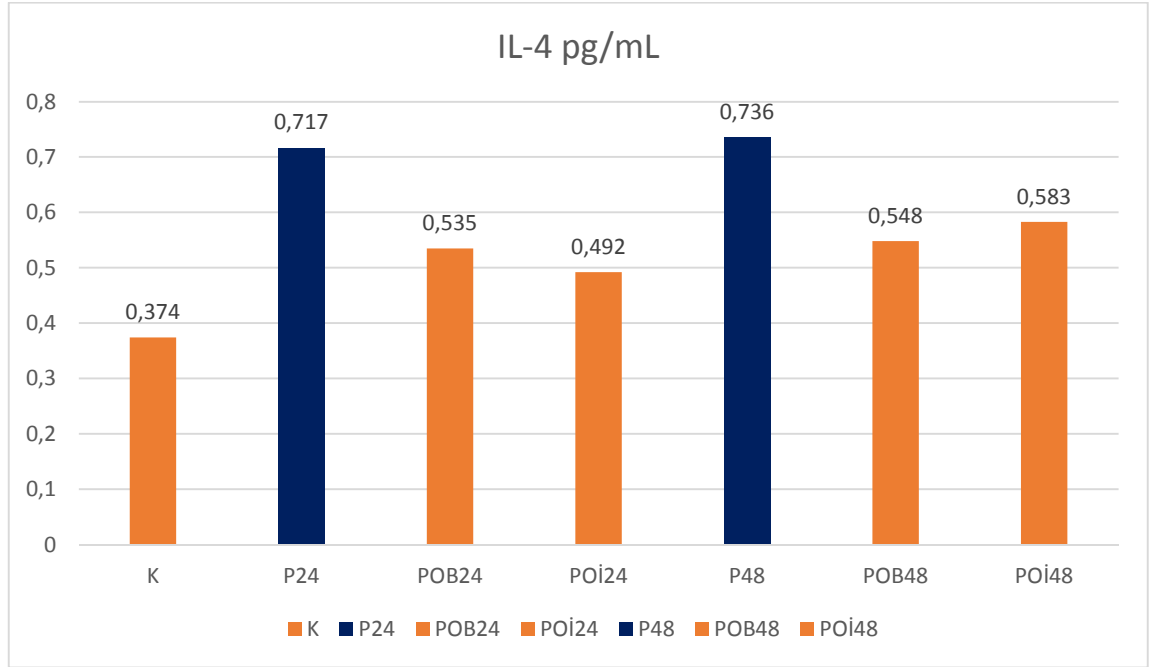


TBARS sonuçlarında (Bakınız Grafik 1) K grubuna göre P24 ve P48'de istatistiksel olarak anlamlı yükselme saptanmıştır ( $p=0,002$ ). P24 grubu ile POB24 ve POİ24 grupları karşılaştırıldığında tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görülmüştür (sırasıyla  $p=0,010$  ve  $p=0,001$ ). P48 grubu ile POB48 ve POİ48 grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görülmüştür (sırasıyla  $p=0,007$  ve  $p=0,005$ ). POB24 ve POİ24 grupları arasında ve POB48 ile POİ48 grupları arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0,07$ ,  $p=0,121$ ). Bu sonuçlar Oleanolik Asit verilmesinin oksidatif stresi azaltmaya etkisi olduğunu göstermektedir.

## İnterlökin 4 Sonuçları

İnterlökin 4 (IL-4), aktif T lenfositler ve mast hücreleri tarafından sentez edilir. B hücre büyüme faktör 1 (BCGF-1) veya B hücre uyarıcı faktör 1 (BSF-1) olarak da bilinir<sup>99</sup>. IL-4'ün pro-inflamatuvar sitokinlerde downregülasyona neden olduğu belirlenmiştir. IL-4, makrofajların etkinliğini sağlayan IFN $\gamma$  ile antagonistik etki göstererek, IL-1 ile TNF üretimini azaltmaktadır<sup>100</sup>. IL-4, antiinflamatuvar bir sitokin olup, sistemik inflamatuvar yanıtın devamından sorumludur<sup>101</sup>. IL-4 sonuçları Grafik 2'de verilmiştir.

**Grafik 2.** IL-4 sonuçları



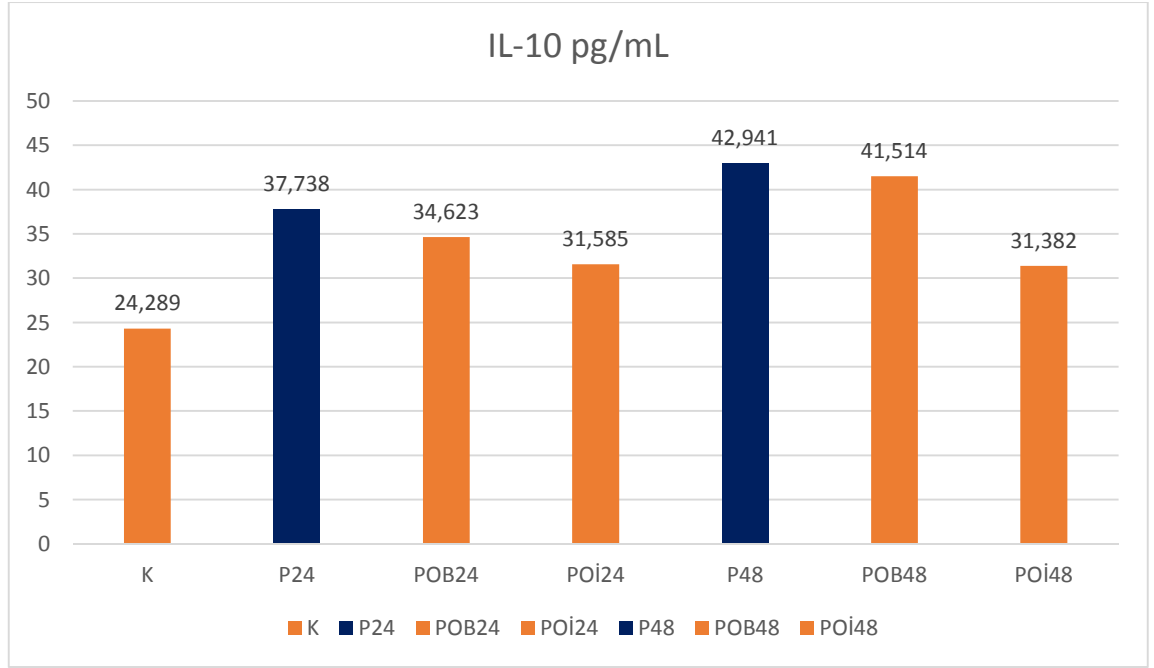
Kontrol grubuna göre P24 ve P48 gruplarında IL-4 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p < 0,001$ ). P24 grubu ile karşılaştırıldığında POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ( $p = 0,007$ ). P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ( $p = 0,003$ ). POB24 ile POİ24 grupları arasında ve POB48 ile POİ48 grupları arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p = 0,067$ ). Bu sonuçlar bize oleanolik asitin inflamasyonun devamından sorumlu olan anti-inflamatuvar sitokinleri azalttığını göstermektedir.



## İnterlökin 10 Sonuçları

Sitokin üretimini azaltıcı faktör olarak da adlandırılmış olan IL-10, yardımcı T lenfositler, B lenfositler, mast hücreleri, eozinofiller, monositler, makrofajlar ve keratinositler tarafından üretilmektedir<sup>100</sup>. IL-10'da IL-4 gibi antiinflamatuvar bir sitokin olup, sistemik inflamatuvar yanıtın devamından sorumludur<sup>101</sup>.

**Grafik 3.** IL-10 sonuçları

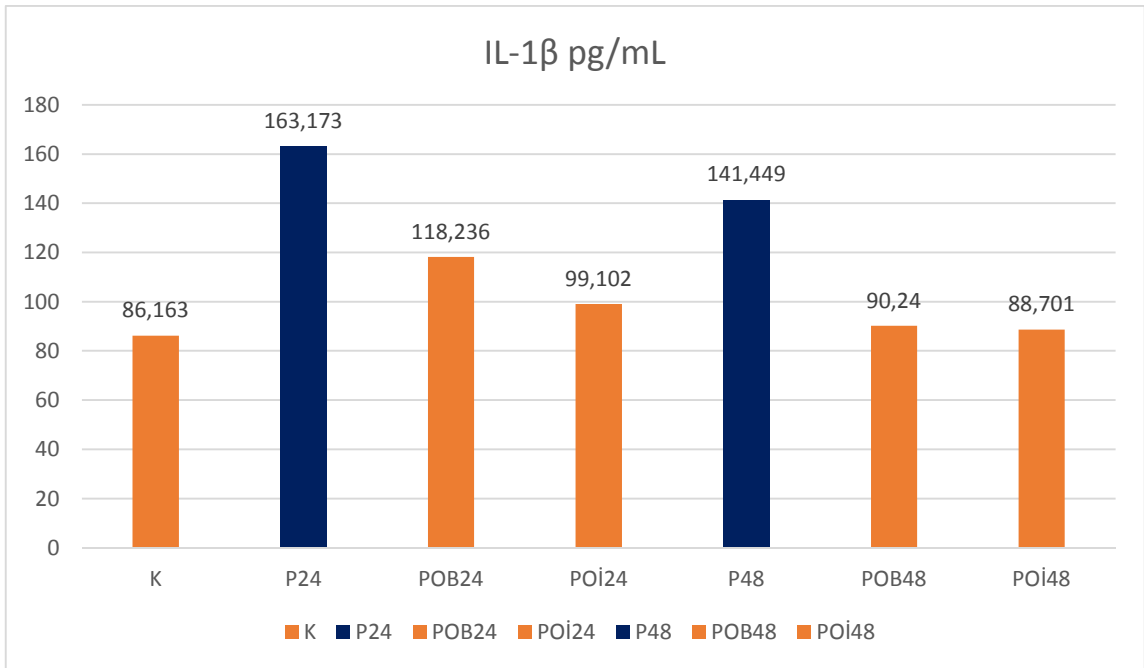


IL-10 değerlerinde (Bakınız Grafik 3) K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (sırasıyla  $p=0,003$  ve  $p=0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma gözlenmiştir ( $p=0,137$ ). P48 grubu ile karşılaştırıldığında POB48 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p=0,117$ ). P48 grubu ile POİ48 grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p=0,012$ ). POB24 grubu ile POİ24 grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamışken ( $p=0,08$ ) POB48 grubu ile POİ48 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p=0,142$ ). Bu sonuçlar bize IL-4'te olduğu gibi oleanolik asitin inflamasyonun devamından sorumlu olan anti-inflamatuvar sitokinleri azalttığını göstermektedir.

## İnterlökin 1 $\beta$ Sonuçları

İnterlökin-1 (IL-1) iki farklı proteinden meydana gelmekte olup bunlar IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'dir<sup>99-102</sup>. İkinci kromozom üzerinde iki ayrı gen tarafından meydana getirilen IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin antijenik yapıları farklı olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve etkinlikleri aynıdır<sup>99</sup>. Aralarında monosit, B-hücreler, keratinositler, mezenşial hücreler ve endotelin de bulunduğu birçok hücre tipi tarafından meydana getirilebilen, sistemik inflamatuvar yanıtı başlatan proinflamatuvar özellikli bir sitokinlerdendir<sup>99,101,103</sup>.

**Grafik 4.** IL-1 $\beta$  sonuçları

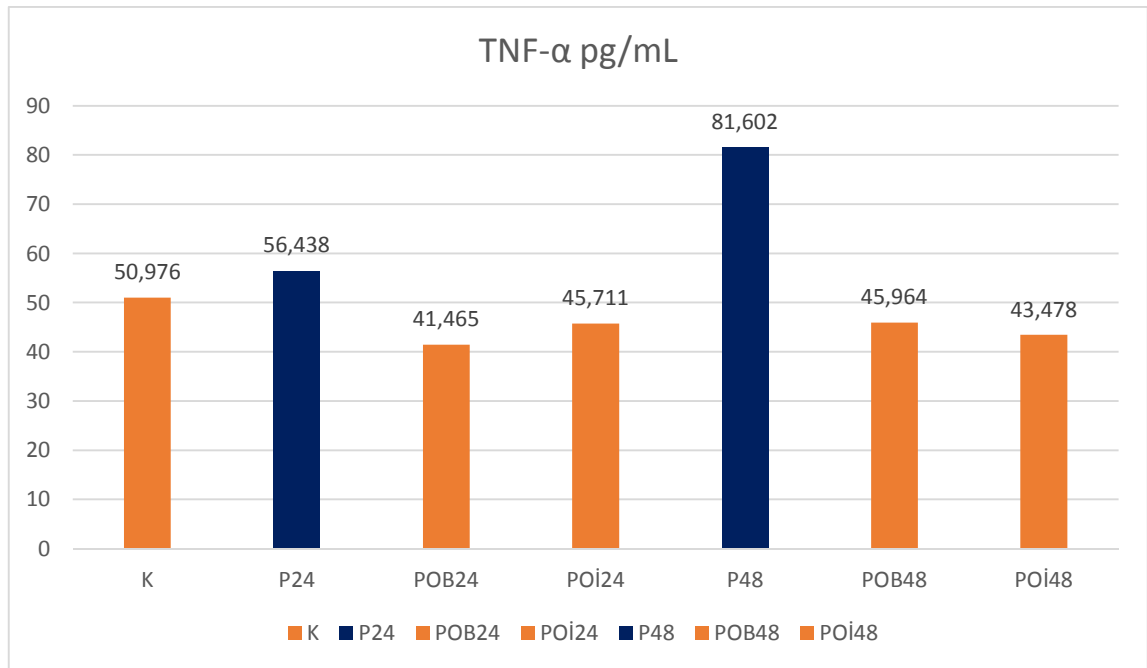


IL-1 $\beta$  değerleri (Bakınız Grafik 4) bakımından, P24 ve P48 gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür (sırasıyla  $p < 0,001$  ve  $p = 0,008$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). P48 grubuna göre POB24 ve POB48 gruplarında anlamlı bir farklılık saptanmıştır (sırasıyla  $p = 0,019$  ve  $p = 0,01$ ). POB24 grubu ile POİ24 grubu arasında ve POB48 grubu ve POİ48 grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla  $p = 0,1$  ve  $p = 0,072$ ). Oleanolik asit tedavisinin inflamasyonun tetiklenmesini engellediği tespit edilmiştir.

## Tümör Nekrozis Faktör Alfa Sonuçları

Doku travması veya infeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$ , konakçı cevabının oluşumuna yol açan ilk ve en potent mediyatörlerden biri olan proinflamatuvar bir sitokindir. Mononükleer fagositlerden IL-1 salınımını uyarır. TNF- $\alpha$  sentezinin kaynağı, periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir<sup>101,102</sup>.

**Grafik 5.** TNF- $\alpha$  sonuçları

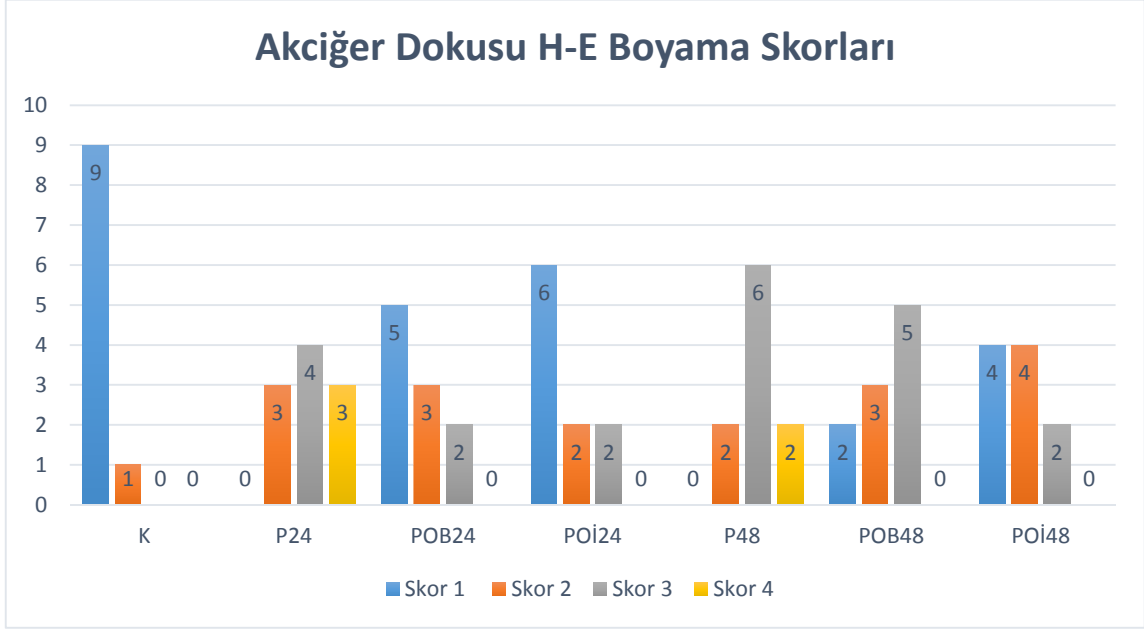


TNF- $\alpha$  sonuçları (Bakınız Grafik 5) açısından K grubuna göre P24 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan bir artış olmuştur ( $p=0,139$ ). K grubuna göre P48 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $P<0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında azalma gözlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,139$ ). P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ). POB24 grubu ile POİ24 grubu arasında ve POB48 grubu ve POİ48 grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0,05$  ve  $p=0,061$ ). Bu sonuçlar bize oleanolik asitin akut akciğer hasarında proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını azalttığını göstermektedir.

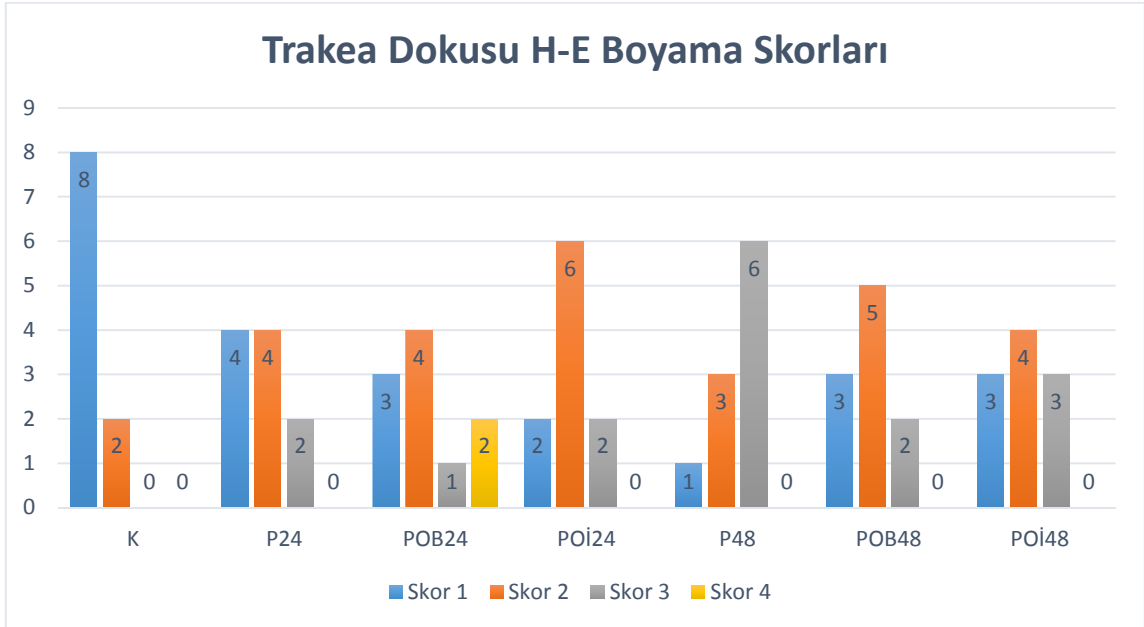
## Patoloji Sonuçları

### Hematoksilen Eosin İncelemesi

**Grafik 6.** Akciğer Dokusu Hematoksilen Eosin Boyaması Sonuçları



**Grafik 7.** Trakea dokusu Hematoksilen Eosin Boyaması Sonuçları



**Grafik 6 ve 7.** Skor 1: normal histoloji, Skor 2: hafif derecede perivasküler ödem ve hafif derecede dokuda hasarlanma, Skor 3: orta derecede perivasküler ödem ve dokuda parsiyel hasarlanma, Skor 4: şiddetli derecede perivasküler ödem ve dokuda komplet destrüksiyon

Hemotoksilen eosin sonuçlarına (Bakınız Grafik 6 ve 7) göre K ve P24, P48 gruplarındaki normal histolojiye göre oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,003$ ). K ve POİ24 gruplarındaki normal histolojiye göre oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,011$ ).

K ve POB24 gruplarındaki normal histolojiye göre oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,018$ ). K ve POİ48 gruplarındaki normal histolojiye göre oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,033$ ).

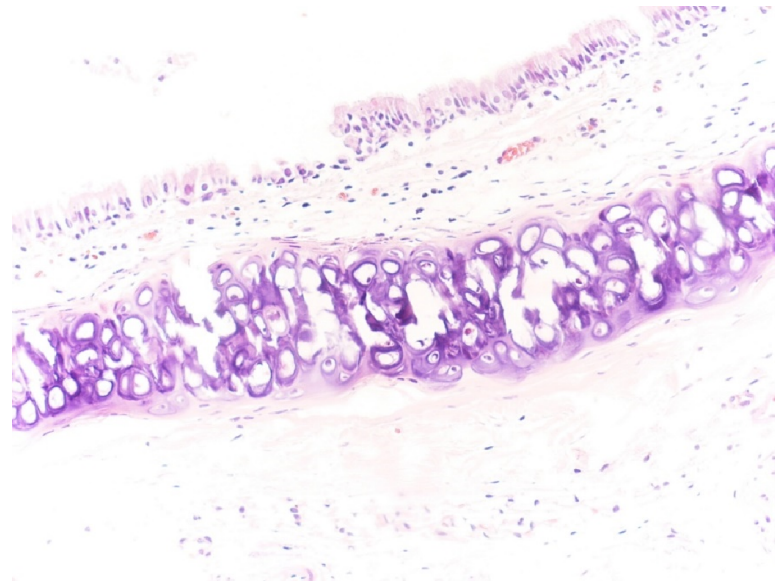
K grubu ile P24 ve P48 gruplarındaki orta derecede hasara göre oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,021$ ). Bu bulgular bize tedavinin doku hasarında azalmaya yol açtığını göstermektedir.

Akciğer dokusunda P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarındaki skor 4'e göre oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,03$ ).

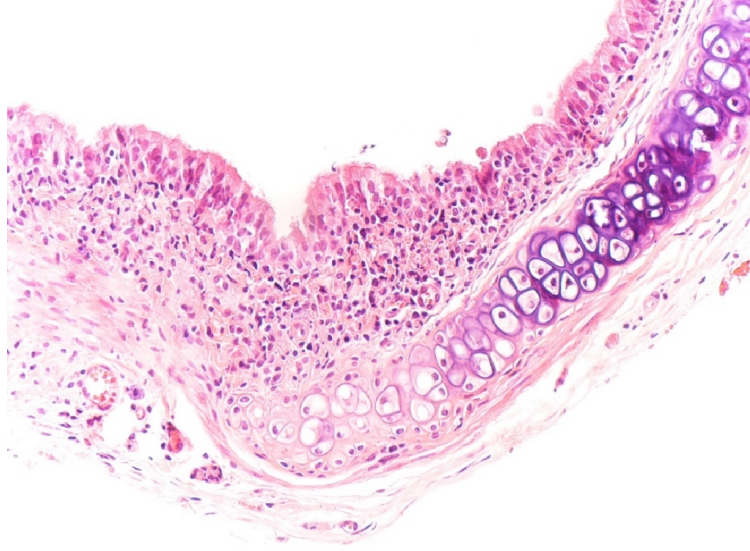
Akciğer dokusunda P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarındaki skor 3'e göre oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,041$ ).

Trakea dokusunda P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarındaki skor 3'e göre oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,131$ ). Trakea dokusunda P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarındaki skor 3'e göre oranları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,024$ ).

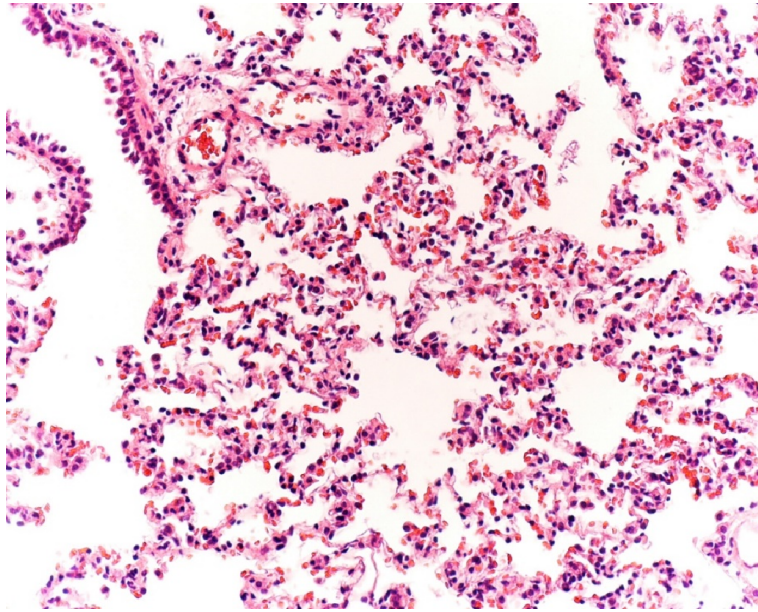
Akciğer ve trakea gruplarına ait H-E boyaması ile skor-1 ve skor-4' e ait görüntüler Resim 1-4'te sunulmuştur.



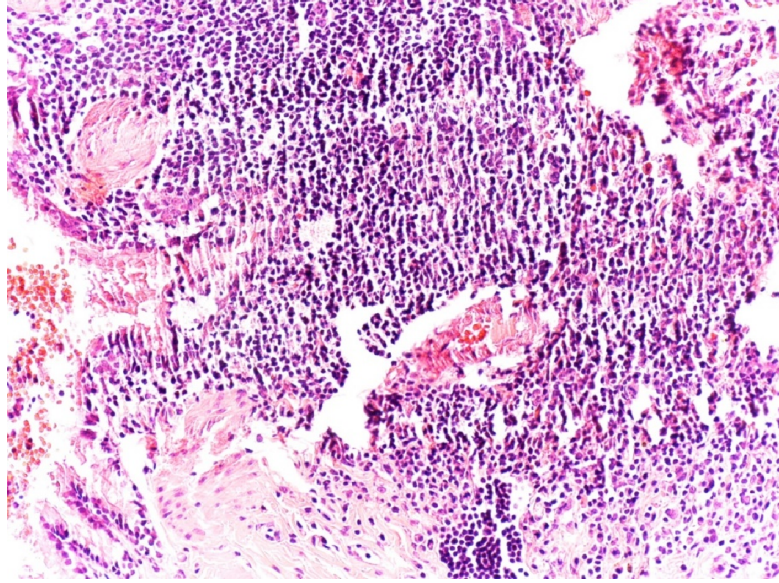
**Resim 1.** Düzenli yapıda trakeal doku, minimal epitelyal dökülme, Skor-1 (H-E, x20). (K grubu)



**Resim 2.** Trakeal dokuda, şiddetli derecede ödem ve epiteli de infiltre eden mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor-4 (H-E, x20). (P48 grubu)



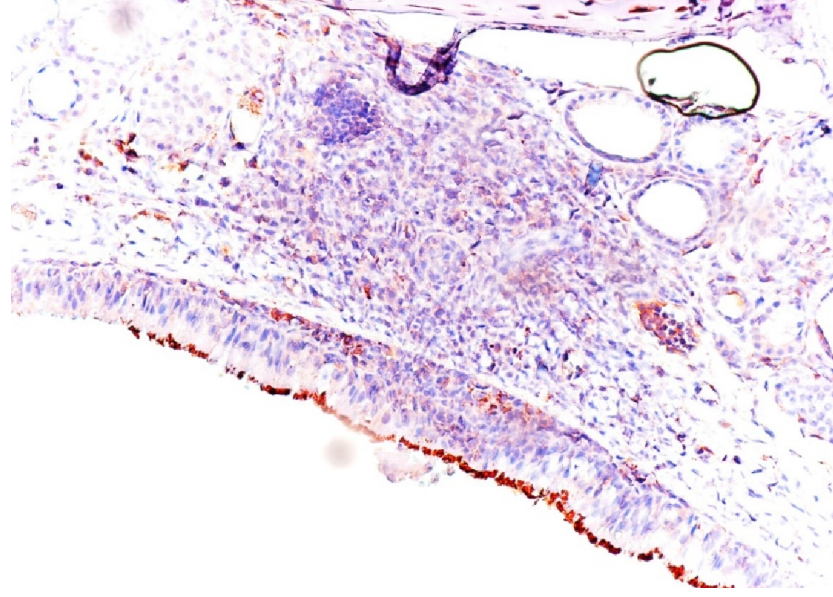
**Resim 3.** Düzenli yapıda akciğer dokusu, Skor-1 (H-E, x20). (K grubu)



**Resim 4.** Akciğer dokusunda ödem şiddetli derecede mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor-4 (H-E, x20).(P24 grubu)

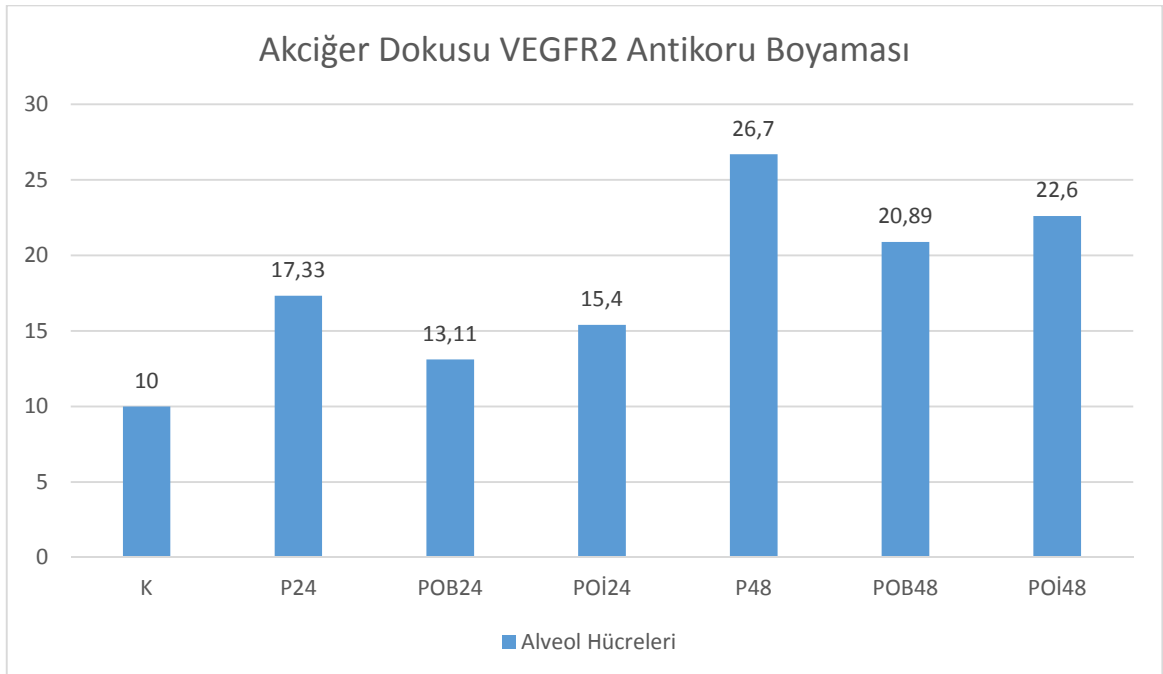
### **VEGFR2 Antikoru İncelemesi**

Vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) normal ve neoplastik dokuların vaskülasizasyonunu stimüle eden anjiogenez için majör bir regülatördür. VEGF, 3 tirozin kinaz reseptörüne bağlanır: VEGF reseptörü 1 (VEGFR1), VEGF reseptörü 2 (VEGFR2) ve VEGF reseptörü 3 (VEGFR3). VEGFR-1 ve VEGFR-2 vaskülogenez ve anjiyogenezden sorumlu iken, VEGFR-3 esas olarak lenfanjiyogenezden sorumludur. Endotelial hücrelerdeki VEGFR2 solid tümörlerin anjiogenezindeki majör mediatör olduğu düşünülmektedir<sup>104</sup>. Resim 5'te VEGFR2 antikoru ile boyanmış trakea epiteli görülmektedir.



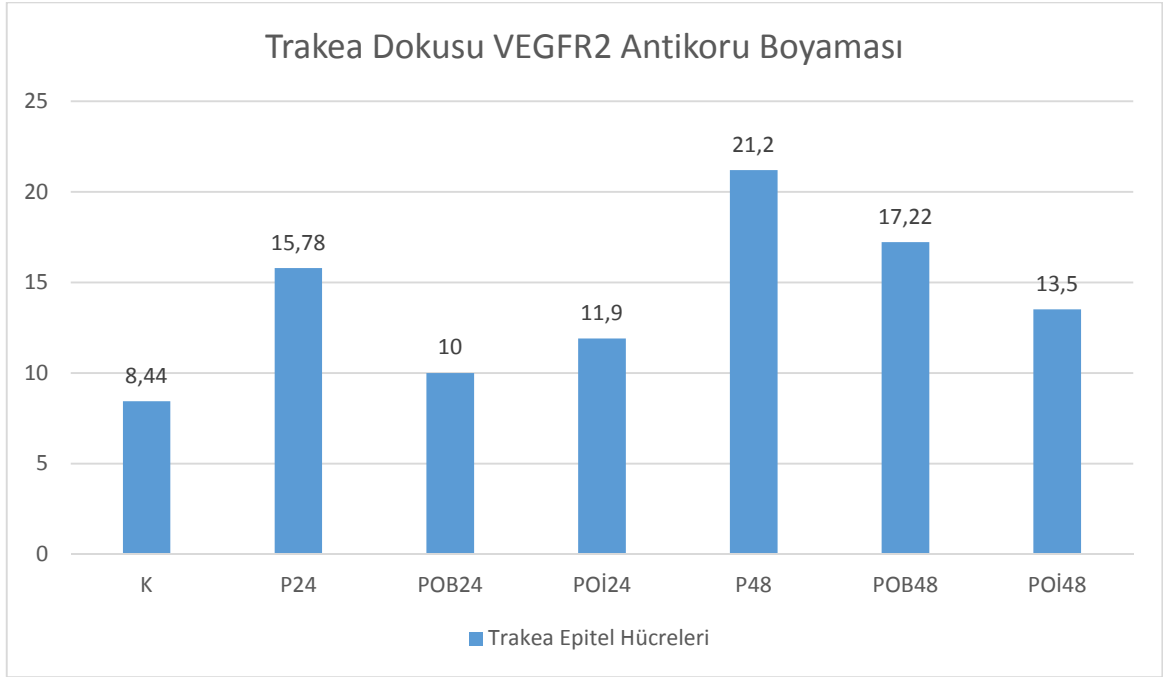
**Resim 5.** Trakea dokusunda, epitel hücrelerinde VEGFR ile boyanma (VEGFR, x20)

**Grafik 8.** Akciğer Dokusu VEGFR2 Antikoru Boyaması Sonuçları





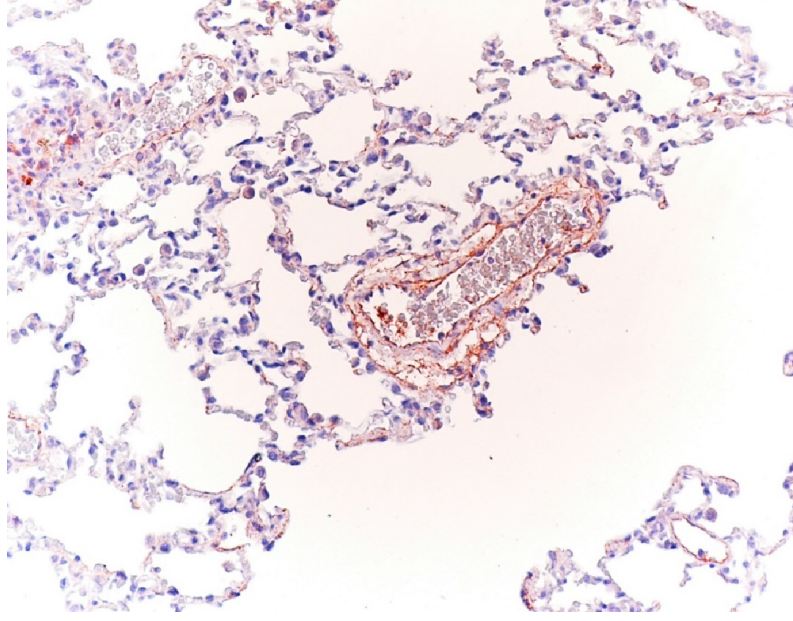
**Grafik 9.** Trakea Dokusu VEGFR2 Antikoru Boyaması Sonuçları



Akciğer dokusunda VEGFR2 incelemesinde K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında istatistiksel anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p<0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,003$ ). P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Trakea dokusunda ise K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p<0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında ve P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p<0,001$ ).

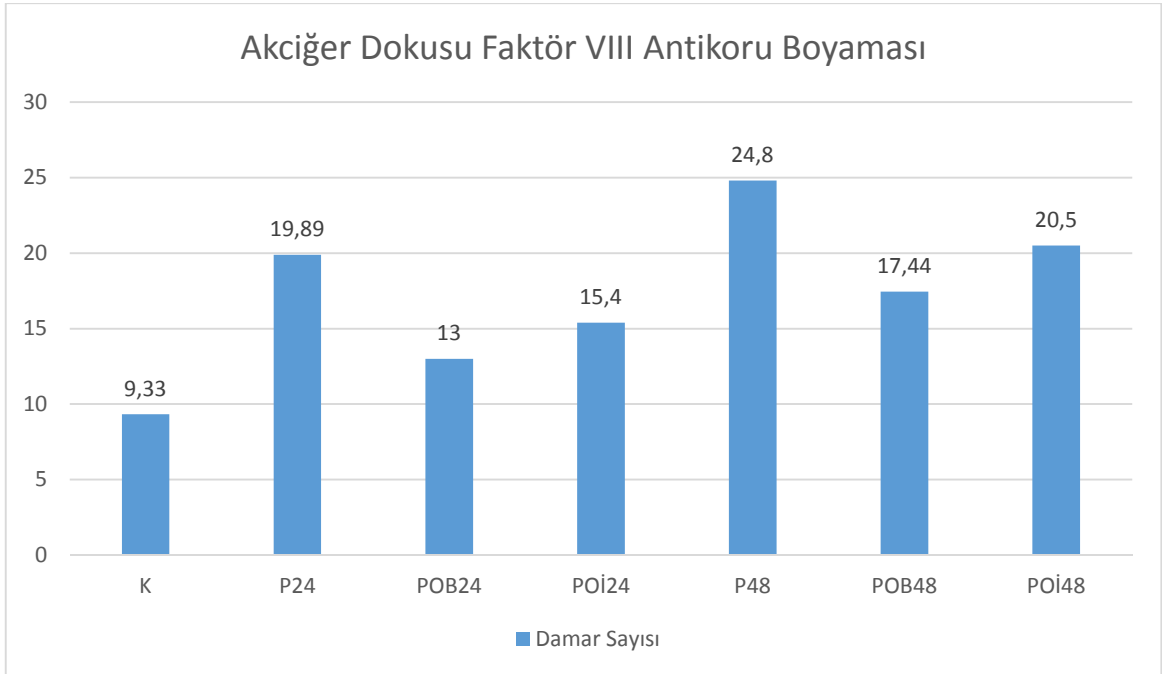
### **Faktör VIII Antikoru İncelemesi**

Faktör VIII insan plazmasında bulunan bir glikoproteindir. Faktör VIII ilişkili antijenin insan endotel hücrelerinde bulunduğu yayınlanmıştır. Faktör VIII ilişkili antijen endotel hücreleri belirlemek ve endotel kaynaklı benign ya da malign neoplastik lezyonları saptama amacı ile kullanılmaktadır<sup>105</sup>. Resim 6'da Faktör VIII antikoru ile boyanmış damar endoteli görülmektedir. Faktör VIII antikoru boyaması sonuçları Grafik 10 ve 11'de verilmiştir.

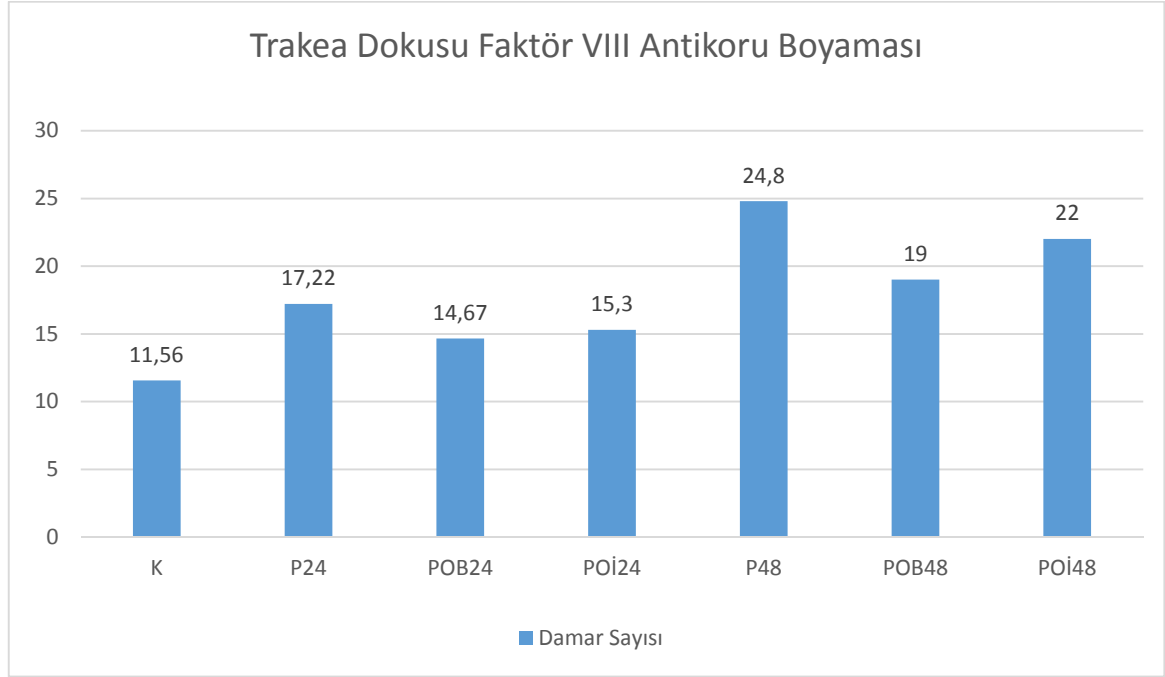


**Resim 6.** Akciğer dokusunda, Faktör 8 antijeni (FVIIIag) ile damar duvarlarında boyanma (FVIIIag, x20).

**Grafik 10.** Akciğer Dokusu Faktör VIII Antikoru Boyaması Sonuçları



**Grafik 11.** Trakea Dokusu Faktör VIII Antikoru Boyaması Sonuçları

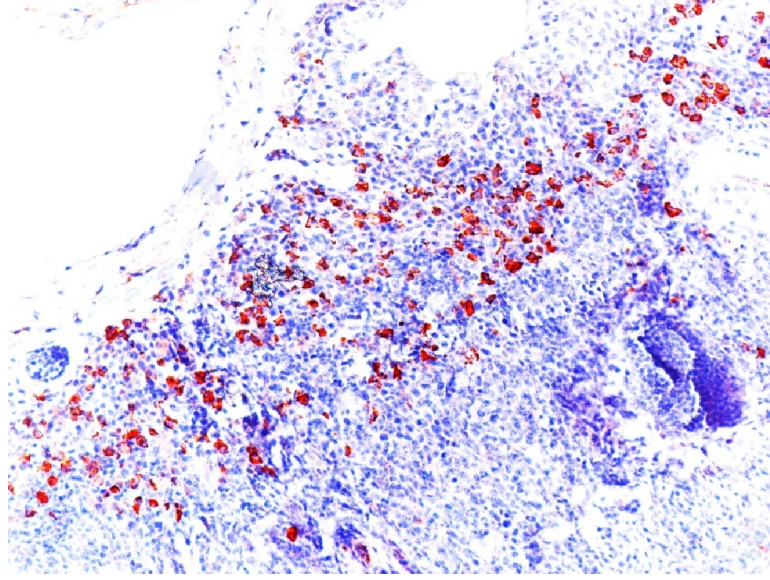


Akciğer dokusu Faktör VIII sonuçları açısından K grubuna göre P24 grubunda ve P48 grubunda istatistiksel anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında ve P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Trakea dokusunda ise K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırası ile  $p < 0,001$  ve  $p = 0,02$ ). P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırası ile  $p < 0,001$  ve  $p = 0,01$ ).

### **iNOS Antikoru İncelemesi**

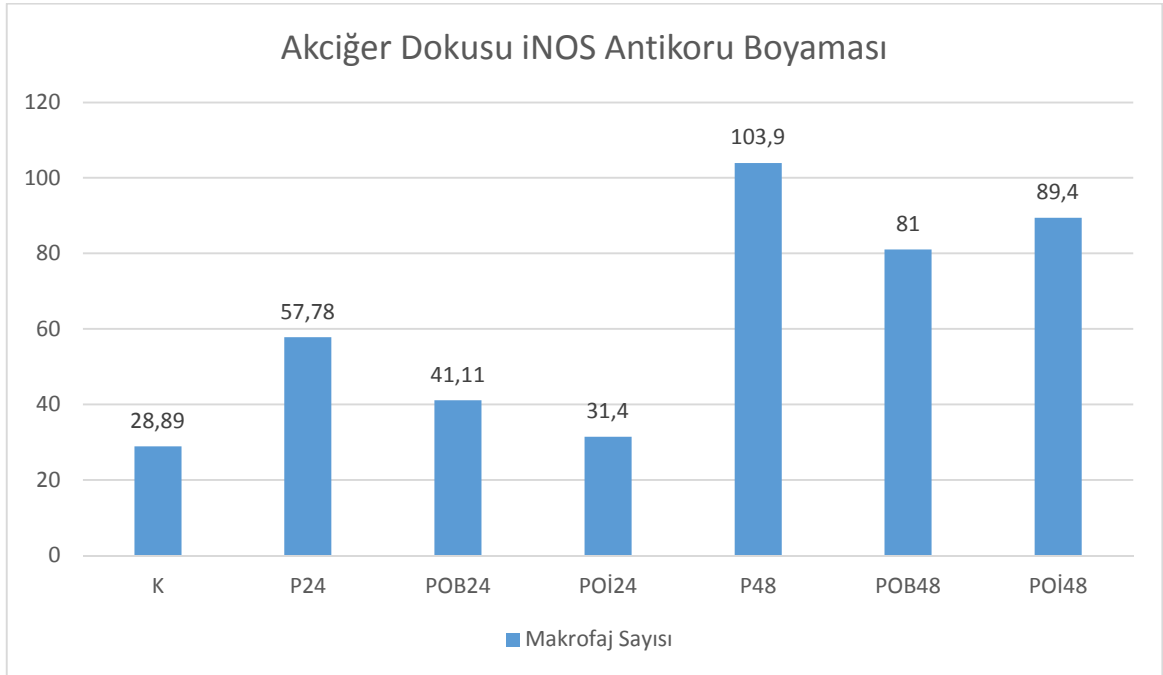
Nitrik oksit (NO) hücreler arası birçok mesajı taşıyan inorganik, gaz formunda serbest bir radikaldir. NO üretimi nitrik oksit sentaz familyası üyelerince düzenlenmektedir. NOS'un üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS)'dur. Nöronal ve endotelial NOS, pek çok hücrede mevcut yapısal enzimlerdir. Bu iki izoformun aktivasyonu kalsiyum ve kalmoduline bağlıdır. Aktive olmuş makrofajlar, hepatositler, düz kas hücreleri, monositler, endotel hücreleri, nöronlar ve nötrofil

granulositler NOS'un kalsiyum ve kalmomodulinden bağımsız indüklenbilir formunu sentezler<sup>106,107</sup>. İnterferon gamma (IFN $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-2 gibi sitokinler ve lipopolisakkaritler (LPS) iNOS mRNA'sı, proteini ve aktivite düzeylerinde artışa neden olabilmektedir. Resim 7' de akciğer dokusunda iNOS ile boyamada kırmızı renge boyanan makrofajlar görülmektedir.



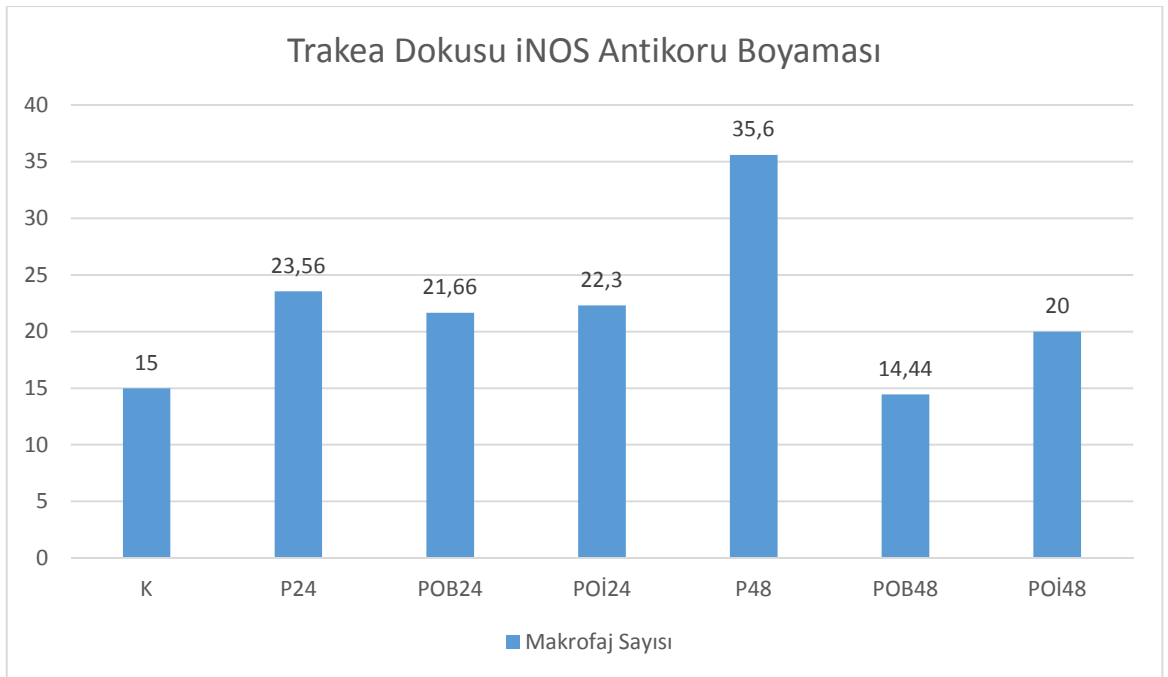
**Resim 7.** Akciğer dokusunda makrofajlarda İNOS ile boyanma (İNOS, x20)

**Grafik 12.** Akciğer Dokusu iNOS Antikoru Boyaması Sonuçları



Akciğer dokusundaki makrofaj sayısında (Bakınız Grafik 12), K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,034$ ,  $p=0,028$ ). P24 grubuna göre, POB24 grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma saptanmıştır ( $p=0,05$ ). P24 grubuna göre POİ24 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p=0,041$ ). P48 grubuna göre, POB48 ve POİ48 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma saptanmıştır ( $p=0,05$ ).

**Grafik 13.** Trakea Dokusu iNOS Antikoru Boyaması Sonuçları

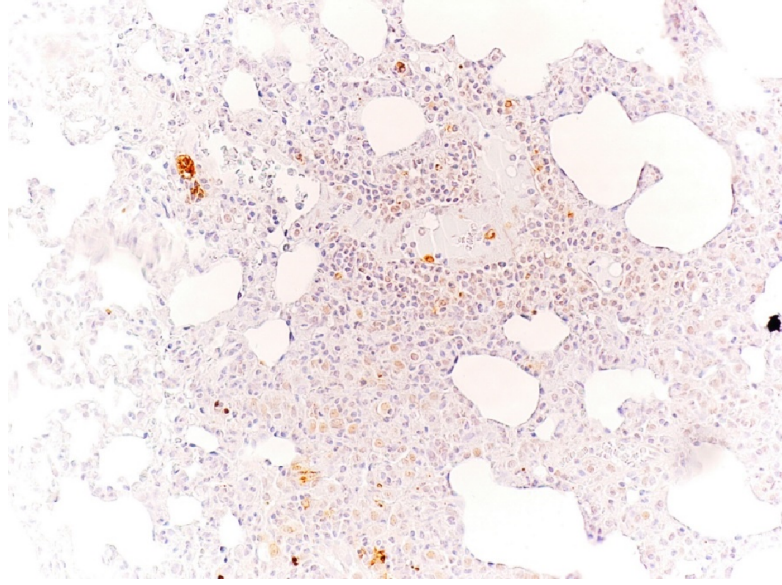


Trakea dokusundaki makrofaj sayıları (Grafik 13) arasında K grubu ile P24 ve P48 grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 grupları arasında istatistiksel anlamlı bir azalma yokken ( $p=0,061$ ), P48 grubuna göre POB48 ve POİ48 gruplarındaki makrofaj sayısı açısından istatistiksel anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p=0,001$ ).

### In Situ Apoptosis Detection Kit İncelemesi

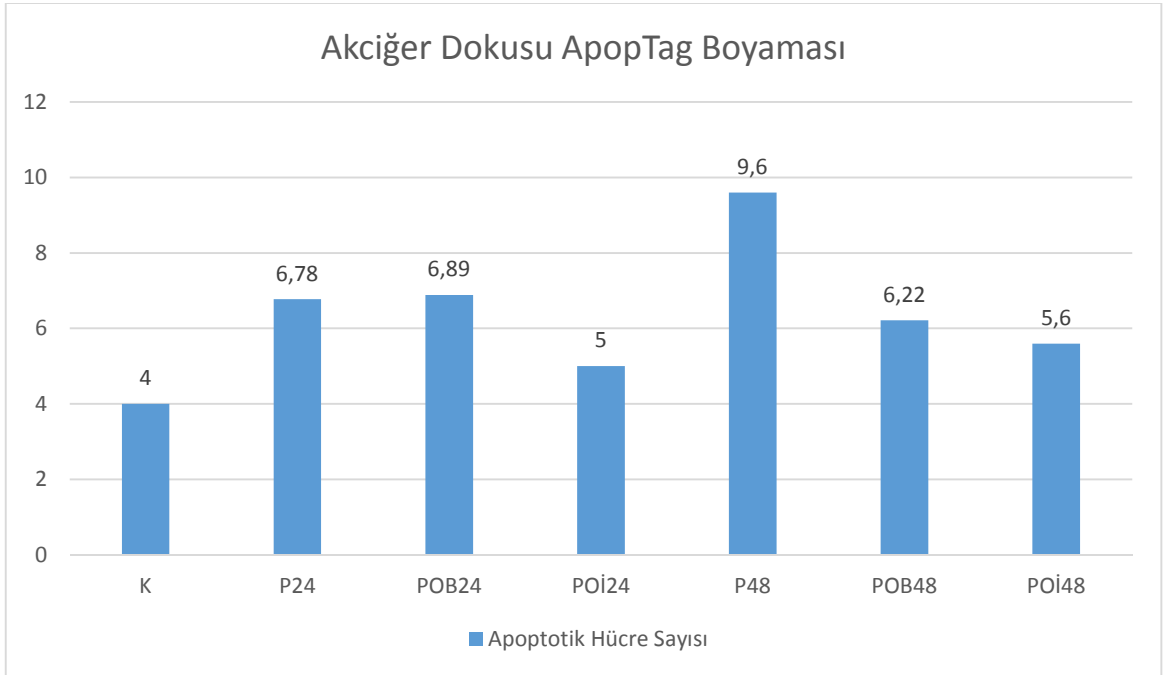
Akciğer ve trakea doku kesitlerine apoptozisin tespiti amacıyla TUNEL metodu (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) (in situ DNA uç işaretleme yöntemi) kullanıldı. Bu yöntem DNA kırıklarının in situ olarak

tanınmasını sağlar. Zıt boya olarak nükleusların boyanması için metil yeşil boyaması uygulandı. TUNEL için sadece koyu kahverengi nükleer boyamalar pozitif kabul edildi<sup>98,108-112</sup>. Resim 8’ de ApopTag ile koyu kahverengine boyanmış apoptotik hücreler görülmektedir.



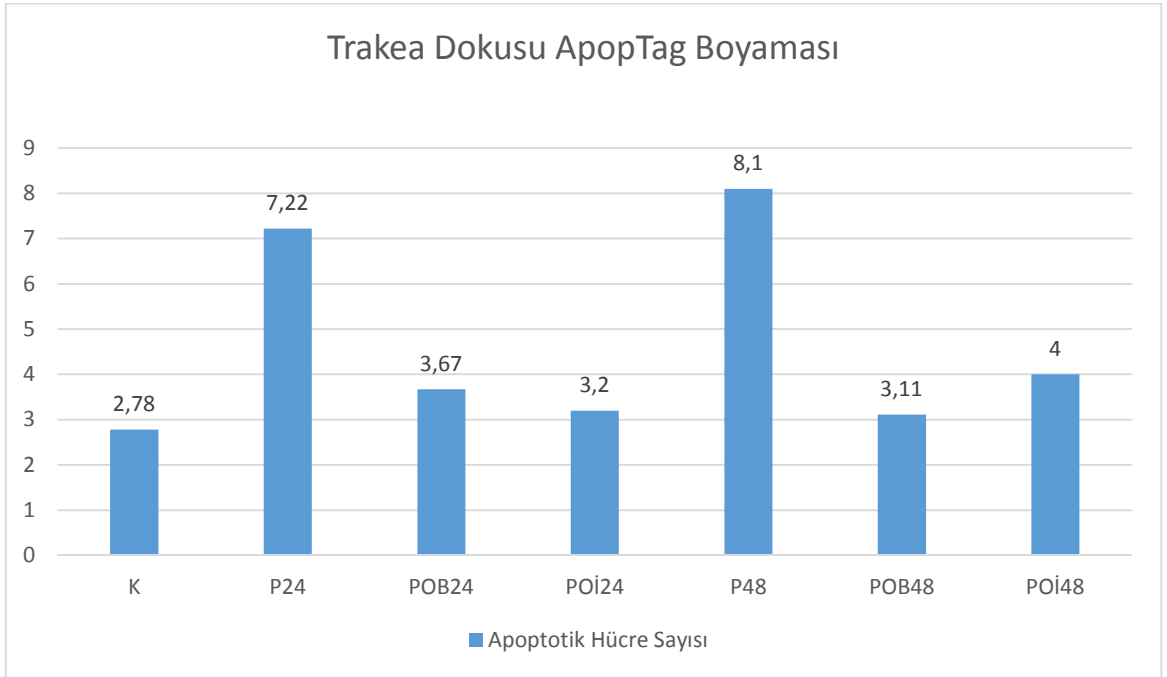
**Resim 8.** Akciğer dokusunda parankimal hücrelerde İn-situ Apoptosis Detection Kit'i ile nükleer boyama (Apop Tag, x20).

**Grafik 14.** Akciğer Dokusu ApopTag Boyaması Sonuçları



Akciğer dokusu apoptozis sonuçları (Bakınız Grafik 14) incelendiğinde, K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında apoptozise giden hücreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,031$  ve  $p<0,001$ ). P24 grubu ile POB24 grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,149$ ). P24 grubuna göre POİ24 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p=0,014$ ). P48 grubu ile POB48 ve POİ48 gruplarını karşılaştırdığımızda anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,001$  ve  $p<0,001$ ). Bu sonuçlar bize oleanolik asitin akciğer parankiminde özellikle 48. saatte apoptozisi azalttığını düşündürmektedir.

**Grafik 15.** Trakea Dokusu ApopTag Boyaması Sonuçları



Trakea dokusu apoptozis sonuçları (Bakınız Grafik 15) incelendiğinde, K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında apoptozise giden hücreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,001$  ve  $p<0,001$ ). P24 grubuna göre POB24 ve POİ24 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,012$  ve  $p=0,002$ ). P48 grubu ile POB48 ve POİ48 gruplarını karşılaştırdığımızda anlamlı bir azalma saptanmıştır (sırasıyla

$p < 0,001$  ve  $p = 0,001$ ). Bu sonuçlar bize oleanolik asitin trakeada apoptozisi azalttığını göstermektedir.



## TARTIŞMA

Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), her iki akciğeri de içine alabilen non-kardiyojenik özellikteki diffüz infiltrasyonla karakterize, oksijen tedavisine cevap vermeyen akut solunum yetmezliği sendromudur<sup>3,4</sup>.

2001-2008 yılları arasında Li ve ark. Mayo Clinic'te yoğun bakım hastalarından 8 yıllık bir retrospektif kohort çalışması yayınlamış olup insidans ALI ve ARDS'nin oranının yılda 81/100.000 vakadan 38/100.000 vakaya düştüğünü saptamışlardır<sup>11</sup>.

ARDS, yüksek oranda mortaliteye neden olmaktadır. 1967'de Ashbaugh ve arkadaşları 12 hastadan 7'sinin öldüğünü (%58) bildirmiştir<sup>11</sup>. ARDS mortalite oranı 1980'lerde %64-70 iken yeni çalışmalarda bu oranın %27-45 olduğu bildirilmiştir. Phua ve ark. 2009 yılında yaptığı çalışmaya göre travma hastalarında mortalite oranları nispeten (%10-15) düşükken, en çok sepsis, pnömoni ve aspirasyonda gözlenmektedir<sup>17</sup>. Mortalitenin yanı sıra ARDS'den sağ kalan hastaların taburculuk sonrası 2 yıllık takiplerinde sağlıkla ilişkili yaşam kalitesi azalmıştır ve fiziksel limitasyonları vardır. Yakın zamanlı bir çalışmada, taburculuk sonrası 5. yılda geçmiş ARDS hastalarında halen belirgin azalmış 6 dakika yürüme testi saptanmıştır<sup>20</sup>.

Akut solunum sıkıntısı sendromu yüksek morbidite, mortalite ve finansal bedelinden dolayı tedavisi konusunda birçok çalışma yapılmıştır<sup>24</sup>. ALI/ARDS tedavinin hedefi akciğer hasarını önleme, akciğer ödemi azaltma ve doku oksijenizasyonu sürdürmektir<sup>17</sup>. Birçok farmakolojik tedavi, pulmoner inflamasyonu azaltmak, sinyal yollarını düzenlemek ve oksidan/antioksidan dengesini sağlamak amacı ile denenmiştir. Buna rağmen şu ana kadar ALI ve ARDS için efektif bir tedavi bulunmamıştır<sup>91</sup>. Tedavide bir çok ilaç ve yöntem denenmiş olmasına rağmen bugüne kadar sağkalıma katkısı olduğu gösterilen tek girişim akciğer koruyucu düşük tidal mekanik ventilasyondur<sup>8,14,27,29</sup>.

Oleanolik asit, 120'den fazla bitkinin yaprak veya kökünden izole edilebilen ve gıda maddelerinde doğal olarak bulunan bir triterpenoiddir<sup>79-88</sup>. Oleanolik asit, 20 yıldan fazla süredir Çin' de kimyasal nedenlere bağlı karaciğer fibrozisi, kronik

karaciğer fibrozisi ve siroz gibi karaciğer rahatsızlıklarında hepatoprotektif olarak kullanılmaktadır<sup>87-89</sup>. Hepatoprotektif etkisinin yanında alternatif tıpta oleanolik asit içeren bitkiler antiinflamatuvar, hepatoprotektif, analjezi, kardiyotonik, sedatif ve tonik etkileri nedeni ile kullanılmaktadır. Bu terapötik etkilerin çoğu güncel bilimsel araştırmalarla doğrulanmıştır<sup>85</sup>. Oleanolik asitin lipopolisakkaritle (LPS) indüklenen akut akciğer hasarında akciğer mekaniklerine ve histopatolojisine etkisi incelenmiştir<sup>91</sup>.

Biz bu çalışmamızda intratrakeal peroksinitrit uygulanması ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde oleanolik asitin etkinliğini saptamayı amaçladık. Elde ettiğimiz sonuçlar genel olarak incelendiğinde intratrakeal peroksinitrit uygulanması ile 24. ve 48. saatte serum MDA, IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu artışlardan P24 grubundaki TNF- $\alpha$  düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olup, diğer değerlerdeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Akut akciğer hasarında normal inflamatuvar cevabın aşırı oluşmasının önemli bir kısmından lipid peroksidasyonu sorumludur. Oksidatif hasarın biyokimyasal göstergesi ise doku ve kan MDA düzeyleridir<sup>113</sup>. Akut akciğer hasarının incelendiği birçok çalışmada MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir<sup>114-121</sup>. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak peroksinitrit ile akut akciğer hasarı oluşturulan tüm gruplarda MDA değerinin artmış olduğu saptandı. Oleanolik asit tedavisi ile MDA düzeyinin istatistiksel anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır. Bununla birlikte oleanolik asitin bronkoalveolar lavaj yolu ya da intraperitoneal yolla uygulanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bunun bize oleanolik asitin oksidatif hasarı azaltıcı etkisi olduğunu gösterdiğini düşünmekteyiz.

Akut akciğer hasarı ve ARDS de proinflamatuvar etkinliği olan mediatörlerin yapımı ve etkilerini kompanse etmek için bir yandan da IL-4 ve benzeri antiinflamatuvar sitokinler yapılmaktadır<sup>122,123</sup>. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak P24 ve P48 gruplarında IL-4 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Oleanolik asit tedavisi verilen gruplarda IL-4 seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ancak

bronkoalveolar lavajla ve intraperitoneal yolla verilmesi arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

IL-10 da IL-4 gibi antiinflamatuvar bir sitokin olup proinflamatuvar mediatörlerin yapımı ve etkilerini kompanse etmek için ve sistemik inflamatuvar cevabın devamı için ALI ve ARDS de artmaktadır<sup>101,122,123</sup>. Çalışmamızda bizde akut akciğer hasarı oluşturulan gruplarda kontrole göre anlamlı olarak IL-10 seviyelerinde artış saptadık. Oleanolik asit tedavisi uygulanan gruplarda ise sadece PO148 grubunda P48 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanırken, diğer tedavi gruplarında akut akciğer hasarı oluşturulan gruplara göre istatistiksel anlamlı bir azalma saptanmıştır.

ALI/ARDS'de IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın diğer sitokinlerin aktivasyonu için başlangıç basamağında primer mediatör oldukları ve adezyon molekülleri ile lökosit kemotaksisinin aktivasyonunu sağladığı bildirilmiştir<sup>124-127</sup>. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak akut akciğer hasarı oluşturulan gruplarda IL-1 $\beta$  değerlerinde artış saptandı. TNF- $\alpha$  değerinde 24. saatteki artış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 48. saatteki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Oleanolik asit tedavisi ile IL1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  değerlerinde istatistiksel anlamlı azalma saptanmıştır. Bu sonuçların bize oleanolik asitin anti-inflamatuvar etkinliğini göstermekte olup, oleanolik asitin ALI/ARDS tedavisinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Akciğer hasar skorları incelendiğinde K grubuna göre P24 ve P48 grubunda orta ve ağır hasar skorlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Oleanolik asit tedavisi ile hasar skorlarında anlamlı bir azalma saptanmıştır. Trakeadaki hasar skorlarına bakıldığında yine K grubuna göre P24 ve P48 gruplarında hasar derecesinde anlamlı bir artış gözlenmektedir. Tedavi gruplarında hasar gruplarına göre skorlarda 24. saatte azalma saptanmış ancak anlamlı bulunmamışken, 48. saatteki azalma ise anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar bize oleanolik asitin akut akciğer hasarında normal histolojinin korunması üzerine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Hücrelerin akciğer inflamasyonuna cevabı, nitrik oksit ve superoksit üretimi ve proteolitik enzimler, reaktif oksijen radikalleri, reaktif nitrojen radikalleri ve inflamatuvar sitokinleri sitotoksik ve pro-inflamatuvar bileşenlerin salınımı ile

oksidan/antioksidan dengesizliğine yol açarak hücrel disfonksiyona neden olabilir. Bu oksidatif hasarlanma inflamasyonu devam ettirir ve alveolo-kapiller membrana zarar verir<sup>91</sup>. OA ve derivelerinin indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) değerlerini azaltarak ve superoksit dismutaz'ı (SOD) modüle ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği gösterilmiştir<sup>95</sup>. Bizim çalışmamızda akciğer dokusunda iNOS antikoru ile saptanan makrofaj sayıları K grubuna göre akut akciğer hasarı oluşturulan gruplarda anlamlı olarak artmış olarak bulundu. Oleanolik asit ile tedavi edilen gruplarda 24. saatte makrofaj sayılarında azalma saptandı ancak istatistiksel anlamlılık bulunmadı. 48. saatte tedavi gruplarındaki makrofaj sayıları hasar grubuna göre anlamlı olarak azalmış şekilde bulundu. Bronkoalveolar yol ve intraperitoneal yolla tedavi verilmesi arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar bize oleanolik asit tedavisi ile akut akciğer hasarında inflamasyonun azaltılabileceğini düşündürmüştür.

ALI/ARDS'de ilk 48 saat içerisinde apoptozis geliştiği klinik ve deneysel çalışmalar ile gösterilmiştir. Gelişen sistemik inflamatuvar yanıt ve artmış nötrofil akümülyasyonu ile nötrofillerden salınan toksik metabolitler apoptozis gelişiminin ilk basamağını oluşturmaktadır<sup>128-131</sup>. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak hem akciğer hem de trakea dokusunda akut akciğer hasarı oluşturulan ratlarda apoptotik hücre sayısının istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Oleanolik asit tedavisi uygulanan ratlarda ise apoptotik hücre sayısında anlamlı bir azalma saptanmıştır. Bu sonuçlar bize oleanolik asitin ALI/ARDS tedavisinde etkin olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada oleanolik asit tedavisinin makrofaj infiltrasyonunu azalttığı, proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak inflamatuvar prosesi düzenlediği, akciğer hasarını azalttığı, oksidatif hasarı azalttığı saptanmıştır. Sonuç olarak anti-inflamatuvar ve anti-oksidan bir ajan olan oleanolik asitin, halen etkin bir tedavisi olmayan ALI/ARDS'de yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Akut akciğer hasarı ve akut respiratuar distress sendromu ciddi morbidite ve mortalite oranlarına sahip olan ancak halen etkin tedavisi olmayan ve tablolardır. Hakkında birçok çalışma yapılmasına rağmen etkin bir tedavi yöntemi saptanmayan bu tablolar için yeni ilaçlar denenmektedir. İnflamatuar etkinliği saptanmış olan oleanolik asitin bu tabloların tedavisinde etkin olabileceği düşünülmektedir. Ancak standart tedaviye girebilmesi için daha fazla klinik çalışma gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Zambelli V, Di Grigoli G, Scanziani M, Valtorta S, Amigoni M. Time course of metabolic activity and cellular infiltration in a murine model of acid-induced lung injury. *Intensive Care Med* 2012; 38:694-701.
2. Artigas A, Bernard GR, Carlet J, and the Consensus Committee. The American-European Consensus Conference on ARDS, Part 2. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 157:1332-1347.
3. Yao S, Mao T, Fang W, Xu M, Chen W. Incidence and risk factors for acute lung injury after open thoracotomy for thoracic diseases. *J Thorac Dis* 2013; 5(4):456-460.
4. Lee JW, Fang X, Krasnodembskaya A, Howard JP, Matthay MA. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells for Acute Lung Injury: Role of Paracrine Soluble Factors. *Stem Cells* 2011; 29:913–919.
5. Raghavendran K, Napolitano LM. Definition of ALI and ARDS. *Crit Care Clin* 2011; 27(3):429-437.
6. Özyurt Y, Erkal H, Demirhan R, Arıkan Z. Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS). *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2002; 10:126-130.
7. Altıntaş ND, Topeli İskit A. Akut solunum sıkıntısı sendromu tanısı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2009; 57(2):228-236.
8. Yetkin U. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu ve Tedavi Şekilleri. *Van Tıp Dergisi* 2003; 10(4):118-124.
9. Bodur HA, Saygılı F, Doğanay L. ARDS Gelişen Olgularda Mekanik Ventilasyon. *Toraks Dergisi* 2007; 8(3):185-191.
10. Yurdakul AS, Atilla Ş, Ünsal Yıkılmazoğlu E, Yılmaz L. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu. *Solunum Hastalıkları* 2002; 13:142-152.
11. Raghavendran K, Napolitano LM. ALI and ARDS: Challenges and Advances. *Crit Care Clin* 2011; 27. doi:10.1016/j.ccc.2011.05.012.
12. Johnson ER, Matthay MA. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *Journal Of Aerosol Medicine And Pulmonary Drug Delivery* 2010; 23(4):243-252.

13. Flick MR. Pulmonary edema and acute lung injury. In: Murray JF, Nadel JA (eds). *Textbook of Respiratory Medicine*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:1725-1777.
14. Raghavendran K, Pryhuber GS, Chess PR, Davidson BA, Knight PR, Noter RH. Pharmacotherapy of Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Curr Med Chem*. 2008; 15(19):1911–1924.
15. Fanelli V, Vlachou A, Ghannadian S, Simonetti U, Slutsky AS, Zhang H. Acute respiratory distress syndrome: new definition, current and future therapeutic options. *J Thorac Dis* 2013; 5(3):326-334.
16. Hernu R, Wallet F, Thiollie`re F, et al. An attempt to validate the modification of the American-European consensus definition of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome by the Berlin definition in a university hospital. *Intensive Care Med*, 2013; 39(12):2161-2170.
17. Phua J, Badia JR, Adhikari NK. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time? A systematic review. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179:220-227.
18. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med*. 2005; 353:1685–1693.
19. Dellinger RP, Trzeciak SW, Criner GJ, et al. Association between inhaled nitric oxide treatment and long-term pulmonary function in survivors of acute respiratory distress syndrome. *Critical Care* 2012, 16(2):R36.
20. Abroug F, Ouanes-Besbes L, Dachraoui F, Ouanes I, Brochard L. An updated study-level meta-analysis of randomised controlled trials on proning in ARDS and acute lung injury. *Critical Care* 2011; 15:R6.
21. Köksel O, Özdülger A, Erçil M, et al. Effects Of N-Acetylcysteine On Oxidant-Antioxidant Balance In Oleic Acid-Induced Lung Injury. *Experimental Lung Research* 2004; 30:431–446.
22. Günen H, Kızkın Ö. ARDS'de mekanik ventilasyon prensipleri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2004; 52(2):199-206.
23. Villar J, Kacmarek RM. The American-European Consensus Conference definition of the acute respiratory distress syndrome is dead, long live positive end-expiratory pressure. *Med Intensiva*. 2012; 36(8):571-575.
24. Haddad LB, Manzano RM, Rossi FS, Freddi NA, Prado C, Rebello CM. Improvement in ARDS experimental model installation: Low mortality rate

- and maintenance of hemodynamic stability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2012; 65:102–106.
25. Yıldızdaş D, Horoz ÖÖ, Arslanköylü AE, Sağıroğlu M. Çocuklarda Akut Respiratuar Distres Sendromu, *ARŞİV* 2009; 18:241-259.
  26. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342:1301-1308.
  27. Walkey AJ, Wiener RS. Utilization Patterns and Patient Outcomes Associated with Use of Rescue Therapies in Acute Lung Injury. *Crit Care Med*. 2011; 39(6):1322–1328
  28. Kunter E, Işıtmangil T. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2010; 18(3):238-246.
  29. Deja M, Hommel M, Weber-Carstens S, et al. Evidence-based Therapy of Severe Acute Respiratory Distress Syndrome: an Algorithm-guided Approach. *The Journal of International Medical Research* 2008; 36:211-221.
  30. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, et al. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351:327-336.
  31. Hickling KG, Henderson SJ, Jackson R. Low mortality associated with low volume pressure limited ventilation with permissive hypercapnia in severe adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1990;16:372-377.
  32. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, et al. Beneficial effects of the open lung approach with low distending pressure in acute respiratory distress syndrome. A prospective randomized study on mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1835-1846.
  33. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G. Intermittent positive pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:880-884.
  34. Gillette MA, Hess DR. Ventilator-induced lung injury and the evolution of lung-protective strategies in acute respiratory distress syndrome. *Respir Care* 2001;46:130-148.



35. Orme Jr J, Romney JS, Hopkins RO, et al. Pulmonary function and health related quality of life in survivors of ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 18:29-34.
36. Schrciter D, Reske A, Glien C, Scheibner L, Josten C. Ventilation by the Open Lung Concept in spite of traumatic lung herniation. *Br J Anaesth* 2003; 90(3):385-387.
37. Roch A, Hraiech S, Dizier S, Papazian L. Pharmacological interventions in acute respiratory distress syndrome. *Annals of Intensive Care* 2013; 3(1):20.
38. Turner JS, Smith G, Theunissen D. Prone position for ventilation in patients with severe adult respiratory distress syndrome. *S Afr Med J*. 1994; 84(11):803-806.
39. Albert RK. The prone positioning acute respiratory distress syndrome: Where we are, and where do we go from here. *Crit Care Med* 1997;25:1453-1454.
40. Stocker N, Neff T, Stain S, et al. Prone positioning and low-volume pressure limited ventilation improve survival in patients with severe ARDS. *Chest* 1997; 11:1008-1011.
41. Albert RK. Prone ventilation. *Clin Chest Med* 2000; 21: 511-517.
42. Hill JD, O'Brien TG, Murray JJ, et al. Prolonged extracorporeal oxygenation for acute posttraumatic respiratory failure (shock-lung syndrome). Use of the Bramson membrane lung. *N Engl J Med* 1972; 286:629-634.
43. Lewandowski K. Extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory failure. *Crit Care* 2000; 4:156–168.
44. Hischl R, Pranikoff T, Wise C, et al. Initial experience with partial liquid ventilation in acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 1996; 275:383-389.
45. Cheng IW, Ware LB, Greene KE, et al. Prognostic value of surfactant proteins A and D in patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2003; 31(1):20-27.
46. Bernard GR, Luce JM, Sprung CL et al. High-dose corticosteroids in patients with the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1987;317:1565-1570.

47. Hooper RG, Kearn RA. Established ARDS treated with a sustained course of adrenocortical steroids. *Chest* 1990; 97:138-143.
48. Meduri GU, Headley AS, Golden E, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280:159-165.
49. Koh Y, Hurford WE. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: from bench to bedside. *Int Anesthesiol Clin* 2003; 41:91-102.
50. Lewis JF, Veldhuizen RA. The future of surfactant therapy during ALI/ARDS. *Semin Respir Crit Care Med* 2006; 27:377-388.
51. Bautin A, Khubulava G, Kozlov I, et al. Surfactant therapy for patients with ARDS after cardiac surgery. *J Liposome Res* 2006; 16:265-272.
52. Spragg RG, Lewis JF, Walrath HD, et al. Effect of recombinant surfactant protein C-based surfactant on the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351:884-92.
53. Gürsel G. Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS). *Yoğun Bakım Dergisi* 2002; 2(2):96-107.
54. Martin GS, Moss M, Wheeler AP, et al. A randomized, controlled trial of furosemide with or without albumin in hypoproteinemic patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2005; 33:1681-1687.
55. Mancuso P, Whelan J, DeMichele SJ, et al. Dietary fish oil and fish and borage oil suppress intrapulmonary proinflammatory eicosanoid biosynthesis and attenuate pulmonary neutrophil accumulation in endotoxic rats. *Crit Care Med* 1997; 25:1198-1206.
56. Gadek J, de Michele S, Karlstad M, et al. Effect of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and antioxidants in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1999, 27:1409-20.
57. Yılmaz İ. Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL yönemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005.
58. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Apoptozis>. Erişim tarihi: 31.07.2014.

59. Liener UC, Knöferl MW, Sträter J, et al. Induction of apoptosis following blunt chest trauma. *Shock* 2003; 20(6):511-516.
60. Rengarajan T, Rajendran P, Nandakumar N, Balasubramanian MP, Nishigaki I. Cancer preventive efficacy of marine carotenoid fucoxanthin: cell cycle arrest and apoptosis. *Nutrients* 2013; 5:4978-4989.
61. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Basic Pathology*. Çeviri: Uğur Çevikbaş. Temel Patoloji. 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2000:3-24.
62. Yalınay Çırak AM, İmir T. Apoptozis. *T Klin Tıp bilimleri* 1995; 15:319-326.
63. Rasul A, Khan M, Ali M, Li J, Li X. Targeting apoptosis pathways in cancer with alantolactone and isoalantolactone. *The Scientific World Journal* 2013;9 pages.
64. Öktem S, Özkan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001; 2(1):91-95.
65. Uto T, Sakamoto A, Tung NH, et al. Anti-proliferative activities and apoptosis induction by triterpenes derived from *eriobotrya japonica* in human leukemia cell lines. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14:4106-4120.
66. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 1972; 26:239-257.
67. Zeestraten ECM, Benard A, Reimers MS, et al. The prognostic value of the apoptosis pathway in colorectal cancer: a review of the literature on biomarkers identified by immunochemistry. *Biomarkers in Cancer* 2013; 5:13-29.
68. Dabbagh A, Rajaei S. The role of anesthetic drugs in liver apoptosis. *Hepat Mon.* 2013; 13(8):e13162.
69. Nolan B, Collette H, Baker S, et al. Inhibition of neutrophil apoptosis after severe trauma is NF $\kappa$ B dependent. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* 2000; 48(4):599-605.
70. <http://en.wikipedia.org/wiki/Peroxynitrite>. Erişim tarihi: 31.07.2014.
71. Soriano FG, Lorigados CB, Pacher P, Szabo C. Effects of a potent peroxynitrite decomposition catalyst in murine models of endotoxemia and sepsis. *Shock* 2011;35(6):560-566.

72. Ayan E, Kaplan MB, Köksel O, et al. Efficiency of lornoxicam in lung and trachea injury caused by peroxy nitrite. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2008;21:201-207.
73. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxy nitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87:315-424.
74. Köksel O, Cinel İ, Tamer L, Cinel L, Özdülger A. N-acetylcysteine inhibits peroxy nitrite-mediated damage in oleic acid-induced lung injury. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2004; 17:263-270.
75. Lange M, Nakao Y, Traber DL, et al. Role of different nitric oxide synthase isoforms in a murine model of acute lung injury and sepsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010; 399:286-291.
76. Cao Y, Fujii M, Ishiara K, Akiba S, Yasui H, Nabe T. Effect of a peroxy nitrite scavenger, a manganese-porphyrin compound on airway remodelling in a murine asthma. *Biol. Pharm. Bull.* 2013; 36(5):850-855.
77. Sadeghi-Hashjin G, Folkerts G, Henricks PA, et al. Peroxy nitrite induces airway hyperresponsiveness in guinea pigs in vitro and in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153(5):1697–701.
78. Li W, Das S, Ng K, Heng PWS. Formulation, biological and pharmacokinetic studies of sucrose ester-stabilized nanosuspensions of oleanolic acid. *Pharm Res* 2011; 28:2020-2033.
79. Zhang H, Zhang Y, Jiang Y, et al. Curative effects of oleanolic acid on formed hypertrophic scars in the rabbit ear model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012; 10 pages.
80. Wei YJ, Yan XQ, Ma L, Wu JG, Zhang H, Qin LP. Oleanolic acid inhibits hypertrophic scarring in the rabbit ear model. *Clinical and Experimental Dermatology* 2011; 36:528-533.
81. George VC, Kumar DRN, Suresh PK, Kumar RA. Apoptosis-induced cell death due to oleanolic acid in HaCaT keratinocyte cells a proof of principle approach for chemopreventive drug development. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2012; 13:2015-2020.
82. Ma C, Wu X, Masao H, Wang X, Kano Y. HCV protease inhibitory, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of oleanolic acid derivatives. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2009; 12(2):243-248.

83. Yan S, Huang C, WU S, Yin M. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines. *Toxicology in Vitro* 2010; 24:842-848.
84. Lucio KA, Rocha GG, Monçao-Riberio LC, Fernandes J, Takiya CM, Gattass CR. Oleanolic acid initiates apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines and reduces metastasis of a B16F10 melanoma model in vivo. *Plos One* 2011; 6(12):e28596.
85. Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 1995; 49:57-68.
86. Lu Y, Wan X, Xu Y, Liu J. Repeated oral administration of oleanolic acid produces cholestatic liver injury in mice. *Molecules* 2013; 18:3060-3071.
87. Chen L, Zhang Y, Kong X, Peng S, Tian J. Synthesis and biological evaluation of nitric oxide-releasing derivatives of oleanolic acid as inhibitors of HepG2 cell apoptosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2007; 17:2979-2982.
88. Wei J, Liu M, Liu H, et al. Oleanolic acid arrests cell cycle and induces apoptosis via ROS-mediated mitochondrial depolarization and lysosomal membrane permeabilization in human pancreatic cancer cells. *J. Appl. Toxicol.* (Published online in Wiley Online Library) 2012; (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jat.2725.
89. Hao J, Liu J, Wen X, Sun H. Synthesis and cytotoxicity evaluation of oleanolic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2013; 23:2074–2077.
90. Lee W, Yang E, Ku S, Song K, Bae J. Anti-inflammatory effects of oleanolic acid on LPS-induced inflammation in vitro and in vivo. *Inflammation* 2013; 36(1):94-102.
91. Santos RS, Silva PL, Oliviera GP, et al. Effects of oleanolic acid on pulmonary morphofunctional and biochemical variables in experimental acute lung injury. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2011; 179:129–136.
92. Feng L, Au-yeung W, Xu Y, Wang S, Zhu Q, Xiang P. Oleanolic acid from *Prunella vulgaris* L. induces SPC-A-1 cell line apoptosis via regulation of Bax, Bad and Bcl-2 expression. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2011; 12:403-408.

93. Wang X, Bai H, Zhang X, et al. Inhibitory effect of oleanolic acid on hepatocellular carcinoma via ERK–p53-mediated cell cycle arrest and mitochondrial-dependent apoptosis. *Carcinogenesis (Advance Access)* 2013; doi: 10.1093/carcin/bgt058.
94. Moreira VM, Salvador JAR, Simones S, Destro F, Gavioli R. Novel oleanolic vinyl boronates: Synthesis and antitumor activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2013; 63:46-56.
95. Santos RS, Silva PL, Oliveira GP, et al. Oleanolic acid improves pulmonary morphofunctional parameters in experimental sepsis by modulating oxidative and apoptotic processes. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2013; 189:484-490.
96. Zhang P, Li H, Chen D, Ni J, Kang Y, Wang S. Oleanolic acid induces apoptosis in human leukemia cells through caspase activation and poly(ADP-ribose) polymerase cleavage. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 2007; 39(10):803-809.
97. Janakiram NB, Indranie C, Malisetty SV, Jagan P, Steele VE, Rao CV. Chemoprevention of colon carcinogenesis by oleanolic acid and its analog in male F344 rats and modulation of COX-2 and apoptosis in human colon HT-29 cancer cells. *Pharmaceutical Research* 2008; 25(9):2151-2157.
98. Ayan E, Köksel O, Polat A, et al. The role of thoracic trauma in inflammatory responses, apoptosis and bacterial translocation following multiple traumas. *Ulus Travma Acil Cerr Derg* 2013; 19(6):491-499.
99. Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. İnterlökinler. *T Klin J Med Sci* 1998; 18:77-84.
100. Önder F, Keskin E. İnterlökinlerin biyolojik etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006; 9(1):127-138.
101. Salman T. Sepsiste yeni kavramlar ve tanımlamalar. *ANKEM Derg* 1998; 12(3):320-322.
102. Yıldar M. Deneysel renal iskemi/reperfüzyon hasarında splenektomi ve gadolinium chloride (GdCl<sub>3</sub>)'in koruyucu etkisi. *Uzmanlık tezi, Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, 2008.*
103. Özorun K, Tülek N, Düzgün N. Romatoid artrit (RA) ve sitokinler: interlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interferon gama (IFN- $\gamma$ ). *Ankara Tıp Mecmuası* 1994; 47:495-504.

104. Abbas OL. İskemiye ikincil damarlanma esnasında çentik sinyal yolağının rolü. Uzmanlık tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2012.
105. Harach HR, Jasani B, Williams ED. Factor VIII as a marker of endothelial cells in follicular carcinoma of the thyroid. *J Clin Pathol* 1983; 36:1050-1054.
106. Özen A, Ergün E, Öztaş E, ve ark. Farklı Siklus Dönemlerinde inek Oviduktunda Nitrik Oksit Sentaz Enzimlerinin (iNOS, eNOS, nNOS) immünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara, 2011.
107. Virtuoso LP, Harden JL, Sotomayor P, et al. Characterization of iNOS<sup>+</sup> Neutrophil-like ring cell in tumor-bearing mice. *Journal of Translational Medicine* 2012; 10:152.
108. Tunçdemir M, Öztürk M. Deneysel Diyabetik Nefropatide irbesartan'ın Apoptoz Üzerine Koruyucu Etkileri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2009; 40(1):15-22.
109. Tatlıcan S, Arıkök AT, Gülbahar Ö, Eren C, Ulukaradağ Z, Eskioğlu F. Psoriatik Epidermiste Keratinosit Apoptozisi Azalmıştır. *Türkderm* 2009; 43:167-170.
110. Kapucuoğlu N, Boduroğlu EC, Ercihan E, Aktepe F, Pak I. Lokal ileri meme karsinomunda kemoterapiye yanıtın apoptozisle ilişkisi. *Patoloji Bülteni* 2000; 17(1):14-17.
111. Çek M. Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi; ve yükselmiş apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL yöntemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul, 2005.
112. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008; 2:73-78.
113. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *Chest* 2002;122:314-320.
114. Notter RH. Lung surfactants. In Notter RH (eds). *Basic science and clinical applications*. New York: Marcel Dekker, Inc; 2000:444.

115. 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.
116. Willson DF, Chess PR, Notter RH. Surfactant for pediatric acute lung injury. *Pediatr Clin N Am* 2008;55:545-575.
117. Willson DF, Chess PR, Wang Z, Notter RH. Pulmonary surfactant: biology and therapy. In Wheeler DAWH, Shanley TA (eds). *Pediatric Critical Care Medicine: Basic Science and Clinical Evidence*. London: Springer-Verlag. 2007:453-466.
118. Lockett DJ, Coats T, Parr MJ. Aspiration in severe trauma: a prospective study. *Anaesthesia* 1999;54:1097-1098.
119. Raghavendran K, Huebschmann JC, Helinski JD et al. Superimposed gastric aspiration increases the severity of inflammation and permeability injury in a rat model of lung contusion. *J Surg Research* 2008;1-10.
120. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. In: Kayaalp SO (eds). *Tıbbi farmakoloji*. 8. baskı. Ankara: Feryal matbaacılık San. Tic. Ltd. Sti. 1998:274-281.
121. Laufs U, Liao JK. Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase *J Biol Chem*. 1998; 273:266-271.
122. Bouros D, Alexandrakis MG, Antoniou KM, et al. The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk for Acute Respiratory Distress Syndrome. *BMC Pulmonary Medicine* 2004; 4:6.
123. Meduri GU, Kohler G, Headley S, Tolley E, Stentz F, Postlethwaite A. Inflammatory Cytokines in the BAL of Patients With ARDS Persistent Elevation Over Time Predicts Poor Outcome. *Chest* 1995; 108:1303-1314.
124. Uhal BD, Joshi I, Hughes WF, Ramos C, Pardo A, Selman M. Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung. *Am J Physiol* 1998;275:1192-1199.
125. Jiang D, Liang J, Fan J et al. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nat Med* 2005;11:1173-1179.



126. Hoth JJ, Wells JD, Brownlee NA et al. Toll-Like receptor 4 dependent responses to lung injury in a murine model of pulmonary contusion. *Shock* 2008;30:527-537.
127. Zhang X, Shan P, Qureshi S et al.. Cutting edge: TLR4 deficiency confers susceptibility to lethal oxidant lung injury. *J Immunol* 2005;175:4834-4838.
128. Martin TR, Hagimoto N, Nakamura M, Matute-Bello G. Apoptosis and epithelial injury in the lungs. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:214-220.
129. 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.
130. Farley KS, Wang LF, Razavi HM et al. Effects of macrophage inducible nitric oxide synthase in murine septic lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;290:1164-1172.
131. Bem RA, Farnand AW, Wong V et al. Depletion of resident alveolar macrophages does not prevent Fas-mediated lung injury in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;295:314-325.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ADP</b>	: Adenozin difosfat
<b>ALI</b>	: Akut akciğer hasarı (acute lung injury)
<b>ARDS</b>	: Akut solunum sıkıntısı sendromu (acute respiratory distress syndrome)
<b>Ark.</b>	: Arkadaşları
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>BAL</b>	: Bronkoalveolar lavaj
<b>Bax</b>	: Bcl-2-ilişkili X protein
<b>BCGF-1</b>	: B hücre büyüme faktör 1
<b>Bcl-2</b>	: B-cell lymphoma 2
<b>Bcl-xL</b>	: B-cell lymphoma-extra large
<b>Bid</b>	: BH3 interacting-domain death agonist
<b>BSF-1</b>	: B hücre uyarıcı faktör 1
<b>cmH<sub>2</sub>O</b>	: Santimetre su
<b>Dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>ECCO<sub>2</sub>R</b>	: Ekstrakorporeal CO <sub>2</sub> uzaklaştırma (Extra-corporeal CO <sub>2</sub> removal)
<b>ECLS</b>	: Ekstrakorporeal yaşam desteği (Extra-corporeal Life Support)
<b>ECMO</b>	: Ekstrakorporeal membran oksijenasyonu
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>EVLW</b>	: Ekstravasküler akciğer sıvısı (Extravascular lung water)

<b>FiO<sub>2</sub></b>	: İnspiryum havasındaki fraksiyone oksijen konsantrasyonu
<b>H-E</b>	: Hemotoksilen eosin
<b>HMGCoA</b>	: 3-hidroksi-3-metil-glutaril koenzim A
<b>ICAM1</b>	: İntersellüler adezyon molekülü 1
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	: İnterferon Gamma
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	: İnterlökin 1 alfa
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterelökin 1 beta
<b>IL-2</b>	: İnterlökin 2
<b>IL-4</b>	: İnterlökin 4
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6
<b>IL-8</b>	: İnterlökin 8
<b>IL-10</b>	: İnterlökin 10
<b>İ/E</b>	: İnspiryum/Ekspiryum oranı
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>İP</b>	: İnteraperitoneal
<b>K</b>	: Kontrol grubu
<b>KCLIP</b>	: King Eyaleti Akciğer Hasarı Projesi (King County Lung Injury Project )
<b>Kg</b>	: Kilogram
<b>LIS</b>	: Akciğer hasarı skoru (lung injury skore)
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkaritler
<b>LTB4</b>	: Lökotrien B 4
<b>LV</b>	: Likit ventilasyon
<b>MDA</b>	: Malondialdehit

<b>Mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimol
<b>mmHg</b>	: Milimetre cıva
<b>MMP</b>	: Mitokondriyal membran potansiyeli
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik asit
<b>MV</b>	: Mekanik ventilasyon
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>Na-K-ATPaz</b>	: Sodyum-Potasyum ATPaz
<b>NF-κB</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>NMB</b>	: Nöromüsküler bloker
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NO<sub>2</sub></b>	: Nitrojen dioksit
<b>Nrf2</b>	: NF-E2-related factor 2
<b>p-Akt</b>	: Protein kinaz B
<b>P24</b>	: Peroksinitrit 24. saat grubu
<b>P48</b>	: Peroksinitrit 48. saat grubu
<b>p53</b>	: Tümör proteini p53
<b>PAF</b>	: Platelet aktive edici faktör
<b>PaO<sub>2</sub></b>	: Arteriyel oksijen parsiyel basıncı
<b>PBS</b>	: Phosphate-buffered saline
<b>PCO<sub>2</sub></b>	: Parsiyel karbondioksit basıncı
<b>PEEP</b>	: Ekspirasyon sonu pozitif basınç (Positive End Expiratory Pressure)
<b>PFC</b>	: Perfluorokarbon

<b>pH</b>	: Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen)
<b>POB24</b>	: Peroksinitrit ve bronkoalveolar lavajla oleanolik asit 24. saat grubu
<b>POB48</b>	: Peroksinitrit ve bronkoalveolar lavajla oleanolik asit 48. saat grubu
<b>POİ24</b>	: Peroksinitrit ve intraperitoneal oleanolik asit 24. saat grubu
<b>POİ48</b>	: Peroksinitrit ve intraperitoneal oleanolik asit 48. saat grubu
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit
<b>TBARS</b>	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (Thiobarbituric acid reactive substances)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>TUNEL</b>	: İn situ DNA uç işaretleme yöntemi (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)
<b>TXA2</b>	: Tromboksan A 2
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
<b>VEGF-A</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü A
<b>VEGFR1</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 1 (Vascular endothelial growth factor receptor 1)
<b>VEGFR2</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü2 (Vascular endothelial growth factor receptor 2)
<b>VEGFR3</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 3 (Vascular endothelial growth factor receptor 3)
<b>VILI</b>	: Ventilatör ilişkili akciğer hasarı (Ventilator Induced/Associated Lung Injury)
<b>V/Q</b>	: Ventilasyon/Perfüzyon oranı
<b>Vt</b>	: Tidal volüm

## ŞEKİLLER VE RESİMLER

<b>Şekiller</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b> (Hücre ölümü tipleri)	24
<b>Şekil 2</b> (Apoptozis)	25
<b>Şekil 3</b> (Apoptozis yollarının şematik gösterimi)	28
<b>Şekil 4</b> (Peroksinitrit anyonunun yapısı)	28
<b>Şekil 5</b> (Oleanolik Asit)	30
<b>Resimler</b>	
<b>Resim 1</b> Düzenli yapıda trakeal doku, minimal epitelyal dökülme, Skor-1 (H-E, x20). (K grubu)	45
<b>Resim 2</b> Trakeal dokuda, şiddetli derecede ödem ve epiteli de eden mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor-4 (H-E, x20). (P48 grubu)	46
<b>Resim 3</b> Düzenli yapıda akciğer dokusu, Skor-1 (H-E, x20). (K grubu)	46
<b>Resim 4</b> Akciğer dokusunda ödem şiddetli derecede mikst tıpte iltihabi hücre infiltrasyonu, Skor-4 (H-E, x20).(P24 grubu)	47
<b>Resim 5</b> Trakea dokusunda, epitel hücrelerinde VEGFR ile boyanma (VEGFR, x20)	48
<b>Resim 6</b> Akciğer dokusunda, Faktör 8 antijeni (FVIIIag) ile damar duvarlarında boyanma (FVIIIag, x20).	50
<b>Resim 7</b> Akciğer dokusunda makrofajlarda İNOS ile boyanma (İNOS, x20)	52

**Resim 8** Akciğer dokusunda parankimal hücrelerde İn-situ Apoptosis Detection Kit'i ile nükleer boyanma (Apop Tag, x20). 54

## TABLolar VE GRAFİKLER

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> ARDS için kullanılan skortlama sistemi: Lung Injury Score (LIS)	8
<b>Tablo 2</b> ALI ve ARDS'nin Tanımı (1994 Amerika-Avrupa Konsensüs Konferansı)	9
<b>Tablo 3</b> ARDS Berlin tanımı	10
<b>Tablo 4</b> ALI/ARDS Etiyolojisinde Rol Oynayan Hastalıklar ve Etiyolojik Faktörleri	11
<b>Tablo 5</b> ARDS patogenezi	12
<b>Tablo 6</b> Alveol-kapiller hasar	13
<b>Tablo 7</b> ARDS'nin patolojik evreleri	13
<b>Tablo 8</b> Pozitif end-ekspiratuar basınç (PEEP) uygulamasındaki diagramı	17
<b>Tablo 9</b> Apoptozis ve nekroz arasındaki farklılıklar	26
<b>Tablo 10</b> Biyokimya Sonuçları	38
<b>Grafikler</b>	
<b>Grafik 1</b> TBARS sonuçları	39
<b>Grafik 2</b> IL-4 sonuçları	40
<b>Grafik 3</b> IL-10 sonuçları	41
<b>Grafik 4</b> IL-1 $\beta$ sonuçları	42
<b>Grafik 5</b> TNF- $\alpha$ sonuçları	43
<b>Grafik 6</b> Akciğer Dokusu Hematoksilen Eosin Boyaması Sonuçları	44
<b>Grafik 7</b> Trakea dokusu Hematoksilen Eosin Boyaması Sonuçları	44



<b>Grafik 8</b> Akciğer Dokusu VEGFR2 Antikoru Boyaması Sonuçları	48
<b>Grafik 9</b> Trakea Dokusu VEGFR2 Antikoru Boyaması Sonuçları	49
<b>Grafik 10</b> Akciğer Dokusu Faktör VIII Antikoru Boyaması Sonuçları	50
<b>Grafik 11</b> Trakea Dokusu Faktör VIII Antikoru Boyaması Sonuçları	51
<b>Grafik 12</b> Akciğer Dokusu iNOS Antikoru Boyaması Sonuçları	52
<b>Grafik 13</b> Trakea Dokusu iNOS Antikoru Boyaması Sonuçları	53
<b>Grafik 14</b> Akciğer Dokusu ApopTag Boyaması Sonuçları	54
<b>Grafik 15</b> Trakea Dokusu ApopTag Boyaması Sonuçları	55