

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DUMAN İNHALASYON HASARINDA SELEKTİF OLAN VE
OLMAYAN NİTRİK OKSİTİN SENTAZ İNHİBİTÖRLERİNİN
AKCİĞER PARANKİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr. İdris ELMAS

**Plastik Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2007**

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DUMAN İNHALASYON HASARINDA SELEKTİF OLAN VE
OLMAYAN NİTRİK OKSİT SENTAZ İNHİBİTÖRLERİNİN
AKCİĞER PARANKİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. İdris ELMAS

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
DOÇ. DR. CENGİZ ÇETİN

ESKİŞEHİR
2007

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. İdris ELMAS'a ait "Duman İnhalasyon Hasarında Selektif Olan ve Olmayan Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörlerinin Akciğer Parankimi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma" adlı çalışma jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Doç.Dr.Cengiz ÇETİN Plastik Rek. Ve Estetik Cer. A.D	İmza
Üye	Doç.Dr.A.Aydan KÖSE Plastik Rek. Ve Estetik Cer. A.D	İmza
Üye	Yrd.Doç.Dr.Yakup KARABAĞLI Plastik Rek. Ve Estetik Cer. A.D	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun/...../2007
Tarih ve ../.. Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özcan BÖR
Dekan Vekili

TEŐEKKÖR

Bu çalıőmanın gerçekleőmesi sűresinde desteğini esirgemeyen tez danıőmanım Doç. Dr. Cengiz ÇETİN'e, rnekleerin değerlendirilmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı đretim Üyesi Prof. Dr. Cengiz BAYÇU ve Dr. Dilek BURUKOęLU'na, Biyokimya Anabilim Dalı đretim Üyesi Prof. Dr. zkan ALATAŐ'a ve Eskiőehir Osmangazi Őniversitesi Tıp Fakűltesi Plastik Rekonstrűktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapmıő olduğum uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimlerini aktararak yol gösteren sayın hocalarım Doç. Dr. A. Aydan KÖSE ve Yrd. Doç.Dr. Yakup KARABAęLI'ya; birlikte çalıőmaktan keyif duyduğum asistan arkadaşlarıma sonsuz sevgi ve őűkranlarımı sunarım.

ÖZET

ELMAS İ. Duman İnhalasyon Hasarında Selektif Olan ve Olmayan Nitrik Oksit Sentaz inhibitörlerinin Akciğer Parankimi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2007. Çalışmanın amacı, duman inhalasyon modelinde akciğer parankiminde ortaya çıkan hasarın biyokimyasal ve histolojik olarak değerlendirilmesi, selektif olmayan Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörü L-nitro-L-Arginin metilester (L-NAME) ve selektif indüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) inhibitörü Aminoguanidinin (AG) akciğer parankiminde ortaya hasara etkilerinin gösterilmesidir. Çalışmada 28 rat, 4 eşit gruba ayrıldı. 1.grup (n=7) duman ve tedavi uygulanmayan sham grubu (S), 2. grup (n=7) duman uygulanan kontrol grubu (K), 3. grup (n=7) toplam 50 mg/kg L-NAME uygulanan duman + L-NAME (D+L) grubu, 4. grup (n=7) toplam 40 mg/kg AG verilen duman + AG (D+AG) grubu olarak tasarlandı. Deney gruplarından 3. gruba intraperitoneal 15 mg/kg L-NAME, 4. gruba intraperitoneal 20 mg /kg AG uygulandıktan 20 dakika sonra kontrol ve deney gruplarına duman inhalasyon modeline uygun şekilde duman ve oksijen uygulandı. Ratlar normal oda havası ve oda ısısında takibe bırakıldı. 3.grup ratlara 3 saat sonra intraperitoneal 25 mg/kg L-NAME dozu ve 4.grup ratlara 12 saat sonra 20 mg/kg intraperitoneal AG dozu tekrarlandı. Tüm gruptaki ratlar 24 saat sonra sakrifiye edildi. Ratların akciğerlerinden biyokimyasal analiz için örnekler alınarak doku myeloperoksidaz (MPO) düzeyleri ölçüldü. Histolojik olarak akciğer dokusunda; bronşit, telenjektazi, intraalveolar septal konjesyon, intraalveolar hemoraji, intraalveolar sıvı birikimi, lökosit infiltrasyonu ve makrofaj artışı değerlendirildi. İstatistiksel verilere göre hem biyokimyasal hem de histolojik olarak; kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı fark bulundu. L-NAME ve AG uygulanan deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunurken deney grupları arasında ve deney grupları ile sham grubu arasında anlamlı fark bulunamadı. Bu sonuçlar, duman inhalasyonuna maruz kalma sonucu akciğer parankiminde ciddi hasar oluştuğunu, NO sentezinin azaltılmasıyla hasarın daha az oluştuğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İnhalasyon hasarı, Nitrik oksit, L-NAME, Aminoguanidin

ABSTRACT

ELMAS İ.: The Effects Of Selective and Non-Selective Nitric Oxide Synthase Inhibitors on Lung Paranchyme In Smoke Inhalation Injury: Experimental Study, Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Eskişehir, 2007. The aim of the study is to examine the injury on lung paranchyme in smoke inhalation model by using biochemical and hystological analysis and to show the effects of non-selective NOS inhibitor L-NAME and the selective NOS inhibitor AG inhalation injury. 28 rats were divided into 4 equal groups. Group 1 (n=7) is sham group (S) without smoke inhalation and medical treatment, group 2 (n=7) is control group (C) with only smoke inhalation and no medikal treatment, group 3 (n=7) is smoke inhalation + L-NAME (S+L) group which was given intraperitoneal 50 mg/kg L-NAME, Group 4 (n=7) is smoke inhalation + AG (S+AG) group which was given intraperitoneal 40 mg/kg AG . Twenty minutes after aplication of intraperitoneally 15mg/kg L-NAME to group 3 and 20 mg/kg AG to group 4. All rats on control and experimental groups underwent smoke inhalation and oxygen treatment due to the smoke inhalation model. Then rats left in normal room condition and temperature. The dose of 25 mg/kg L-NAME for group 3 repeated after 3 hours and dose of 20 mg/kg AG for group 4 repeated after 12 hours. All rats sacrificed after 24 hours. Samples from rats lungs were obtained for biochemical and histological analyses. Tissue MPO activity was measured and histologically the lungs are examined for bronchitis, telangiectasia, intraalveolar septal congestion, intraalveolar hemorrhage, intraalveolar fluid accumulation, leukocyte and macrophage infiltration. Statistical findings between control and sham groups are significantly different in both biochemically and histologically. Comparing experimental groups (L-NAME and AG groups) with the control group statistically there was a significant difference between the groups; on the other hand between the two experimental groups there was no difference. These results suggest that the lung paranchyme is severely damaged after smoke inhalation but this can be reduced by inhibition of NO synthase.

Key words: inhalation injury, NO, L-NAME, Aminoguanidine

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Termal Yaralanmalar ve Duman İnhalasyon Hasarı	3
2.2 İn hale Edilen Dumanın Etki Şekilleri	4
2.2.1 Direk Termal Hasar	4
2.2.2 Hipoksik Gaz İnhalasyonu İle Hasar Oluşumu	4
2.2.3 Lokal Toksinlerle Hasar Oluşumu	5
2.2.4 Sistemik Toksinlerle Hasar Oluşumu	5
2.3 Duman İnhalasyon Hasarını Etkileyen Faktörler	7
2.4 Duman İnhalasyonu Düşünülen Hastaların Değerlendirilmesi ve Tedavisi	7
2.4.1 Hastaların Değerlendirilmesi	7
2.4.2 Hastaların Takip ve Tedavisi	9
2.5 Duman İnhalasyonu Sonucu Doku Hasarı Oluşumu	10
2.5.1 Bronşial Kan Akımı Artışı	10
2.5.2 Aktive Olmuş Lökosite Bağlı Doku Hasarı	11
2.4.3 Akut Akciğer Yaralanmasında Poli ADP-Riboz Polimeraz'ın (PARP) Rolü	12
2.4.4 Akut Akciğer Yaralanmasında Hava Yolu Obstrüksiyonunun Rolü	13
2.5.2 Yanıkta Akciğer Yaralanmasında Nitrik Oksitin (NO) Rolü	14
2.6 Nitrik Oksit (NO)	15
2.6.1 Nitrik Oksidin Kaynağı	15
2.6.1.1.Biyokimyasal Yol	15
2.6.1.2 Hücre sel Kaynak	16

2.6.2 Nitrik Oksitin (NO) Metabolizması	17
2.6.3 Nitrik Oksitin (NO) Etkileri	18
2.6.3.1 Vasküler Etkileri	18
2.6.3.2 Havayolu Etkileri	20
2.6.3.3 İnflamasyondaki Etkileri	20
2.6.3.4 Nitrik Oksitin İnhalasyon Hasarında Rolü	21
2.6.4 Nitrik Oksit Sentezinin İnhibisyonu (NOS İnhibitörleri)	24
2.6.4.1 Selektif Olmayan NOS İnhibitörleri	24
2.6.4.2 Selektif Olan NOS İnhibitörleri	24
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1 Deney Protokolü	27
3.1.1 Duman Oluşturulması	27
3.1.2. Duman Uygulama Modeli	28
3.1.3 Deneyin Uygulanışı	28
3.2 Cerrahi Uygulanması	30
3.3. Örneklerin Değerlendirilmesi	31
3.3.1. Biyokimyasal Yöntem	31
3.3.1.1 Doku Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Belirlenmesi	31
3.3.2 Histolojik Yöntem	32
3.3.2.1 Işık Mikroskopi Çalışması	32
3.3.2.2 Elektron Mikroskopi Çalışması	32
3.3.3 İstatistiksel Verilerin Analizi	33
4. BULGULAR	34
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar	35
4.2. Histolojik Bulgular	35
4.3 İstatistik Sonuçları	49
4.3.1 MPO düzeyleri	49
4.3.2 Histolojik sonuçların değerlendirilmesi	50
5. TARTIŞMA	52
6 .SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
L-NAME	L-nitro-L-Arginin metilester
AG	Aminoguanidin
L-NMA	NG-Methyl-L-Arginine
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
MPO	Myeloperoksidaz
TNF	Tümör nekroz faktörü
μ	Mikron
ONOO ⁻	Peroksinitrit
O ₂ ⁻	Superoksit
RNS	Reaktif nitrojen ürünleri
Ca ²⁺	Kalsiyum
ARDS	Akut respiratuar distress sendrom
Ark.	Arkadaşları
CO	Karbonmonoksit
COHb	Karboksihemoglobin
Pa O ₂	Parsiyel oksijen basıncı
NOX	Azot oksit
COX	Siklooksijenaz
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃ ⁻	Nitrat
OH ⁻	Hidroksil radikali
FiO ₂	Havadaki oksijen oranı
PARP	Poli ADP-Riboz Polimeraz
TEM	Transmision elektron mikroskobu
Ppb	Parts per billion(milyarda bir)
NAD	Nikotinamid Dinükleotid

NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FMN	Flavin mononükleotid
ICAM-1	İntersellüler Adezyon Molekülü-1
ATP	Adenozin Trifosfat
Xe 133	Xenon 133
LTB4	Lökotrien B4
PAF	Platelet-activating faktör

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1 :Havayolu tıkanmasına bağlı oluşan pulmoner yetmezlik	14
Şekil 2.2 :NO kaynakları ve sentezi	19
Şekil 2.3 :Duman inhalasyon hasarında nitrik oksitin (NO) rolü	23
Şekil 2.4 :L-NAME ve Aminoguanidinin kimyasal formülleri	25
Şekil 3.1 :Duman inhalasyon hasarı oluşturmak için kullanılan düzenek	28
Şekil 3.2 : Gaz analiz cihazı (MRU 95/3 CD)	29
Şekil 3.3: Torakotomi yapılışı	30
Şekil 3.4: Trakea ve akciğerler (A: arkadan, B: önden görünüm)	31
Şekil 4.1: Duman odasındaki CO değerlerinin değişimi	34
Şekil 4.2: Duman odasındaki NOX değerlerinin değişimi	34
Şekil 4.3: Sham grubuna ait akciğerde normal görünümlü alveol duvar yapılarının ışık mikroskopik görüntüsü	36
Şekil 4.4: Sham grubuna ait akciğerlerin normal görünümlü bronşiyol epitel yapılarının ışık mikroskopik görüntüsü	37
Şekil 4.5: Kontrol grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	38
Şekil 4.6: Kontrol grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	39
Şekil 4.7: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	40
Şekil 4.8: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	41
Şekil 4.9: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	42
Şekil 4.10: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü	43
Şekil 4.11: Kontrol grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü	44
Şekil 4.12: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü	45
Şekil 4.13: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü	46
Şekil 4.14: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü	47
Şekil 4.15: Akciğer dokusunda MPO düzeyleri	49

Şekil 4.16: Akciğer dokusunda medyana gelen değişikliklerin gruplara göre dağılımı

51

TABLolar

	Sayfa
Tablo 2.1:Nitrik oksit sentezleyen enzimler ve bulunduğu yerler	17
Tablo 2.2: Nitrik oksidin akciğerdeki yararlı ve zararlı etkileri	21
Tablo 4.1: Doku MPO Düzeyleri	35
Tablo 4.2: Akciğer histolojik skor tablosu	48
Tablo 4.3: MPO Düzeyleri Karşılaştırılması	49

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnhalasyon hasarı; yangınlar, patlamalar gibi olaylar sonucu ortaya çıkan sıcak hava ve ortamdaki dumanın solunması sonucu akciğerlerde oluşan değişiklikleri içerir. Duman inhalasyonu, yanık yaralanmasına eşlik edebileceği gibi yüzeysel dokularda yanık olmadan da ortaya çıkabilir. Yanık yaralanmasıyla birlikte olduğu durumlarda, akut akciğer hasarı çok daha ağır olmakta ve daha şiddetli bir pnömoni tablosu görülmektedir (1). Ciddi inhalasyon hasarı varlığında ölümcül akciğer yetmezliği gelişme riski %50'nin üzerindedir (2).

Duman inhalasyonu sonucu ortaya çıkan hasar; inhale edilen havanın direkt termal etkisine (3,4), hipoksik gaz inhalasyonuna, inhale edilen dumanın içeriğindeki toksik maddelerin lokal etkisine (5) ve inhale edilen toksik maddelerin sistemik etkilerine (6,7) bağlı olarak ortaya çıkar. Dumana maruz kalma şekline ve süresine göre, bu olumsuz etkiler, solunum sisteminin çeşitli yerlerinde, farklı şiddetlerde hasar oluşturur (5).

Duman inhalasyon yaralanmalarında erken mortalite; CO intoksikasyonu ve inhale edilen havadaki O₂ miktarının azalmasına bağlı gelişmektedir (6,8). İn hale edilen havadaki CO oranının yükselmesi, karboksihemoglobin (COHb) seviyesini fatal düzeylere çıkarır. Yine inhale edilen havadaki O₂ oranının azalması hipoksi ile sonuçlanır. Bu iki olay, her ne kadar akut mortaliteyi belirlese de, akut solunum yetmezliğinin gelişmesine neden olan; ateletazi ve pulmoner ödem in asıl nedeni, duman içerisinde bulunan toksik kimyasal ajanlardır (8).

Duman inhalasyonu sonrasında; bronşial kan akımı artışı (9), pulmoner ödem (9,10), aktive olmuş lökositlerin artışı (1), serbest oksijen radikallerinin artışı (11-14), vasküler permeabilite artışı (15,16), hava yollarının şekilli partiküllerle yaygın şekilde kaplanması (1) gibi parankimal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu değişiklikler zincirleme şekilde birbirlerini etkiler ve sonuçta üst ve alt solunum yollarında hasar oluşur.

Duman inhalasyonu sonrasında meydana gelen değişikliklerin ortaya çıkmasında birçok sitokin rol alır. Bunların başında Nitrik Oksit (NO) gelir. Fizyolojik şartlarda olumlu etkisi ve düzenleyici rolü olan NO (17-19),

inhalasyon yaralanması ve yanıkta, birçok inflamatuvar sitokin gibi, kanda çok yüksek seviyelere ulaşır (1, 20).

Yanık oluşumundan hemen sonra, kanda ve yanık yarasında indüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) düzeyi yükselmekte ve NO üretimi çok artmaktadır (21). NO'in spesifik metabolik ürünleri olan Nitrit (NO_2^-) ve Nitratın (NO_3^-), plazma düzeylerinin normale göre 3-10 kat arttığı tespit edilmiştir (16,20).

NO, inhalasyon hasarı mekanizmalarının birçoğu için kilit role sahiptir. Vazodilatasyon (16,22), bronşial kan akımı artışı (1), permeabilite artışı (11) NO aracılığı ile ortaya çıkan değişikliklerdir.

NO'in, süperoksit anyonu (O_2^-) ile reaksiyonu sonucu reaktif metaboliti olan peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. Nitrik oksitin birçok zararlı etkisi, peroksinitrite (ONOO^-) bağlı olarak ortaya çıkar. İnflamatuvar süreçte NO ve süperoksit radikallerinin oluşumu epitel hasarına, medyatör salınımına ve hava yolu duyarlılığının artmasına neden olmaktadır (13,18,23). Sonuçta, çok yüksek düzeylere ulaşan NO, solunum sisteminde doku hasarı ve yetersiz gaz değişiminin ortaya çıkmasına yol açmaktadır.

Bu çalışmada; fizyolojik koşullarda birçok olumlu ve koruyucu etkileri olan, ayrıca inhalasyon hasarının oluşmasında da önemli role sahip olduğu gösterilen nitrik oksitin (NO) etkileri değerlendirildi. Bu amaçla, inhalasyon hasarı modelinde selektif olmayan nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-nitro-L-Arginin metilester (L-NAME) ile selektif indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibitörü Aminoguanidin (AG) kullanıldı (24).

Selektif olan ve selektif olmayan NOS inhibitörlerinin koruyucu etkilerini araştırmak ve aralarındaki farkı değerlendirmek için, histolojik olarak akciğerlerde meydana gelen değişiklikler incelendi.

Akciğerlerin histolojik olarak incelenmesinde, tespit edilen lökosit infiltrasyon oranları ve oluşan doku hasarı ile doku Myeloperoksidaz (MPO) aktivitelerinin paralel olması nedeniyle (25,26), doku hasarının değerlendirilmesinde, biyokimyasal test olarak, akciğer dokusunda MPO aktivitesinin ölçülmesi planlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Termal Yaralanmalar ve Duman İnhalasyon Hasarı

Duman inhalasyonu, ortaya çıkan şiddetli akciğer hasarı ve sistemik toksite nedeniyle, alevin neden olduğu termal yaralanmalarda en sık mortalite nedenidir. Termal yanıklı hastaların %32-38'ine eşlik eder. İnhalasyon hasarı varlığında mortalite oranı %45 ile %78 arasında değişmektedir. Yanığa bağlı ölümlerin %80'i inhalasyon yaralanması ile ilişkilidir (27).

Duman inhalasyonu hem üst, hem de alt solunum sisteminde hasar oluşturur. Üst solunum sisteminde, larinks ödemi ilk 2-8 saatte ortaya çıkar. Alt solunum sisteminde ise, derin parankimal hasar 12-96 saat sonra belirginleşir. Oluşan ilerleyici trakeobronşial ve pulmoner ödem, vasküler permeabilite artışının bir sonucudur (2). Fizyolojik durumda, bronşial arteriyel sistemle akciğerlere gelen kan, kardiak outputun %1'i kadardır. Ancak duman inhalasyon yaralanmalarında bu oran 8-10 kat artmakta ve pulmoner ödemle sonuçlanmaktadır (9).

Akut respiratuar distress sendromu (ARDS) termal yaralanmaların en önemli komplikasyonlarından biri olup, şiddetli akciğer yaralanması ile ortaya çıkan akut klinik tablodur. ARDS, kardiyojenik olmayan akciğer ödemi, şiddetli hipoksi ve akciğer kompliyansında azalma ile karakterizedir (28). Birçok faktör pulmoner fonksiyonu etkiler. Toplam vücut alanının % 30'undan fazlasını etkileyen yanık durumunda artmış kapiller permeabilite sadece yanan bölgede değil, akciğerler de dahil tüm vücutta ortaya çıkar. Vasküler permeabilite artışı ile dolaşımdan hücrelerarası alana büyük miktarlarda plazma geçişi olur. Bu da termal yaralanma ile birlikte olan inhalasyon hasarını artırır (15,29).

Dumanın içerisinde değişik miktarlarda bulunan toksik maddeler, hava yollarına yaptıkları etki ile polimorfonükleer lökositleri aktive ederek akut inflamatuar süreci başlatır (5,8). Aktive olmuş lökositler, duman inhalasyonu patofizyolojisinde önemli rol oynarlar (1).

2.2 İnhale Edilen Dumanın Etki Şekilleri

İnhale edilen duman 4 yolla hasar oluşturabilir (5).

- 1.** Direkt termal etki ile hasar oluşumu
- 2.** Hipoksik gaz inhalasyonu ile hasar oluşumu
- 3.** Lokal toksinlerle hasar oluşumu
- 4.** Sistemik toksinlerle hasar oluşumu

2.2.1 Direk Termal Hasar

Isının yaptığı hasar, kuru havanın ısıyı taşıma kapasitesinin düşük olması sebebi ile genelde vokal kortların üzerindeki dokularda gözlenir. Larinks altı anatomik yapılarda nadiren hasar oluşturur. Buna karşın, uzun süre ve yüksek akımlı dumana maruz kalınırsa, larinks altı dokularda da hasar oluşabilir. Ayrıca kuru havaya oranla ısıyı taşıma kapasitesi 4000 kat daha fazla olan sıcak buhara maruz kalınması durumlarında alt solunum yolları da ısıdan etkilenebilir (3).

Larinks üzeri bölgelerde mukoza, önemli miktarda su içermesi nedeni ile ısı kontrolü için oldukça büyük bir kapasiteye sahiptir. Direk termal etki ile su içeren mukoza su kaybına uğrar ve ısı kontrolüne etkisi ortadan kalkar. Üst solunum yollarında ortaya çıkan hasar mukozada eritem, ödem ve ülserasyonla karakterizedir. Ayrıca etkilenen alanlarda kanama ve obstrüksiyon riski vardır (5).

2.2.2 Hipoksik Gaz İnhalasyonu İle Hasar Oluşumu

Yangında, yangın söndürülene kadar ya da kişi ortamdaki uzaklaşana kadar geçen zamanda, ortamdaki oksijen miktarı tüketime bağlı olarak progresif olarak azalır. İnhale edilen havada oksijenin azalması, karbondioksitin artması hipoksi ile sonuçlanır ve akut mortaliteyi önemli ölçüde etkiler (8). Solunan havadaki oksijen oranı (FiO₂) yanan madde ve ortama göre %13 -15 oranına kadar düşebilir. %10 un altına inerse, dumana maruz kalan kişilerde, dispne ve sersemlik meydana getirir. %'5 in altına inerse; mental konfüzyon, uykuya meyil, koma ve hatta ölüm meydana gelir (5).

2.2.3 Lokal Toksinlerle Hasar Oluşumu

Dumanın içerisinde değişik miktarlarda bulunan akrolein, formaldehit, hidrojen klorit, sülfir dioksit ve nitrojen dioksit gibi toksik maddeler hava yolları hasarında rol oynar. Gaz değişiminin gerçekleştiği akciğer parankimindeki kapiller damar endoteli de duman inhalasyonundan etkilenir (5, 30).

Duman içerisindeki toksinler ve serbest oksijen radikalleri, damar endotel hücrelerinden proinflamatuvar olarak adlandırılan, histamin, platelet aktive edici faktör (PAF) ve lökotrien B4 (LTB4) gibi kemotaktik ajanların salınımına yol açarlar (30). Bu ajanlar ortama polimorfonükleer lökositlerin gelmesine ve akut inflamatuvar tabloya yol açar. Sonuçta mukoza hasarı, bronşial daralma, kapiller permeabilite artışı, lenfatik akım ve mukosilier aktivitede değişiklikler, surfaktan salgılayan Tip 2 pnömosit hasarı, hava yolu tıkanması ve atelektaziler ortaya çıkar. Bu olaylar zinciri, birbirleri ile ilişkili olup, akut solunum yetmezliğine giden tabloyu hazırlar. Semptomlar 24 saate kadar ortaya çıkar ve akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) tablosu gelişebilir. Daha geç dönemde sekonder akciğer enfeksiyonu görülebilir (5). Özet olarak, akut solunum yetmezliğinin gelişimine neden olan, hava yolu tıkanması, atelektazi ve pulmoner ödemin asıl nedeni, duman içerisinde bulunan toksik kimyasal ajanlardır (8).

2.2.4 Sistemik Toksinlerle Hasar Oluşumu

Sistemik toksisite yönünden iki gaz çok önemlidir; karbon monoksit (CO) ve siyanid (CN). Her iki maddenin inhalasyonu da yüksek mortalite ve morbidite riski taşır.

Duman inhalasyon yaralanmalarında erken mortalite CO intoksikasyonuna bağlı gelişmektedir ve yangınla ilgili ölümlerin %50 sebebidir (6). CO'in hemoglobine yüksek afinitesi vardır ve oksijene göre yaklaşık 200 kat daha yüksek afiniteye sahiptir. COHb (karboksihemoglobin) oldukça kararlı bir kompleks olup; oksihemoglobin düzeyinin ve dokulara oksijen taşınmasının azalmasına neden olur. Ayrıca, sitokrom oksidaz sistemine, özellikle sitokrom p450'ye kompetatif inhibisyon yaparak oksijenin

enerji üretiminde kullanılmasını engeller. CO aynı zamanda myoglobine de bağlanır ve kaslarda oksijen kullanımını azaltır (7).

Siyanid toksisitesi, hücresel oksijenasyonu azaltır; sitokrom oksidaz enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe eder ve doku anoksisine neden olur. Aerobik glikolitik yol inhibisyonu sonucu metabolizmayı alternatif anaerobik yollara iter ve sonuçta asit içerikli ürünler oluşur (7).

Siyanid intoksikasyonunda, hasarı sınırlamak için bazı antidotlar kullanılabilir. Nitratlar hemoglobin oksidasyonunu artırır ve methemoglobine çevirir, oluşan methemoglobin sitokrom oksidazla birleşerek siyanidin bu enzimi inhibe etmesini önler. Sodyum tiyosülfat, mitokondrial enzim rodanaz varlığında, siyanide sülfür grubu taşıyarak tiyosiyanat oluşturur ve tiyosiyanat idrarla atılır. Diğer yandan bir şelat olan hidrokobalamin siyanidle reaksiyona girip siyanokobalamin oluşturarak siyanidin toksik etkisini önler (31).

Sistemik toksinlerden etkilendiği düşünülen hastaların değerlendirilmesinde arteriyel kan gazı takibi önemlidir. Kan gazı örneklerinde parsiyel oksijen basıncında (PaO_2) düşme ve metabolik asidoz önemli kriterlerdir. CO intoksikasyonunda rutin arteriyel kan gazı analizinde PaO_2 , $SatO_2$ ve $PaCO_2$ seviyesi normal, hatta O_2 uygulaması yapılmış hastalarda PaO_2 seviyesi yüksek bulunabilir. Bu nedenle yaralanmadan hemen sonra ölçülen kan COHb düzeyi, CO intoksikasyonunun değerlendirilmesinde önemlidir. Yaralanmadan sonra tespit edilen COHb değerinin %15'in üzerinde olması CO intoksikasyonu tanısını koydurur (6). Oda havasında CO'ın yarılanma süresi, 240-250 dk iken, %100 O_2 tedavisi ile bu süre 40-60 dakikaya düşürülebilir. Ayrıca hiperbarik oksijen tedavisi ile nörolojik hasarı azaldığı gösterilmiştir (6,32). CO eliminasyonunun diğer bir yolu da entübe hastalara hiperventilasyon yaptırılarak respiratuar alkaloz oluşturmaktır. Hiperventilasyon, COHb yarılanma süresini de kısaltarak intoksikasyonun zararlı etkilerini azaltır (33,34).

2.3 Duman İnhalasyon Hasarını Etkileyen Faktörler

Duman inhalasyonu sonrası solunum sisteminde ortaya çıkan hasarın şiddeti, dumana ve hasara uğrayan organizmaya ait bazı faktörlere göre değişir. Bunlar:

1-) Duman içeriği

Gaz: Karbonmonoksit (CO), siyanit, asit ve aldehitleri içerir. Oksidanlar da gaz fazında bulunur. CO ve siyanit sistemik toksisite yaparken; asit, aldehit ve oksidanlar daha çok lokal hava yolu hasarı meydana getirir.

Partikül: Dumanın içerdiği partiküllerin oluşturduğu hasar, partikül büyüklüğüne ve hastanın nefes alma özelliğine bağlıdır. Yanan materyalin türüne göre partikül büyüklüğü 0,1 – 15 µm arasında değişmekle birlikte ortalama 3 – 5 µm'dir. 5 µm'nin üzerindeki partiküller nazofarenkste tutulur ve distale geçişleri önlenir. Daha küçük partiküller ise alveollere kadar ulaşabilir.

2-) Dumana maruziyet süresine ve solunan duman miktarına bağlı olarak hasarın derecesi değişir.

3-) Akciğerlerin hasar öncesi durumu

Başlangıçtaki ve geç dönemdeki hasarın derecesi çoğunlukla akciğerin hasar öncesi durumu ile ilişkilidir. Akciğerde kronik değişiklikleri olanlar (sigara içicileri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlar vb.), sağlıklı akciğeri olanlara oranla duman hasarına daha duyarlıdır (35).

2.4 Duman İnhalasyonu Düşünülen Hastaların Değerlendirilmesi ve Tedavisi

2.4.1 Hastaların Değerlendirilmesi

Tüm kapalı ortam yanıklı hastalarda duman inhalasyon hasarından şüphelenilmelidir. Yüz yanığı, oral mukoza ve burun kıllarının yanmış olması, kurumlu balgam, wheezing ve oskultasyonda ral bulunması, inhalasyon hasarını düşündüren ilk bulgulardır. Yine kapalı ortam yanığı olan bir hastada bilinç bulanıklığının olması karbonmonoksit intoksikasyonunu akla getirmelidir ve aksi ispatlanana kadar duman inhalasyon hasarının varlığı kabul edilmelidir (27).

Birçok tanı yöntemi inhalasyon hasarının değerlendirilmesinde yardımcı olmaktadır. Akciğer grafisi duman inhalasyonu şüphesi olan hastaların değerlendirilmesinde erken dönemde tanı için değil, takip için değerli bir tetkiktir. Erken dönemde, hatta 7. güne kadar, duman inhalasyon hasarı olsa dahi akciğer grafileri normal olabilir. Normal akciğer grafisi akut inhalasyon yaralanması olmadığını göstermez, ancak erken dönemde infiltrasyonların görülmesi şiddetli inhalasyon hasarının kanıtıdır ve prognozun daha kötü olacağını işaretleri kabul edilebilir. Akciğer grafisi subakut ve kronik dönemde ortaya çıkan infiltrasyonların ve sekonder akciğer enfeksiyonlarının değerlendirilmesinde ve takibinde faydalıdır (5) .

Üst solunum yollarının değerlendirilmesinde fiberoptik bronkoskopi standart bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Şüpheli inhalasyon yaralanması sonrasında ilk 18-24 saatte yapılan bronkoskopik değerlendirmede trakeobronşial sistemde eritem, hiperemi, ödem, mukoza nekrozu, kurumlu balgam gibi bulguların saptanması inhalasyon yaralanması tanısı lehinedir. Son yıllarda geliştirilen kromobronkoskopik yöntem ile bronkoskopinin güvenilirliği arttırılmıştır. Bu yöntemde; trakea ve bronş mukozaları %0.25'lik metilen mavisi çözeltisi ile irriga edilmekte ve hasarlı mukoza, yaralanmanın gerçek sınırlarını ve derinliğini gösterecek şekilde parlak mavi renkte boyanmaktadır (36).

Alt hava yollarının değerlendirilebilmesi amacı ile Xe133 akciğer ventilasyon sintigrafisi ve solunum fonksiyon testleri kullanılabilir. Sintigrafide havalanmayan akciğer alanları tespit edilebilir. Solunum fonksiyon testinde, pik akımın ve zorlu vital kapasitenin düşmesi, alt hava yolları hasarının değerlendirilmesinde önemlidir (27). Bu bulguların görülmesinden saatler sonra pulmoner ödem ortaya çıkar (9).

Solunum fonksiyon testleri meydana gelen hasarın fizyopatolojisini ortaya koyması yönünden yararlı olabilir. Tekrarlanan testler akciğer kapasitesindeki azalmayı ve havayollarındaki obstrüksiyonu ortaya koyar. Ancak; ağrı, zayıf hasta kooperasyonu, kas güçsüzlüğü, hastaya uygulanan sedatif ilaçlar gibi birçok faktör bu testlerin uygulanmasını güçleştirir (5).

2.4.2 Hastaların Takip ve Tedavisi

1-) Hava yolu güvenliği.

Özellikle üst solunum yollarında; inhalasyon yanığı riski olan hastalarda ödeme bağlı obstrüksiyona dikkat edilmeli, buna göre önlem alınmalı ve havayolu açıklığı sağlanmalıdır. Gerekirse entübasyon veya trakeostomi yapılmalıdır (5).

2-) Oksijen uygulanması

Inhalasyon yaralanmalarında ikinci önemli nokta oksijen tedavisi uygulanmasıdır. Yüz maskesi ile %100 O₂ uygulanması daha etkili olmaktadır. Oksijen uygulanması ile gaz değişimi artırılır, hipoksik gaz inhalasyonu ve CO intoksikasyonunun hasarlayıcı etkileri azaltılmış olur. Bu nedenle ilk girişim olarak %100 O₂ uygulanması ile CO atılımı hızlandırılmalıdır. Yüksek düzeylerde CO oranları söz konusu ise hiperbarik oksijen uygulaması etkili olacaktır (5,6).

3-) Pulmoner hijyenin sağlanması

Bu amaçla inspire edilen havanın nemlendirilmesi, endotrakeal aspirasyon, postüral direnaj ve aerosol şeklinde bronkodilatörler kullanılabilir. Akciğer ekspansiyonu için tüy, su ve mum alevi üfleme, eldiven şişirme gibi solunum egzersizleri uygulanır. Bu sayede bronşial kollapsa bağlı hava hapsi önlenir, karın duvarı kaslarının kasılma kuvveti artar, diyafram yükselmesi ve akciğer boşalması sağlanır. Tedaviye rağmen klinik gidişin bozulması ve oksijenizasyonun sağlanamaması durumunda entübasyon ve pozitif basınçlı ventilasyon (PEEP) uygulanabilir. Ancak bu uygulama halen tartışmalı olan bir tedavi yöntemidir (27).

4-) Sıvı dengesinin sağlanması

Tüm yanık yaralanmalarında, sıvı desteği mortalite yönünden önemlidir. Bunun yanında inhalasyon yaralanması varsa sıvı gereksinimi daha fazla olmaktadır. Çok fazla sıvı verilmesi akciğer ödemi artırır. Ancak intravasküler volüm ve doku perfüzyonunun sürdürülmesi için hesaplanan sıvı ihtiyacının karşılanması gereklidir (37).

2.5 Duman İnhalasyonu Sonucu Doku Hasarı Oluşumu

Duman inhalasyon hasarı oluşan hastalarda, yapılan destek tedavilerle azalmış olmakla birlikte, mortalite ve morbidite hala yüksektir. İdeal bir tedavi seçeneği de yoktur. Bunun en önemli sebebi patofizyolojisinin oldukça karışık olması ve henüz tam olarak aydınlatılamamış olmasıdır (15).

Duman inhalasyon hasarı patofizyolojisinde önemli faktörler:

1. Bronşial kan akımı artışı
2. Havayolu obstrüksiyonu
3. Aktive olmuş lökositler
4. PARP (Poli ADP-Riboz Polimeraz)
5. Nitrik oksit (NO)

Bunların dışında duman inhalasyon yaralanması patofizyolojisinde birçok faktör rol oynamaktadır. Sitokinler duman inhalasyon hasarında önemli rol oynar. Özellikle IL-1 ve IL-8 in duman inhalasyon hasarında arttığı gösterilmiştir ve patofizyolojide rolü olduğu düşünülmektedir. Çeşitli nörotransmitterler (bradikinin, nörokinin gibi) yüksek düzeyde salgılanmaktadır. Ancak, inhalasyon hasarında ne şekilde rol aldıkları gösterilememiştir. Eikosanoidler de (tromboksan, prostaglandinler ve lökotrienler) inflamatuvar mediatörler olarak duman inhalasyon hasarında ele alınmaktadır. Ayrıca spesifik olmayan siklooksijenaz (COX), spesifik siklooksijenaz (COX2) inhibitörleri ve tromboksan antagonistleri kullanılması inhalasyon hasarını azaltabilmektedir ve bunların da, inhalasyon hasarında etkileri olduğu düşünülmektedir (1).

2.5.1 Bronşial Kan Akımı Artışı

Akciğerin, bronşial ve pulmoner sistem olmak üzere iki ana kanlanma sistemi vardır. Pulmoner sistemle gelen kan kardiak outputa eşittir. Oysa bronşial sistemle gelen kan kardiak outputun %1'i kadardır. Ancak duman inhalasyon yaralanmalarında bu oran 8-10 kat artmakta ve pulmoner ödeme sebep olarak, akut akciğer hasarına katkıda bulunmaktadır (9,10). Bronşial sirkülasyondaki artışın mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte,

birçok mediatörün rol aldığı ve bunların en önemlisinin de, güçlü bir vazodilatör olan NO olduğu bilinmektedir (1,15).

Daha önce yapılan araştırmalarda, hem sadece duman inhalasyonu yaralanmasında (38,39), hem de yanıkla kombine duman inhalasyonu yaralanmasında pulmoner kapiller permeabilite artışının ortaya çıktığı gösterilmiştir. Ancak kombine yaralanmada, ödem çok daha şiddetli olmaktadır (40).

2.5.2 Aktive Olmuş Lökosit Bağı Doku Hasarı

Lökosit aktivasyonu, tüm inflamatuvar reaksiyonlarda olduğu gibi kemotaktik ajanlar tarafından gerçekleştirilir. Duman inhalasyonu sonrası, inhale edilen duman partikülleri alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bu fagositoz esnasında alveolar makrofajlardan lökosit kemotaktik ajanları (IL-8, platelet-aktive edici faktör, araşidonik asit metabolitleri vb.) salınır (41).

Lökosit sayısı azaltılmış hayvanlarda, duman inhalasyonuna bağlı akciğer ödemi ve vasküler permeabilite artışının büyük ölçüde önlenmesi (42), lökositler için kemotaktik olan mediatörlerin nötralizasyonu ile, inflamatuvar yanıtın ve duman inhalasyon hasarının azalmış olarak saptanması (43) lökosit aktivasyonun, inhalasyon hasarındaki rolünü göstermektedir.

Lökositler uyarılmalarının ardından, rolling, adezyon ve migrasyon basamaklarından geçerek damar dışına çıkar ve doku hasarını oluştururlar (44).

Rolling

Dolaşımdaki lökositler damar endoteli ile nadiren temasta bulunurlar. Ancak lökositlerin ve damar endotelinin inflamatuvar mediatörlerle uyarılması, lökositlerin özellikle de nötrofillerin aksial akımlarını kaybetmesine ve kendi etraflarında yuvarlanmalarına neden olur (rolling). Rolling olayı ile hızları düşen lökositler, birbirleri ile ve endotel hücreleri ile temasa geçer ve aralarında yumuşak adezyonlar gelişir; bu lökosit göçünün ilk basamağıdır (25,45,46).

Yuvarlanma olayını, aynı gruptan üç molekül yönlendirir. Bunlar lökositlerde bulunan L-selektin, endotel hücrelerinde yer alan P ve E-selektindir (47).

Adezyon

Akış hızları düşen ve endotel hücreleri ile yumuşak adezyon oluşturan lökositlerin damar dışına çıkışındaki ikinci basamak sıkı adezyondur. Adezyon, lökositlerde bulunan ve lökosit integrini olarak adlandırılan CD11/CD18 ile endotel hücrelerinde bulunan intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) arasında gerçekleşir (25, 48). Bu etkileşimi migrasyon takip eder.

Migrasyon

Sıkı adezyonu takiben lökositler, endotel hücreleri arasında açılan aralıklardan dokuya geçerler (44). Dokuya geçen lökositler salgıladıkları proteazlar ve toksik oksijen metabolitleri ile doku hasarı oluştururlar (2,14,49-54).

Aktive olmuş nötrofiller, bakterisidal rollerinin bir kısmı olarak zorunlu şekilde süperoksit (O_2^-) üretirler. Yüzeylerindeki NADPH oksidaz O_2^- oluşumundan sorumludur ve oluşan O_2^- doku hasarına neden olur (5). Aktive olmuş nötrofillerin kapillerlerde agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçları oluşturdukları bildirilmiştir (55).

2.4.3 Akut Akciğer Yaralanmasında Poli ADP-Riboz Polimeraz'ın (PARP) Rolü

Duman inhalasyonu, polimorfonükleer lökosit aktivasyonu ve NOS enzim indüksiyonu ile peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşumuna sebep olur (1).

Nitrozatif stres (nitrik oksitin reaktif ürünlerinin toksik etkileri) sırasında NO'den oluşan $ONOO^-$, DNA tek zincir kırılmasına neden olur. Bu durumda, DNA onarım enzimi olan Poli ADP-riboz polimeraz (PARP) aktive olur. PARP'ın aşırı aktivasyonu, substratı nikotinamid dinükleotiti (NAD^+) tüketir. Sonuçta glikoliz hızı, elektron transportu ve ATP oluşumu azalır. Hücresel enerji yokluğu, akut hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne yol açar (26,56). $ONOO^-$ bağımlı PARP aktivasyonu enerji azalmasına ve pulmoner epitelyal hücrelerde permeabilite artışına yol açar. Hücresel içeriğin ekstrasellüler alana salınması, inflamasyon reaksiyonunu daha da artırır (57).

Yapılan hayvan deneylerinde, PARP inhibisyonunun, akciğer dokusunda MPO aktivitesini baskıladığı (26), başka bir çalışmada da ATP düzeyindeki azalmayı önlediği ve akciğer disfonksiyonunu azalttığı gösterilmiştir (57).

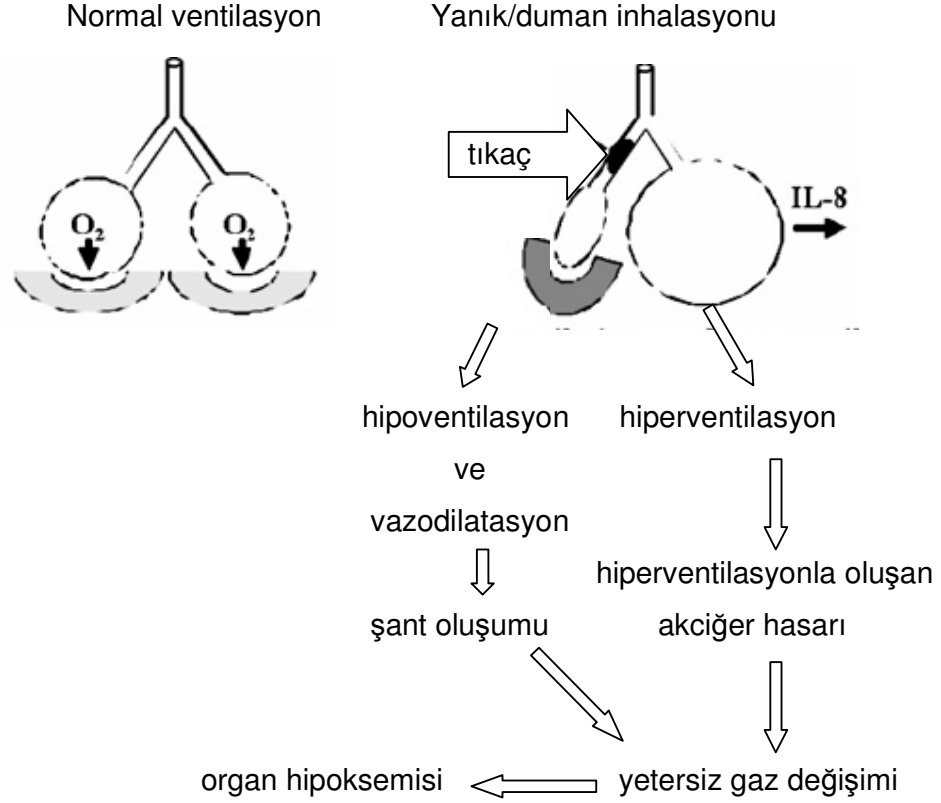
2.4.4 Akut Akciğer Yaralanmasında Hava Yolu Obstrüksiyonunun Rolü

Havayollarının şekilli partiküllerle yaygın şekilde kaplanması inhalasyon hasarında önemli bir sorundur. İnflamatuar eksuda ve mukus, epitelyal mukoza, hücresel debristen oluşan agregatlar hasarlanmış mukosilier aktiviteyle birlikte havayolu obstrüksiyonuna yol açar (58).

Termal yaralanmaya bağlı olarak yapımları artan NO, katekolaminler, histamin, tümör nekroz faktörü (TNF), interlökin 1- β , interlökin-6, endotelin-1, prostaglandinler gibi birçok mediatör vazodilatasyon ve yaygın permeabilite artışına yol açar. Kan akımı ve permeabilite artışı sonucu bronş ve bronşiolere sızan plazma; fibrinojen ve protrombin gibi koagülasyon faktörlerini içerir. (16,22,59). Diğer taraftan aktive olan nötrofiller endotel hücrelerini hasarlar. Epitelyal hücrelerden, alveoler makrofajlardan doku faktörü (faktör 3) ortaya çıkar. Doku faktörü koagülasyonun ekstrinsik yolunun başında bulunur ve alveoler alanda fibrin birikimine yol açar. Oluşan bu fibrinle beraber, infiltre olan nötrofiller, dökülmüş bronşial epitelyal hücreler ve mukus tıkaçıcı plağı oluşturur (1).

Duman inhalasyonu ile solunum yollarına ulaşan partiküller ve ortaya çıkan inflamasyon etkisiyle kolumnar epitel kaybı ve mukosilier aktivite yetersizliği ortaya çıkar (60). Mukus salgılayan goblet hücrelerin sayısı ve aktivitesindeki azalma, oluşan plağın havayolu tıkanmasını kolaylaştırır. Tıkanmış havayolu, atelektazi ve ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğu ile sonuçlanır (59). Tıkanmamış akciğer alanlarında hiperventilasyona bağlı hasar gelişir. Sonuçta, akciğerlerde yetersiz gaz değişimi organlarda yetersiz oksijenasyon meydana gelir (Şekil 2.1).

İnflamatuar eksuda ve mukus, epitelyal mukoza, hücresel debris ve fibrinin birleşmesiyle oluşan plağın tedavisinde, aerosol şeklinde uygulanan heparin (61) ve antitrombin gibi antikoagülanlar yararlı olmaktadır (62).



Şekil 2.1: Havayolu tıkanmasına bağlı oluşan pulmoner yetmezlik: Tıkanan alveollerde ventilasyonun azalması ya da hiç ventilasyonun olmaması sonucu pulmoner şantlar ortaya çıkar. Bu da ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğuna yol açar. Pulmoner yetmezlikte uygulanan mekanik ventilasyon, tıkalı olmayan alveollerde aşırı gerilmeye ve barotravmaya yol açar. Enkhbaatar ve Traber (15)'dan tercüme edilmiştir.

2.5.2 Yanıkta Akciğer Yaralanmasında Nitrik Oksit (NO) Rolü

Yapılan birçok deneysel ve klinik çalışmada yanık sonrası erken dönemde hem yanık bölgesinde hem de plazmada NO hemen her zaman yüksek bulunmuştur (22).

Fizyolojik düzeylerde birçok yararlı etkisi ve düzenleyici rolü bulunan NO, inhalasyon yaralanması gibi durumlarda, çok yüksek düzeylere çıkar ve hasarlayıcı etki göstermeye başlar (1).

2.6 Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO), tek bir azot ve oksijen atomunun kombinasyonu sonucu oluşan inorganik, renksiz, oksijen yokluğunda suda çözünebilen bir gazdır. 1987 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentaz keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin, NO olduğu tespit edilmiştir (63,64). NO, 1992 yılında yılın molekülü seçilmiştir (65). 1998 yılında da NO'nun vücutta pek çok önemli rolü olan bir mediyatör olduğunu gösteren araştırmacılar Nobel ödülünü almışlardır.

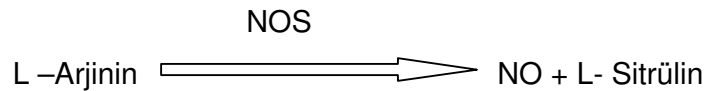
Nitrik oksit, membranları kolayca geçebilme özelliği olan oldukça lipofilik bir moleküldür (66).

NO, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle serbest radikal tanımına uymaktadır. Çünkü serbest radikal, bir veya daha fazla sayıda çiftlenmemiş tek elektron içeren bir molekül veya atom olarak tanımlanır. Diğer serbest radikaller, her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken, NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik moleküldür (67). Klinik olarak hava yollarındaki NO miktarındaki değişiklikler inflamasyonun göstergesi olarak, hastalığın ilerleyişinin ve tedavinin etkisinin gösterilmesinde kullanılabilir.

2.6.1 Nitrik Oksitin Kaynağı

2.6.1.1. Biyokimyasal Yol

Nitrik oksit, NOS ile katalizlenen reaksiyon sonucu yarı esansiyel bir aminoasit olan L- Arjininden sentez edilen endojen bir vazodilatördür (66).



NO sentezi ile sonuçlanan reaksiyon için oksijen ve birçok kofaktör gereklidir. Bunlar; nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), tetrahidrobiopterin, kalmodulin, nikotinamiddir (24, 66,68).

NO sentezi reaksiyonunu katalize eden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri iki gruba ayrılır. Bunlar:

1-Konstitutif (yapısal) NOS (cNOS). Yapısal NOS enzimleri buldukları lokalizasyona göre ikiye ayrılır.

- endotel hücrelerde bulunan, endotel NOS (eNOS)
- nöronlarda bulunan, nöronal NOS (nNOS)

2-İndüklenebilir NOS (iNOS)

İnsanlarda bulunan bu üç ayrı NOS enzimi her biri ayrı bir gen tarafından kodlanır (66). eNOS (endotel NOS) kromozom 7, nNOS (nöral NOS) kromozom 12, iNOS (indüklenebilir NOS) kromozom 17 'deki genler ile kodlanır (24,69-71).

nNOS ve eNOS; farklı fizyolojik etkilere yol açarlar (72). Bu enzimler, kalsiyum-kalmodulin bağımlıdır; enzim aktivasyonu için hücre içi kalsiyumun artması gerekir. Sürekli ancak az miktarda NO üretirler (1,70,71,73); eNOS tarafından sentezlenen NO vasküler permeabilite regülasyonunda rol alır (66). iNOS kalsiyum-kalmodulin bağımsızdır. Proinflamatuvar sitokin ve endotoksin ile aktive olur (1). iNOS'ın indüklenebilmesi için gen transkripsiyonu gereklidir. Bu yüzden NO üretimindeki artış saatler alır ve etkisi günler sürebilir. Uzun süreli aşırı miktarda NO sentezi, makrofaj ve diğer dokulara da zarar verir (73,74). Aktive olduğunda iNOS, cNOS'a göre bin kat daha fazla NO üretebilir (70).

2.6.1.2 Hücresel Kaynak

Nitrik oksitin akciğerlerdeki hücresel kaynakları epitel hücreleri, pulmoner arter ve venlerin endotel hücreleri, inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik nöronlar, düz kas hücreleri, mast hücreleri, mezotel hücreleri, fibroblastlar, nötrofiller, lenfositler ve makrofajlardır (75).

Üç NOS izoformu da akciğerde mevcuttur. Üst ve alt solunum yollarında bulunan parasempatik vazodilatatör sinirler (nNOS), endotel hücreler ve siliyalı mukoza hücrelerinde (eNOS) bulunur. iNOS, havayolu epitelinde, makrofajlarda, fibroblastlarda, nötrofillerde, endotelde ve vasküler düz kasta yer alır ve sitokinler, endotoksin ve reaktif oksijen

radikalleri tarafından indüklenir (76-78). NO sentezleyen enzimler, buldukları yerler ve regülasyonu Tablo 2.1’de özetlenmiştir

Tablo 2.1: Nitrik oksit sentezleyen enzimler ve bulunduğu yerler.

NOS izoformu	Salınım	Kaynak	Regülasyon	NO miktarı	kromozom
nNOS	Devamlı	Sinir hücreleri	Ca ⁺⁺ bağımlı	Düşük (pikomol)	12
iNOS	İndüklendiğinde	Makrofaj, damar düz kası, damar endoteli miyokard, endokard, hepatosit, immün hücreler, hava yolu epiteli	Sitokinler, endotoksin, oksidanlar tarafından indüklenme	Yüksek (nanomol)	17
eNOS	Devamlı	vasküler endotel hücreleri, trombositler, miyokard ve endokard, mast hücreleri, Nötrofiller	Ca ⁺⁺ bağımlı	Düşük (pikomol)	7
NO: nitrik oksit, NOS: nitrik oksit sentezleyen enzim, nNOS: nöral NOS, iNOS: indüklenebilen NOS, eNOS: endotel kökenli NOS.					

2.6.2 Nitrik Oksitin (NO) Metabolizması

Nitrik oksitin yarılanma ömrü çok kısadır. Normal koşullarda NO, solüsyonlarda “hem” grubu tarafından bağlanıp, hızla okside olarak, nitrit (NO₂⁻) ve nitrata (NO₃⁻) dönüşerek inaktive olur. Bu bağlanma, oksijene göre 3000 kat daha hızlı olmaktadır (79). Bu moleküllerin biyolojik aktiviteleri olmadığı düşünülmektedir. Ancak plazma nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) düzeyi ölçümleri endojen NO düzeyi hakkında bilgi edinmek amacıyla kullanılmaktadır (80,81).

İnhalasyon hasarı gibi inflamatuvar durumlarda aktive olmuş nötrofil ve monositler, süperoksit (O₂⁻) radikalini üretirler. NO endotelial hücre-lökosit

adezyon bölgesinde, ekstrasellüler boşluk ya da alveoler alanda (hemoglobin olmayan yerde) süperoksit (O_2^-) radikali ile reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) metabolitine dönüşür (1). Peroksinitrit dokularda çok hızlı yıkıldığı için tayin edilemez. Bu nedenle $ONOO^-$ 'in tirozin ile oksidasyonu sonucu oluşan 3-nitrotirozin, peroksinitrit seviyelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Akciğerin inflamatuvar hastalıklarında 3-nitrotirozin seviyelerinde artış bulunmaktadır (11).

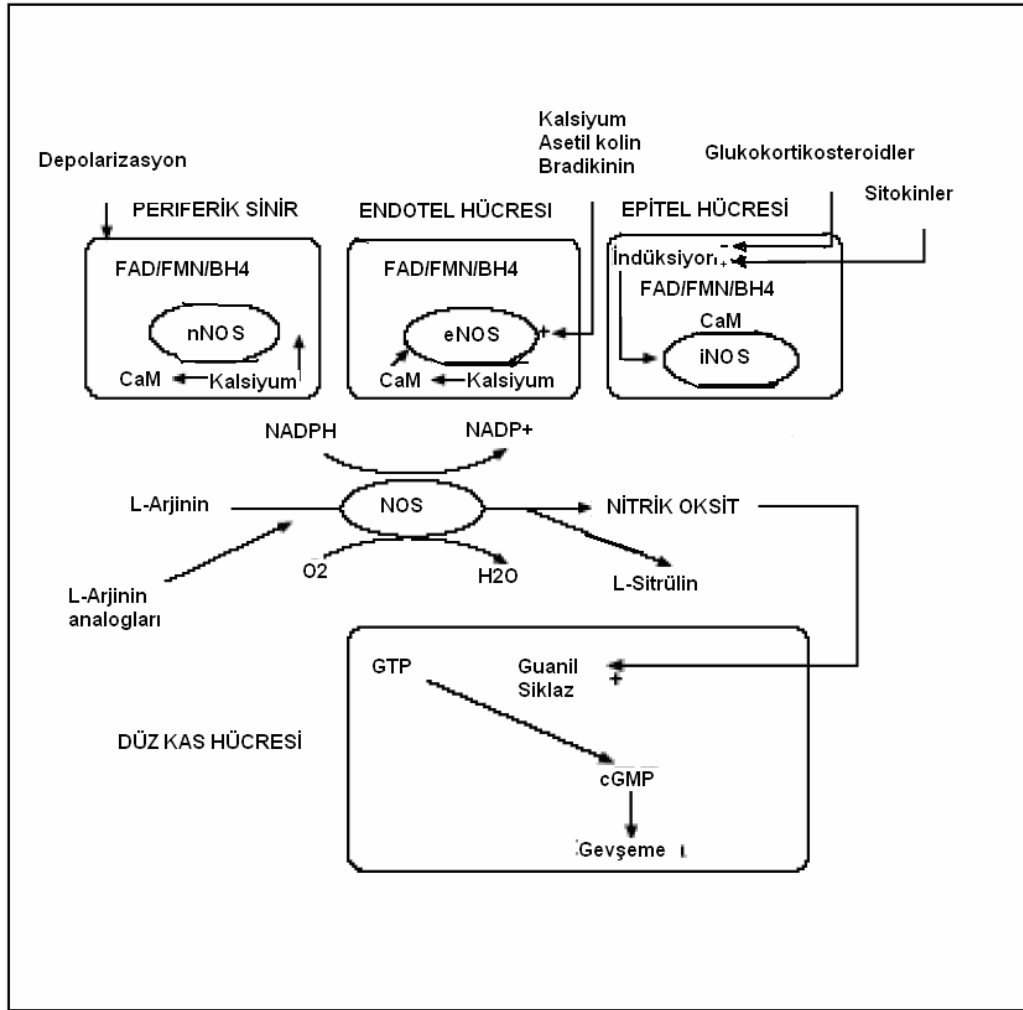
2.6.3 Nitrik Oksitin (NO) Etkileri

Nitrik oksit (NO), birçok organ sisteminde mevcuttur (63). Damarlarda gevşemeye sebep olması, ilk tesbit edilen fonksiyonu olmakla beraber, organizmada birçok biyolojik olayda görev alır. Kas, deri, nöronlar, gastrointestinal sistem, immün sistem, solunum sistemi, üriner sistemi ve dolaşım sistemi, gibi birçok organ sisteminde önemli fizyolojik ve patofizyolojik rolü vardır (82). Bazı durumlarda NO, ortamdaki süperoksit ve diğer reaktif oksijen radikallerini bağlayarak antioksidan özellik de göstermektedir. Bu açıdan bakıldığında belki de inflamatuvar süreçlerde NO artışı koruyucu bir antioksidan özellik olarak kabul edilebilir (18).

2.6.3.1 Vasküler Etkiler

Fizyolojik koşullarda; nitrik oksit oldukça güçlü bir vazodilatördür ve mikrosirkülasyon düzenleyicidir (1). Ayrıca, trombosit agregasyonunu inhibe ederek antitrombotik etki gösterir (1,18). Bu etkiler mikrosirkülatuar kan akımının devamı için önemlidir. Nitrik oksitin vasküler düz kaslarda gevşemeye yol açan etkileri açıkça gösterilmiştir (19). NO sentezi azaldığında pulmoner hipertansiyon saptanmaktadır. Aşırı NO varlığı sistemik hipotansiyona neden olabilir (18).

Patolojik durumlarda çok yüksek düzeylere çıkan NO, vazodilatasyon etkisi ile bronşial dolaşıma gelen kan miktarını artırır (18). Aynı zamanda vasküler permeabilitenin artışına da yol açarak hava yolu ödemeine neden olur (27,83).



Şekil 2.2: NO kaynakları ve sentezi: Nitrik Oksit sentezlenmesi ve etkisi: Nitrik oksit sentezleyen enzim (NOS) NADPH, oksijen, flavoproteinler (FAD, FMN), kalmodulin (CaM) ve tetrahydrobiopterinin (BH₄) varlığında L-arginini, sitrullin ve NO'ya dönüştürür. nNOS ve eNOS nöronal ve endotel hücrelerde yer alır ve enzim aktivasyonu için intraselüler kalsiyum artışına gereksinim duyar. iNOS kalsiyuma bağımlı değildir. Bütün NOS enzimleri arginin analoglarınca inhibe edilir. Nitrik oksit, guanil siklazı aktive eder ve hücre içinde cGMP düzeyini artırır ve bu ise düz kaslarda gevşemeyle sonuçlanır. Metin Özkan, İsmail Yüksekol (18)' dan değiştirilerek alınmıştır.

2.6.3.2 Havayolu Etkileri

Solunum havasında NO (sağlıklı bireylerde 5-10 ppb) ve bronkoskopik lavaj ve balgam örneklerinde NO metabolitlerinin saptanması, NO'nun hava yollarında sentezlendiğini gösteren bulgulardır (84-86).

NO, fizyolojik durumda; solunum yolları fonksiyonunun endojen modülasyonundan, pulmoner vasküler tonusun regülasyonuna, patofizyolojik durumlarda ise proinflamatuvar ve immunomodülatör mediyatör olarak çok çeşitli rollere sahiptir (17-19,66,67,87).

Hava yollarında, kolinerjik, α -adrenerjik, eksitatör nonadrenerjik nonkolinerjik (eNANK) olmak üzere bronkokonstrüksiyona neden olan üç nöral sistem ve β –adrenerjik ve inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik (iNANK) bronkodilatasyona yol açan mekanizmalar vardır. Proksimal hava yollarında ağırlıklı olarak iNANK nöral sistem aktif olarak mevcuttur ve bu sistem insan hava yollarındaki tek endojen bronkodilatör sistemdir (17).

Nitrik oksit, tıpkı vazodilatör etkisi gibi bronkodilatör etkiye de sahiptir. Bu etkisini, doğrudan bronş düz kas hücresi içindeki cGMP oranını artırarak ve dolaylı olarak da inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik (iNANK) nöronların bir nörotransmiteri olarak işlev yaparak göstermektedir. (17). NO'in akciğerde yaptığı yararlı ve zararlı etkiler Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

2.6.3.3 İnflamasyondaki Etkileri

Fizyolojik koşullarda NO; nötrofil adezyonu, sitokin üretimi için de güçlü bir inhibitördür (1,82). Nitrik oksit, oksidan özelliği nedeniyle bakterisid ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterir ve savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapar (88).

NO'in proinflamatuvar ve hasarlayıcı etkileri birçok mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. Ancak bu etkilerin çoğu, NO'in oksidatif metabolizması ile ortaya çıkan ürünlere bağlıdır. Bu ürünler topluca reaktif nitrojen ürünleri olarak adlandırılır. Bunlardan en önemlisi peroksinitrit (ONOO^-)'dir (11-13). Peroksinitrit (ONOO^-), oldukça güçlü doku hasarına yol açan bir maddedir, sitotoksik ve oksidatif özellikleri mevcuttur ve nitrik oksitin inflamatuvar etkilerinden sorumludur (11). İnflamatuvar süreçte NO ve

aktive nötrofiller tarafından ortaya çıkarılan süperoksit anyonu arasındaki reaksiyon sonucu oluşan peroksinitrit; epitel hasarına, medyatör salınımına ve hava yolu duyarlılığının artmasına neden olmaktadır (18,89).

Tablo 2.2: Nitrik oksitin akciğerdeki fonksiyonları.

Yararlı	Zararlı
1. Bronkodilatasyon 2. Arteriyel vazodilatasyon 3. Mukosilyer klirensin düzenlenmesi 4. Savunma sistemleri: Bakteri, virüs ve parazitlere toksik etki	1. Semptomlarda ve hava yolu obstrüksiyonunda artışa neden olan inflamatuvar yanıt 2. Bronşial vazodilatasyon, astımlı hastalarda görülen hava yolu hiperemisi 3. Post-kapiller venüllerdeki kan akımını artırarak hava yollarında ödem 4. Pulmoner damarlardaki vazodilatasyona bağlı ventilasyon-perfüzyon dengesizliği 5. Doğrudan veya submukozal bezlerdeki kan akışını artırarak mukus sekresyonunda artış 6. T-helper 2 (Th2) aktivasyonunda dolaylı artışa bağlı olarak astmatik inflamasyonda artış 7. Hava yollarında inflamatuvar hücrelerce oluşturulan süperoksit anyonları ile birleşerek peroksinitrit iyonları oluşturması

2.6.3.4 Nitrik Oksitin İnhalasyon Hasarında Rolü

NO, fizyolojik konsantrasyonlarda zararlı olmamakla birlikte, aşırı üretimin olduğu birçok yaralanmada doku hasarlanmasından sorumlu tutulmaktadır. Nitrik oksit, ARDS'nin ortaya çıktığı sepsis, multipl travma yanık ve inhalasyon yaralanması gibi durumlarda önemli role sahiptir (20,22,58). NO'in akciğer hasarında inflamasyonu başlatan bir mediatör olduğu, permeabiliteyi artırdığı gösterilmiştir (11,90).

Yanık yaralanmalarında hem yanık bölgesinde hem de plazmada NO hemen her zaman yüksek bulunmaktadır (22,29). NO üretimi çok yüksek düzeylere çıkarsa bir serbest radikal gibi fonksiyon görmeye başlar ve inflamasyona sebep olur. NO serbest radikal gibi reaksiyon verdiğinde

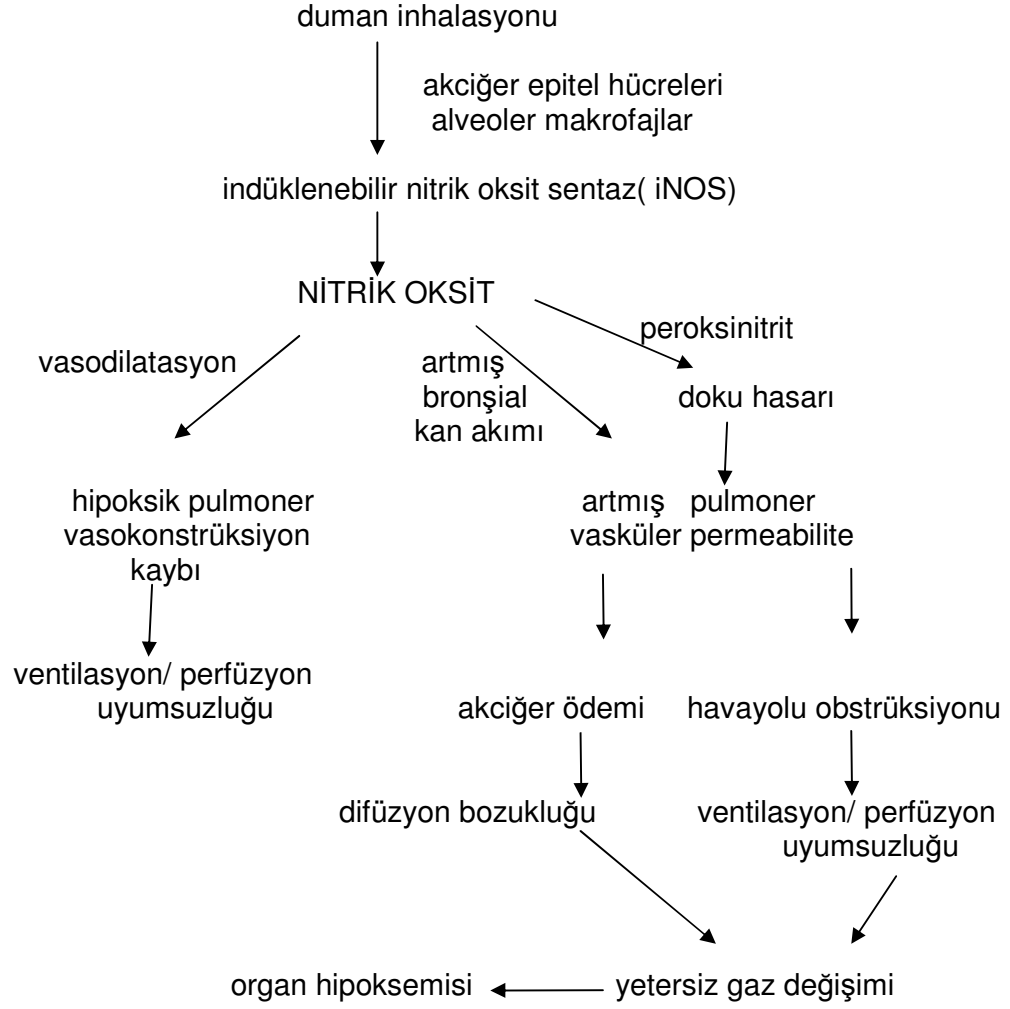
oldukça reaktiftir. Ayrıca inhalasyon hasarı gibi inflamatuvar durumlarda; lökositler aktive olur. Aktive olmuş nötrofil ve monositler, ekstrasellüler boşluk ya da alveoler alan gibi hemoglobin olmayan yerlerde süperoksit (O_2^-) radikalini üretirler (1). Artmış düzeydeki NO'nun, süperoksit (O_2^-) ile reaksiyonu sonucu peroksinitrit ($ONOO^-$) ortaya çıkar. $ONOO^-$ son derece güçlü oksidan olup; lipid peroksidasyonu, değişik moleküllerin nitrozilasyonu, Na^+ kanal etkileşimi, transizyonel moleküllerle etkileşim sonucu hücresel hasara katkıda bulunur (12,13,18). Sonuçta ortaya çıkan $ONOO^-$ formasyonu pulmoner vasküler permeabiliteyi artırır ve akciğer ödemeine neden olur. Böylece difüzyon kapasitesi azalır (1).

Serbest radikallerin etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte en önemli etkilerinden biri lipid peroksidasyonu yoluyla hücre membranının hasarı olarak görünmektedir. Serbest radikaller ayrıca yaygın inflamatuvar hasar oluşturabilirler ve doku hasarına yardım eden çeşitli inflamatuvar mediatörleri çekebilirler (91,92).

NO'nun kimyasal olarak aktivitesi yüksek değildir, ancak belli şartlar altında oldukça toksik ürünler oluşturabilir. NO ve süperoksitin reaksiyona girmesiyle peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit makrofajların antibakteriyel aktivitesini artırarak vücudun savunmasında rol alır. Ancak aşırı üretim olduğunda makrofajların sitotoksik ve sitostatik aktivitesine yol açar (23) Peroksinitritin, protein tiol grupları, tirozin kalıntıları ve fosfolipidlere ilgisinden dolayı reaktivitesi yüksektir. Bu nedenle protein ve lipitlerin oksidasyonuna neden olur (93,94).

Duman inhalasyon modelinde plazma NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri normalin 3-10 katına çıkar. Bu metabolitler endojen NO üretiminin arttığını göstermektedir. Ayrıca yanık ve inhalasyon yaralanmasından 24 saat sonra arjinin metabolizması normalin 3 katına çıkmaktadır. Bu da NO üretiminin arttığını göstermektedir. L-NAME gibi NOS inhibitörleri kullanıldığında L-arjinin metabolizması ve NO metabolitlerinin plazma düzeyi azalmaktadır (1,16,20,83).

Duman inhalasyonu sonrasında akciğer hasarının ortaya çıkışında nitrik oksit rolü Şekil 2.3'te özetlenmiştir.



Şekil 2.3: Duman inhalasyon hasarında nitrik oksit (NO)'in rolü: Hipoksik pulmoner vazokonstrüksiyonun kaybı ve pulmoner vasküler permeabilite artışı; ventilasyon/ perfüzyon uyumsuzluğu ve buna bağlı azalmış gaz değişimi ile sonuçlanır. Kazunari ve Daniel. (1)'den tercüme edilerek alınmıştır.

2.6.4 Nitrik Oksit Sentezinin İnhibisyonu (NOS İnhibitörleri)

NOS enzim inhibitörleri, selektif olmayan ve selektif olan NOS inhibitörleri olarak ikiye ayrılır.

2.6.4.1 Selektif Olmayan NOS İnhibitörleri

Tüm NOS enzimlerini çeşitli düzeylerde inhibe ederler. Bugüne kadar birçok değişik madde kullanılmıştır.

- 1-) L- nitro arjinin metilester (L-NAME)
- 2-) L-N-monometil arjinin (L-NMMA)
- 3-) N-Nitro-L-arjinin (NNA)
- 4-) 7-Nitroindazole (7-NI)
- 5-) N-amino L-arjinin (L-NAA)
başlıcalarıdır (95-98).

2.6.4.2 Selektif Olan NOS İnhibitörleri

- 1-) Aminoguanidin, iNOS selektif
 - 2-) S-metilisotioüre, iNOS selektif
 - 3-) L-canavanine, iNOS selektif
 - 4-) ONO-1714, iNOS selektif
 - 5-) 7-Nitroindazole monosodyum (7-NINA), nNOS selektif
 - 6-) N Propil L-arjinin, nNOS selektif
- NOS enzim inhibitörlerine örnektir (24,99,100).

N-nitro-L-arjinin metil ester (L- NAME) ve N-monometil-arjinin (LNMA) gibi arjinin analogları bütün NOS izotiplerinin yarışımıcı inhibitörleridir; aminoguanidin ve kortikosteroidler ise selektif olarak iNOS'ı inhibe ederler (24).

L-NAME'in, deneysel olarak oluşturulan, inflamasyon durumlarında ortaya çıkan hasarın önlenmesi için kullanıldığı ve lökositlerin dokuya geçişini sınırlayıp; doku hasarını azalttığı tesbit edilmiştir (46,101,102).

Duman inhalasyon hasarını önlemeye yönelik yapılan çalışmalar, inflamatuvar mediatör inhibitörlerinin ve serbest oksijen radikal antagonistlerinin kullanılmasına odaklanmaktadır (14). Bir serbest radikal olan peroksinitritin oluşumunu azaltan, NOS inhibitörlerinin uygulanması

endotelyal hasarı azaltmakta, vasküler permeabiliteyi sınırlamakta ve duman inhalasyon hasarında ortaya çıkan permeabilite değişimlerini önlemektedir (83).

Duman inhalasyon hasarı ile ilgili yapılan çalışmalarda, solunum sistemi hasarı; ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde, bronşit, peribronşial vasküler konjesyon, peribronşial ödem, atelektazi, alveolar hemoraji, pulmoner ödem, alveolar lökosit infiltrasyonu gibi histopatolojik değişikliklerin varlığı ile gösterilmiştir (103-106).

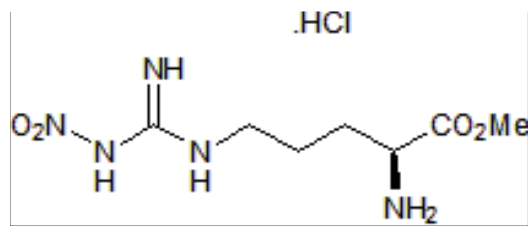
Solunum yollarındaki inflamatuvar hasar genellikle artmış NO üretimi ve NO bağımlı oksidatif stres artışı ile ilişkilidir. Biyokimyasal olarak; NO bağımlı oksidasyonun, sıklıkla peroksinitrit formasyonu ile olduğu varsayılmaktadır (11). Bunun yanında fagosit bağımlı hem protein myeloperoksidaz (MPO) ve eozinofilik peroksidaz (EPO) da inflamasyon durumunda ortaya çıkmaktadır (11). Lökositlerin dokuya geçerek doku hasarını başlattıklarının en önemli kanıtlarından biri doku myeloperoksidaz düzeyidir. MPO, lökositlerin primer granüllerinden (azurofil) salınır ve hidrojen peroksidin klorit iyonları ile dokuya zararlı hipoklonik asit oluşturma reaksiyonunu katalize eder (107).

Bazı deneysel çalışmalarda nitrik oksit inhibitörlerinin (L-NAME) sitotoksik nitrik oksiti azaltarak doku hasarını azalttığı göstermiştir (108).

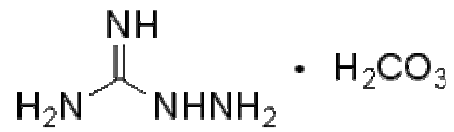
L-NAME (Sigma Chemical, St. Louis, MO) L-arjininin metil türevi olan ve selektif olmayan bir NOS inhibitörüdür (73). Aminoguanidin (Aminoguanidine Sigma Chemical, St. Louis, MO) L-arjininin metil türevi olmayan, nükleofilik bir hidrazin bileşiğidir ve spesifik bir iNOS inhibitörüdür. iNOS ekspresyonunu inhibe ederek NO üretimini azalttığı bilinmektedir (109).

iNOS inhibisyonu ile NO ve ONOO⁻ formasyonu oluşumu önlenir; böylece endotelyal hasar azalır ve vasküler permeabilite düzelir. Aynı zamanda ONOO⁻, PARP için güçlü aktivatör olduğu için dolaylı olarak PARP aktivasyonu ve buna bağlı epitelyal hücrelerde nekrotik değişiklikler de iNOS inhibisyonu ile önlenir (1).

N^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME):



Aminoguanidin bikarbonat:



Şekil 2.4 : L-NAME ve Aminoguanidinin kimyasal formülleri.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde yer alan Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (TICAM) gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu ve Deneysel Hayvanları Araştırmaları Alt Komisyonu'nun (Tarih: 23/03/07, onay no:2007/154) onayı alındı.

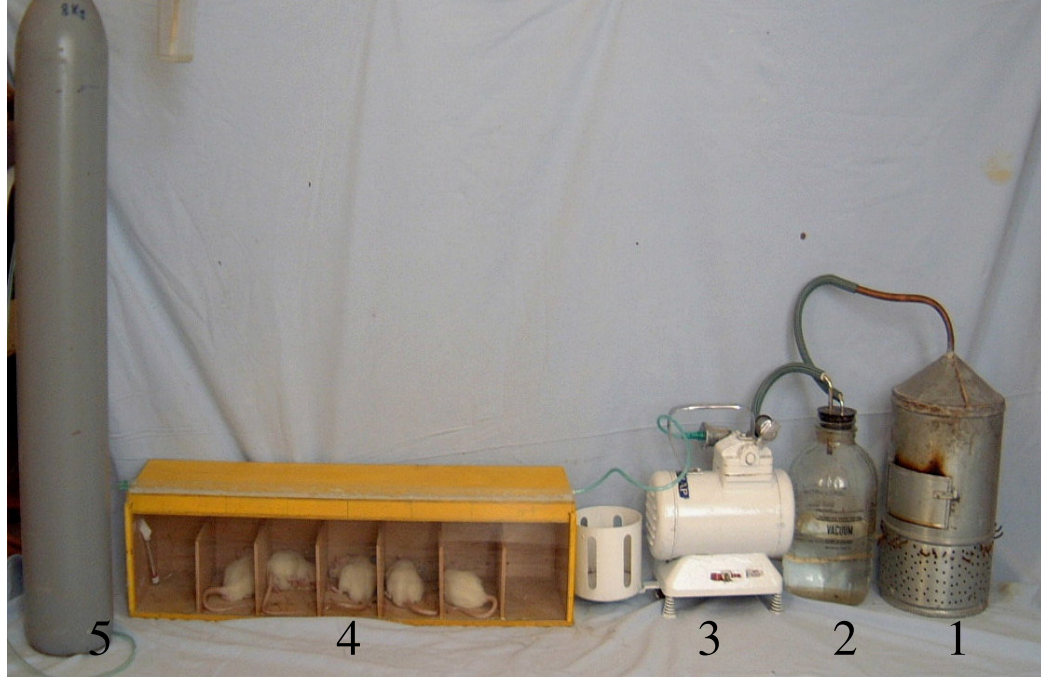
Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, 28 adet, 2 aylık dişi, Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar deney öncesi ve sonrasında, 17-19 °C sıcaklığa sahip, gün ışığından faydalanan bir laboratuvarda standart rat yemi (Oğuzlar Yem, Eskişehir) ve su ile beslendi.

Duman inhalasyon hasarı modeli oluşturmak için 70x20x16 cm boyutlarında, birbiri ile ilişkili 7 bölmeden oluşan, iç hacmi 22.4 lt olan duman odası yapıldı. Ön kısım açılabilir cam sürgü ile kapatıldı. Kutunun üst kısmına 2 cm yüksekliğinde dumanın hareketine olanak verebilen, bölme yapıldı. Ratların konulduğu bölümlere duman geçişini sağlamak için, her bölümde 2 adet olmak üzere toplam 14 tane havalandırma deliği açıldı. Ratların konulduğu bölmenin bir tarafına duman, diğer tarafına oksijen girişi yapıldı (Şekil 3.1).

3.1 Deney Protokolü

3.1.1 Duman Oluşturulması

Duman elde etmek için pamuk, silindirik şekilde çelikten yapılmış özel yanma odasında yakıldı. Oluşan duman, yanma odasının üstündeki konik yapıdaki bacadan bir aspiratör yardımı ile toplandı. Aspire edilen duman, deney standartizasyonu ve ısı hasarını önlemek amacıyla, aspiratör ile yanma odası arasına yerleştirilen içi su dolu cam fanustan geçirilerek soğutuldu ($17\pm 1^\circ\text{C}$). Aspiratöre gelen hava, borular ile duman odasına aktarıldı (Şekil 3.1).



- 1: Yanma odası 2: Cam fanus
3: Hava pompası 4: Duman odası
5: Oksijen

Şekil 3.1: Duman inhalasyon hasarı oluşturmak için kullanılan düzenek.

Çalışmada ratlar 4 eşit gruba ayrıldı. Tüm ratlar duman odasına konulmadan önce 25 mg/kg kas içi ketamin (Ketalar, Parke-Davis, Morris Plains, NJ) enjeksiyonu ile anestetize edildi.

3.1.2. Duman Uygulama Modeli

Sham grubundaki ratlar duman ve oksijen uygulanmaksızın duman odasında tutuldu. Diğer 3 gruptaki ratlara ise; Çetin ve ark'nın (4) uyguladığı protokole uygun şekilde duman ve oksijen uygulandı.

3.1.3 Deneyin Uygulanışı

Grup 1 (sham grubu n=7): Plasebo olarak peritin içi 1 ml %0.09 NaCL uygulandı. Duman ve oksijen verilmeksizin duman odasında 27 dk tutuldu.

Grup 2 (kontrol grubu n=7): Plasebo olarak periton içi 1 ml %0.09 NaCL uygulandı ve duman odasına konuldu. Deneklere, duman uygulama modeline göre, duman ve oksijen inhalasyonu uygulandı.

Grup 3 (deney grubu1 n=7): Deneklere duman odasına bırakılmadan 20 dakika önce 25 mg/kg dan L-NAME; 6 mg/ml olacak Şekilde %0,09 NaCL ile sulandırıldı ve 1 ml periton içi enjeksiyon yapıldı. 20 dakika sonra duman odasına bırakılıp, duman uygulama modeline göre, duman ve oksijen inhale ettirildi. Deney sonrası oda havasına bırakılan ratlara 3 saat sonra doz tekrar uygulandı (110).

Grup 4 (deney grubu2 n=7): Deneklere duman odasına bırakılmadan 20 dakika önce 15 mg/kg dan Aminoguanidin; 8 mg/ml olacak Şekilde %0,09 NaCL ile sulandırıldı ve 1 ml periton içine enjekte edildi. 20 dakika sonra duman odasına bırakılıp, duman uygulama modeline göre, duman ve oksijen inhale ettirildi. Deney sonrası oda havasına bırakılan ratlara 12 saat sonra doz tekrar uygulandı (111).

Çalışma sırasında, duman odasındaki gaz profili oranları ve ısı deŐiŐimleri monitorize edildi. Gaz profili ve ısı ölçümleri, gaz analiz cihazı (MRU 95/3 CD) ile yapıldı (Şekil 3.2).

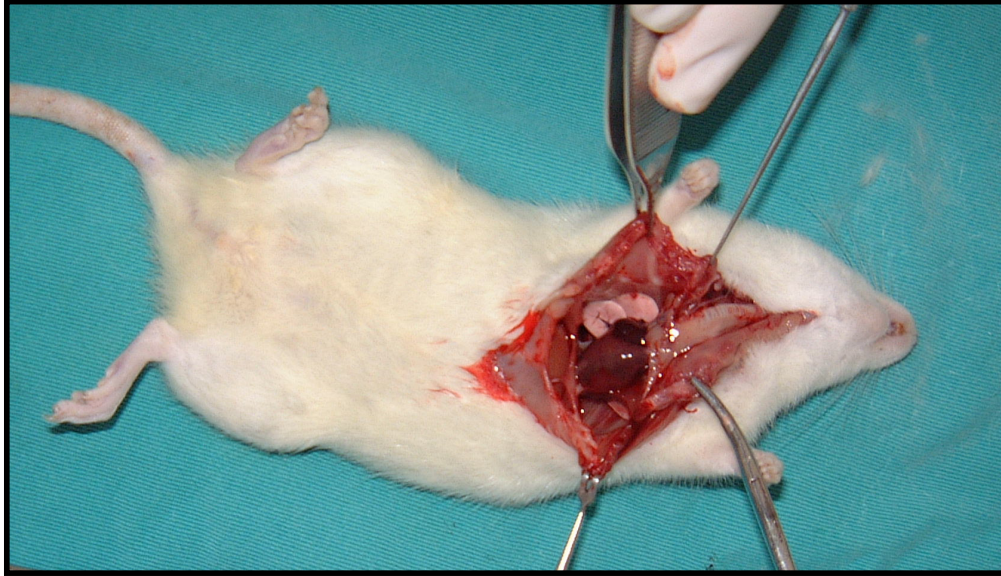


Şekil 3.2: Gaz analiz cihazı (MRU 95/3 CD).

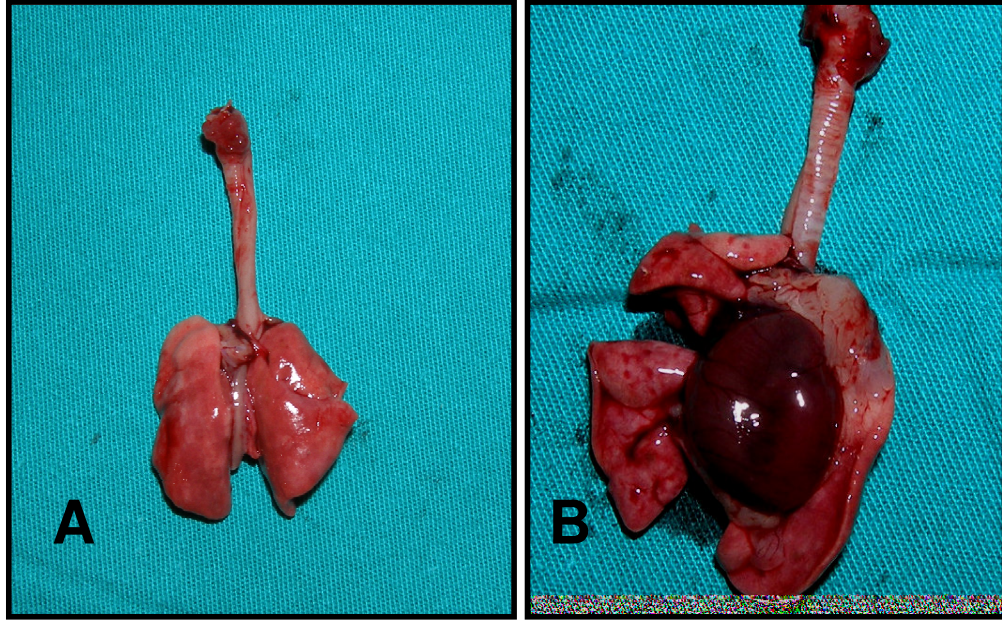
Deney sonrası, denekler duman odasından çıkarılarak normal oda ısısı ve atmosferine bırakıldı. 24 saat boyunca 17-19 °C sıcaklığa sahip, gün ışığından faydalanan bir laboratuarda standart rat yemi (Oğuzlar Yem, Eskişehir) ve su ile beslendi.

3.2 Cerrahi Uygulanması

Deneklere, 24 saat sonra 100mg/kg (kas içi) ketamin anestezisi altında yapılan karın orta hat insizyonu ile diyafragma ulaşıldı. Diyafragma insizyon yapıp akciğerlerin kollapsı sağlandı. Orta hattan sternum açılarak torakotomi yapıldı (Şekil 3.3). Trakea klemplenmeden hemen önce, servikal dislokasyon ile rat sakrifiye edildi. Akciğer trakea ile birlikte blok olarak çıkarıldı (Şekil 3.4). Deneklerin sağ akciğerlerinin alt loblarından örnekler alındı ve biyokimyasal tetkik için hazırlandı. Sol akciğerlerinin aynı bölgelerinden örnekler alınıp ışık mikroskopi ve elektron mikroskopisi için hazırlandı.



Şekil 3.3: Torakotomi yapılışı.



Şekil 3.4 : Trakea ve akciğerler (A: arkadan, B: önden görünüm).

3.3. Örneklerin Değerlendirilmesi

3.3.1. Biyokimyasal Yöntem

Tüm akciğerlerin sağ alt loblarından MPO aktivitesi ölçümü için doku örnekleri alınıp -80°C de saklandı. MPO aktivitesi Suzuki ve ark.'nın tarif ettiği yöntemin Demirpençe ve ark. tarafından modifiye edilmiş şekliyle değerlendirildi. Dakika başına değişen absorbansı ölçüldü ve dakika başına değişen absorbansın ürettiği enzim miktarı olarak belirlendi

MPO Aktivitesi U/ gr. Yaş doku cinsinden gösterilmiştir.

3.3.1.1 Doku Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Belirlenmesi

Küçük modifikasyonlar ile Suzuki metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler, 1:10 (w/v) 50 mM potasyum fosfat çözeltisi (pH: 7,4) kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenattan 1 ml Alınarak 15.000g. de santrifüj edilmiş ve çökelek 1ml pH: 6.0 olan Potasyum fosfat tamponuna (50 mM Potasyum Fosfat çözeltisi pH:6, %0.5 HETAB, 10mM EDTA) koyularak tekrar homojenize edilmiştir. Standart reaksiyon karışımı 500 µl pH:5.4 olan potasyum fosfat tamponu (160 mM potasyum fosfat çözeltisi

pH:5.4, %1 HETAB) 100 µl TMB (3-3'-5,5'-tetrametilbenzidin) 20 µl homojenat ve 330 µl su içermekteydi. Reaksiyon 37 °C'de 50 µl H₂O₂ ilavesi ile başlatıldı (%0.06). MPO katalizli TMB oksidasyonu 655 nm. de absorbandsaki artış kaydedilerek ölçülmüştür (112,113).

3.3.2 Histolojik Yöntem

Elektron ve ışık mikroskopisi için tüm ratlardan, sol akciğerlerin aynı bölgelerinden kesitler alındı,

3.3.2.1 Işık Mikroskopisi Çalışması

Deney hayvanlarından alınan akciğer örnekleri ışık mikroskopik inceleme için %10 nötral formalinde 24 saat tespit edildi. Daha sonra akciğerler 3-4 saat yıkandı. Yıkama aşamasından sonra dokuların yükselen dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyonları sağlandı. Alkol serilerinin ardından ksilole alınan doku örnekleri ksilolde şeffaflandırdıktan sonra parafine alındı. Dokuların 1'er saat süreyle 3 ayrı parafinde parafinizasyonları sağlanarak daha sonra dokular gömülerek bloklandı. Parafine gömülen bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı ve preparat haline getirilen örnekler histolojik inceleme için Hemotoksilen-Eosin (H-E) boyası ile boyandı. Işık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.3.2.2 Elektron Mikroskopisi Çalışması

Elektron mikroskopik inceleme için akciğerler ufak parçalara bölündü ve akciğer örnekleri, %2,5'luk Gluteraldehit fiksatifine alınarak ±4°C'de 24 saat fiksasyonları sağlandı. Fiksatiftten sonra dokular fosfat tamponla yıkandı ve %2 osmium tetroksit ile postfiksasyonları yapıldı. Alkol serilerinden geçirilen dokuların dehidratasyonları sağlandı. Daha sonra propilen oksit ile muamele edilen parçalar CY-212 araldite gömülerek bloklandı. Her bir bloktan 700-800 nm olacak şekilde yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve ışık mikroskopunda ön incelemeleri yapıldı. Daha sonra bu örneklerden yer tayin edildi ve ince kesitler için trim yapıldı. Trimlenen dokulardan 70 µm ince

kesitler alındı ve 200 mesh bakır gritlere konuldu. İnce kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak JEOL-1220 Transmisyon Elektron Mikroskopta (TEM) inceleme yapıldı. Tüm kesitler elektron mikroskopta fotoğraflandı ve sonuçlar değerlendirildi

Tüm görüntüler DP70 kamera takılı Olympus PM 10 ADS fotomikroskop ile görüntülendi.

3.3.3 İstatistiksel Verilerin Analizi

Biyokimyasal ve histolojik sonuçlar sonuçlar SPSS 11.00 Windows programında analiz edildi. MPO düzeylerinin karşılaştırılmasında; tek yönlü varyans analizi uygulanmıştır. Histolojik bulgular her bir değişiklik ayrı olarak, ikili gruplar arasında yapılan χ^2 (Ki-kare) testi ile analiz edildi.

4.BULGULAR

Duman inhalasyonu sırasında, duman odasındaki gaz ölçümleri ve ısı takibi gaz analiz cihazı (MRU 95/3 CD) ile yapıldı.

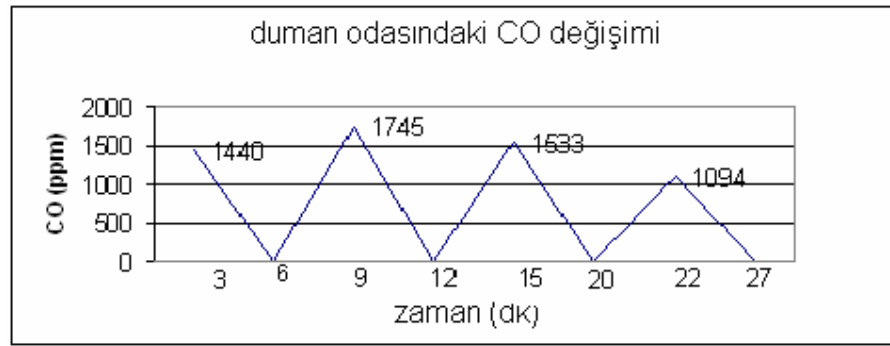
Sham grubunda duman odasındaki gaz oranları:

Oksijen (O₂): %20.9

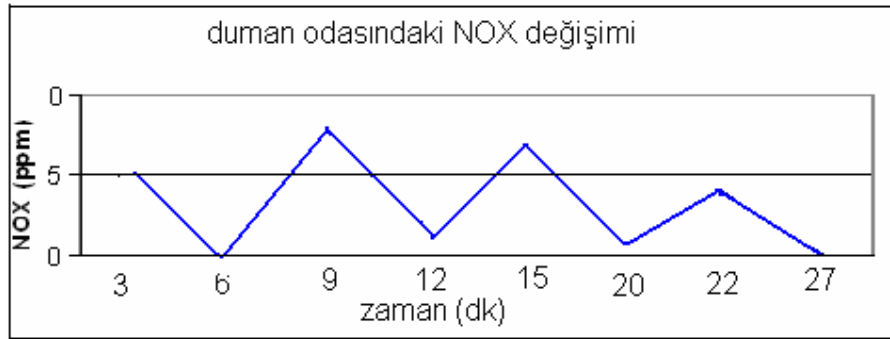
Karbonmonoksit (CO): 0 ppm

Azotoksit (NOX): 0 ppm olarak saptandı.

Duman inhalasyonu sırasındaki duman odasındaki gaz ölçümlerinde; CO oranları duman infüzyonu sırasında, 1094 – 1745 ppm, NOX 4 – 8 ppm seviyesine kadar yükseldi. Oksijen infüzyonu sırasında ise, CO 17 – 6 ppm, NOX 0 – 1 ppm seviyesine kadar düştü (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1: Duman odasındaki CO değerlerinin değişimi.



Şekil 4.2: Duman odasındaki NOX değerlerinin değişimi.

Duman inhalasyonu sırasında, duman odasındaki O₂ oranı %20.9'un altına inmedi. Isı ölçümlerinde, laboratuvarın ısısı 17°C idi, duman odasının ısısı 17±1 °C arasında değişti.

4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

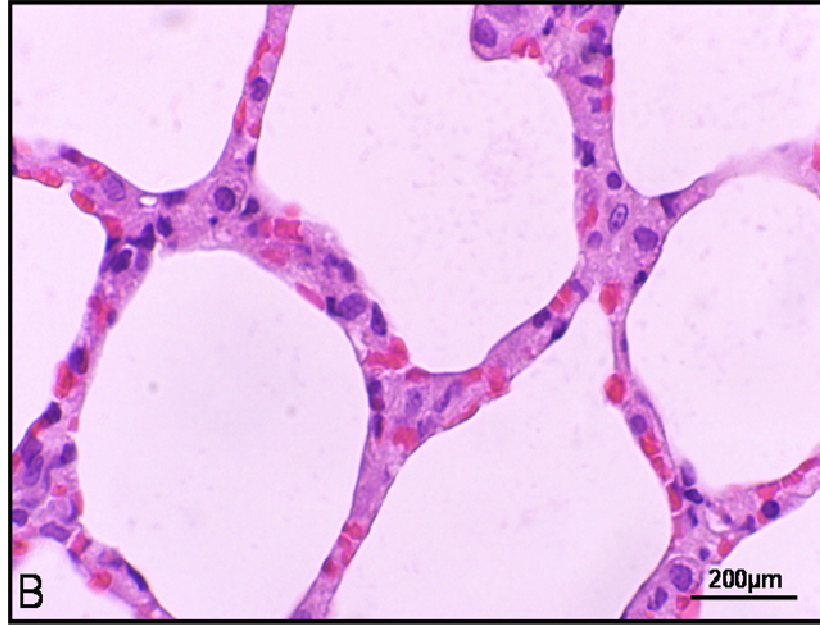
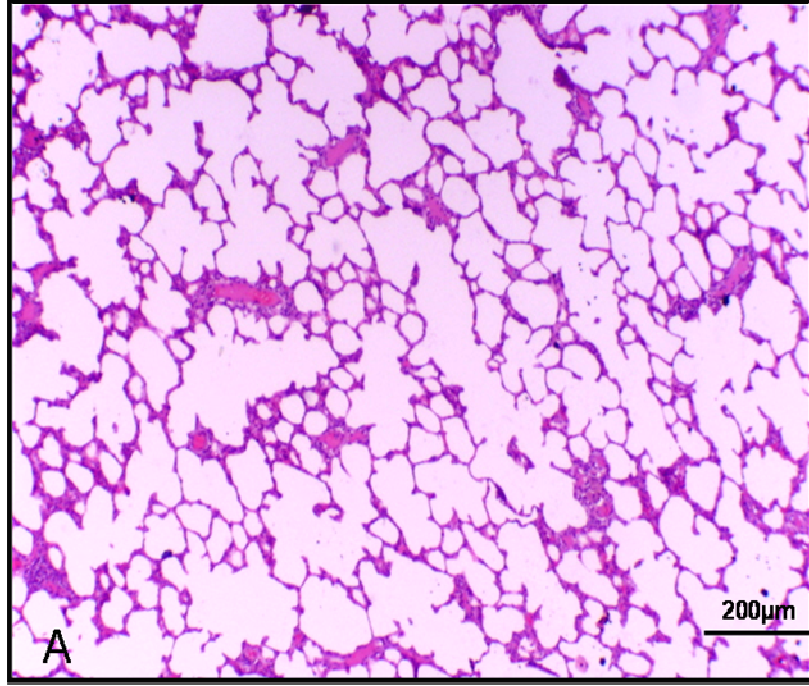
Biyokimyasal inceleme sunucunda duman grubunda, sham grubuna göre, yüksek MPO düzeyleri bulunmuştur. Duman+L-NAME ve duman+ AG grubunda sonuçlar birbirlerine benzer şekilde düşük düzeydeydi. Her bir dokudan elde edilen MPO düzeyleri gruplara ayrılarak tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 : Doku MPO Düzeyleri.

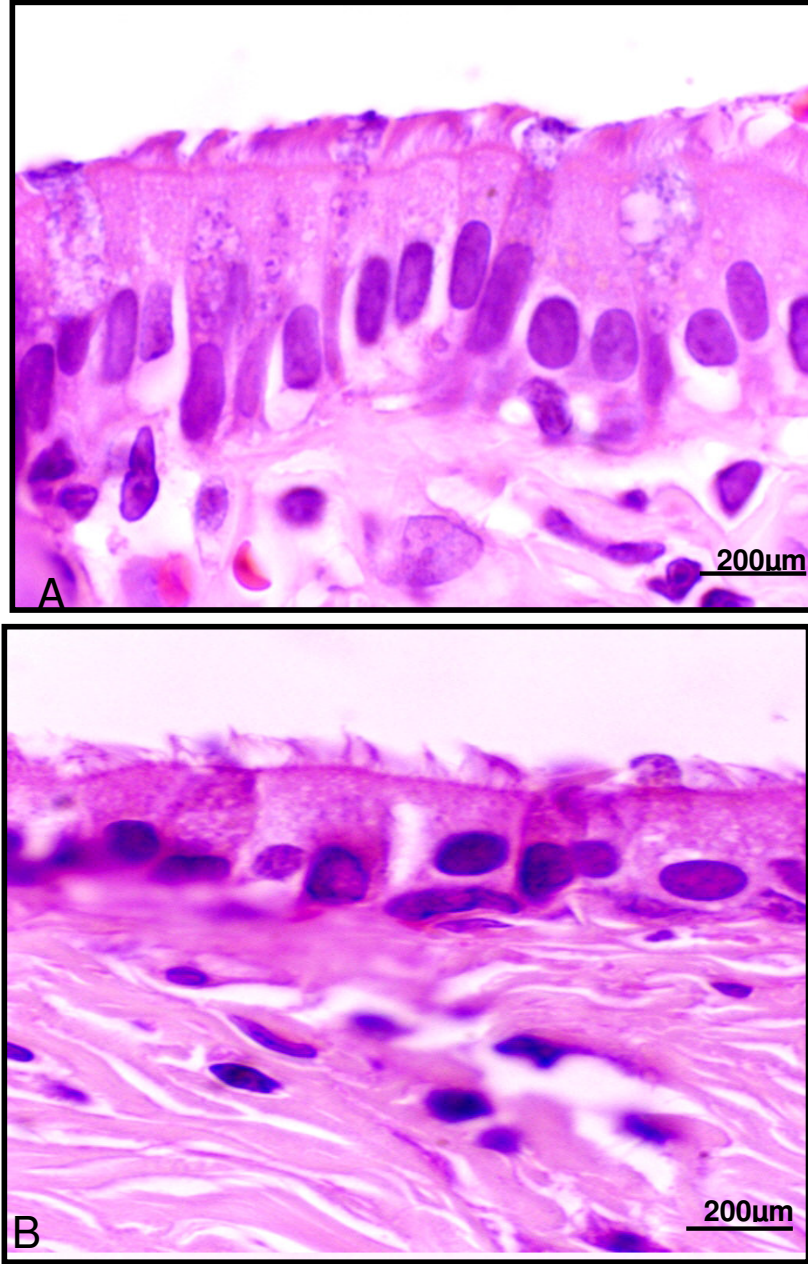
Akciğer MPO aktivitesi (Ü / gr yaş doku)			
Sham grubu	Kontrol grubu (duman grubu)	Deney grubu 1 (duman+L-NAME)	Deney grubu 2 (duman+AG)
36.08	130.27	67.30	76.79
29.53	149.64	81.36	58.46
64.25	190.79	85.03	88.89
59.35	102.63	77.35	91.22
25.75	152.92	86.71	82.05
34.94	145.84	69.60	69.16
35.04	117.38	81.36	83.27

4.2. Histolojik Bulgular

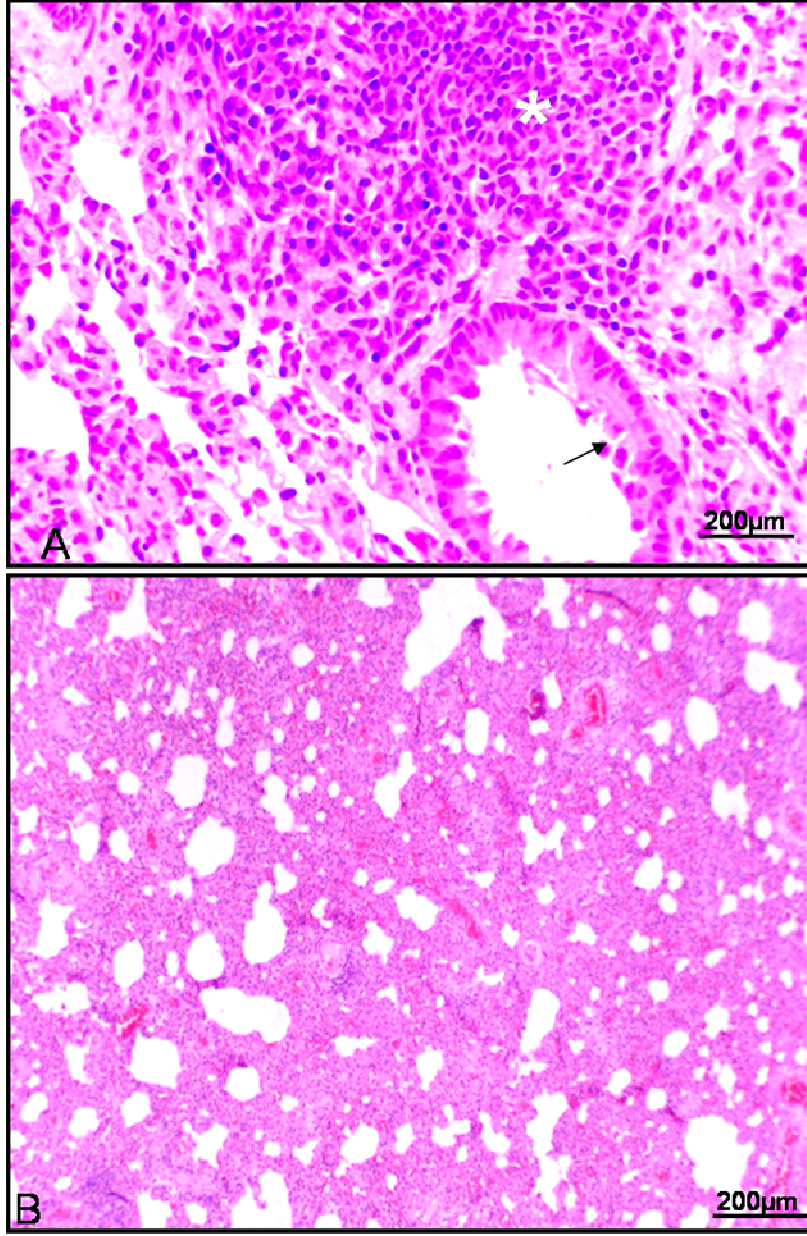
Akciğerlerin, ışık mikroskobu ile yapılan incelemesinde; bronşit, telenjektazi, interalveolar septal konjesyon, intraalveolar hemoraji, intraalveolar sıvı hareketi, lökosit infiltrasyonu ve makrofaj artışına bakıldı. Sham grubunda herhangi bir patolojik görünüm tespit edilmedi (şekil 4.3 ,4.4). Kontrol grubunda, belirtilen histopatolojik bulguların tamamı gözlendi (şekil 4.5,4.6, 4.11). Kontrol grubunda görülen histopatolojik bulguların duman+L-NAME (şekil 4.7,4.8, 4.12,4,13) ve duman+Aminoguanidin (şekil 4.9,4.10) gruplarında çok daha az olduğu tesbit edilmiştir.



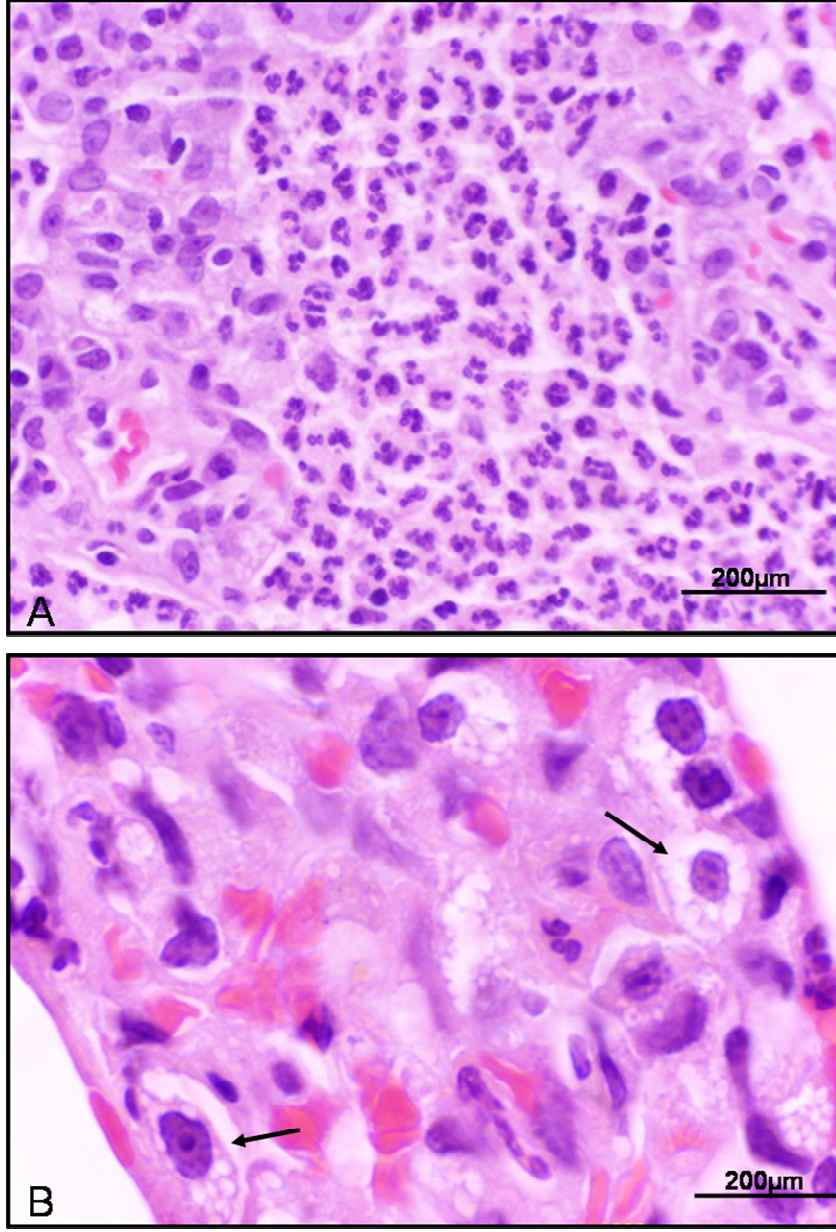
Şekil 4.3: Sham grubuna ait akciğerde normal görümlü alveol duvar yapılarının ışık mikroskopik görüntüsü. (A) HE X 4, (B) HE X 10



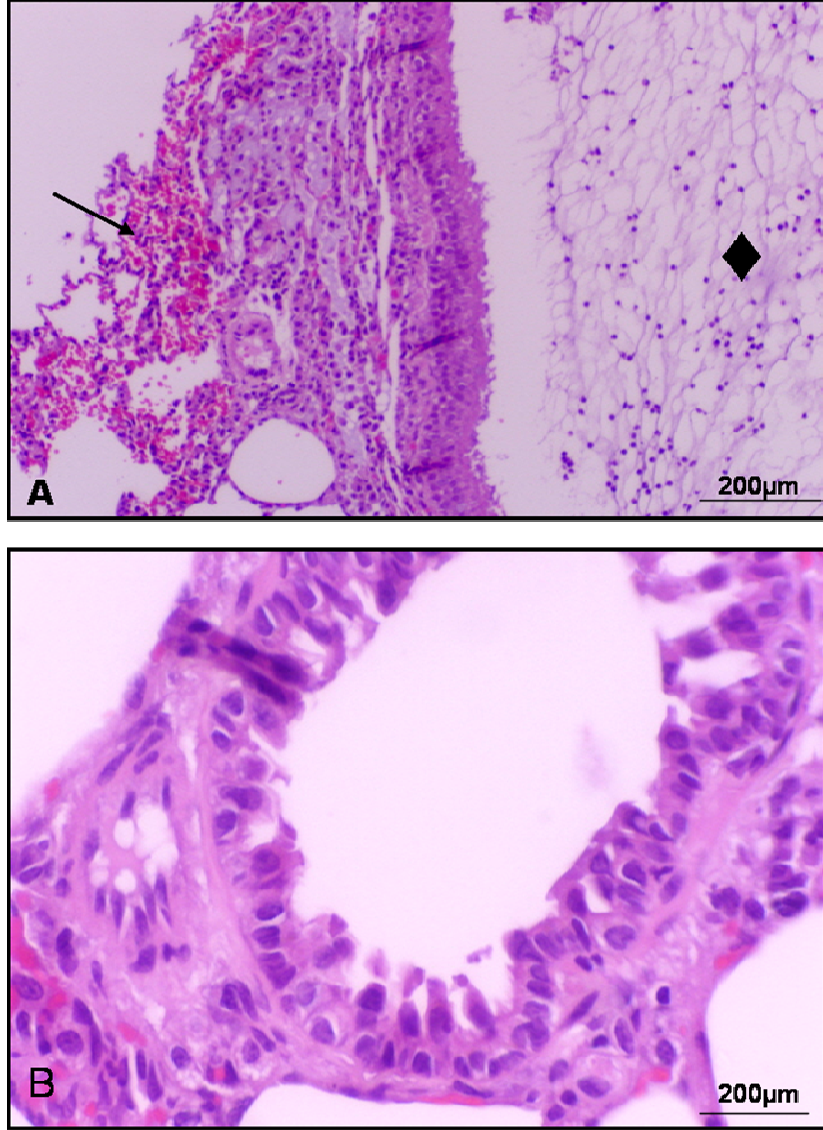
Şekil 4.4: Sham grubuna ait akciğerlerin normal görünümlü bronşiyol epitel yapılarının ışık mikroskopik görüntüsü. (A), (B) HE X 40



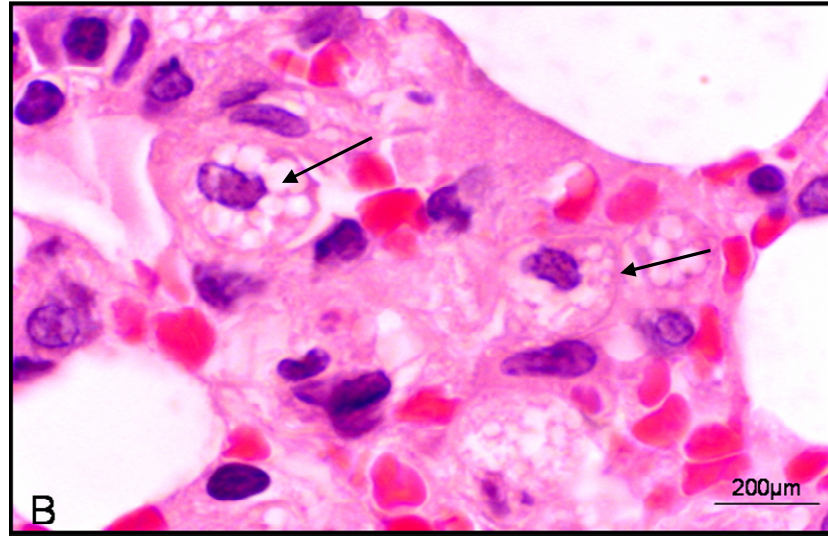
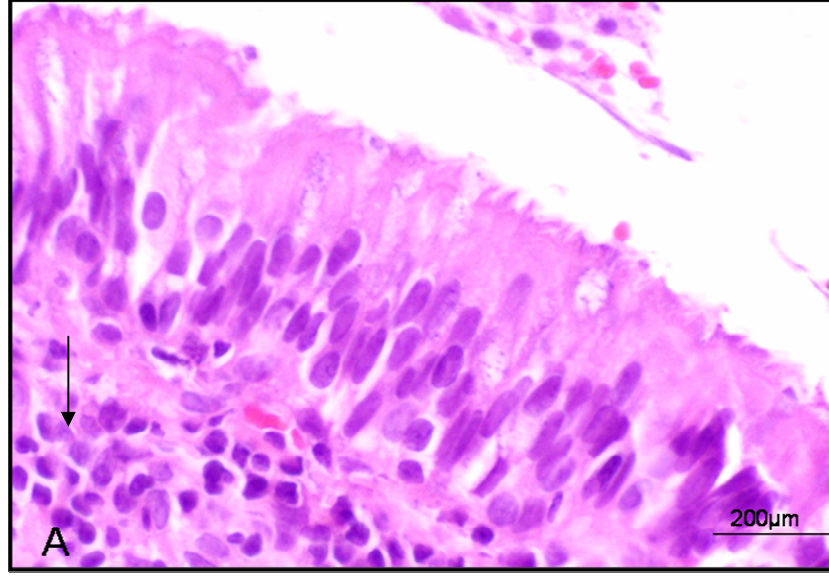
Şekil 4.5: Kontrol grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü.
A: Alveoller arası bölgelerde yoğun hücresel inflamasyon (*) ve bronşiyol epiteli blep oluşumu (→) HE X10, B: İnteralveolar septal konjesyon. HE X4



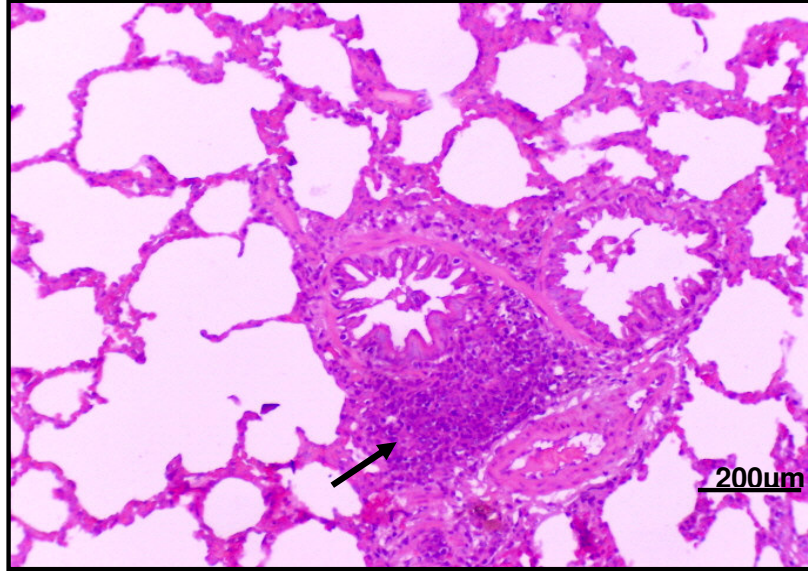
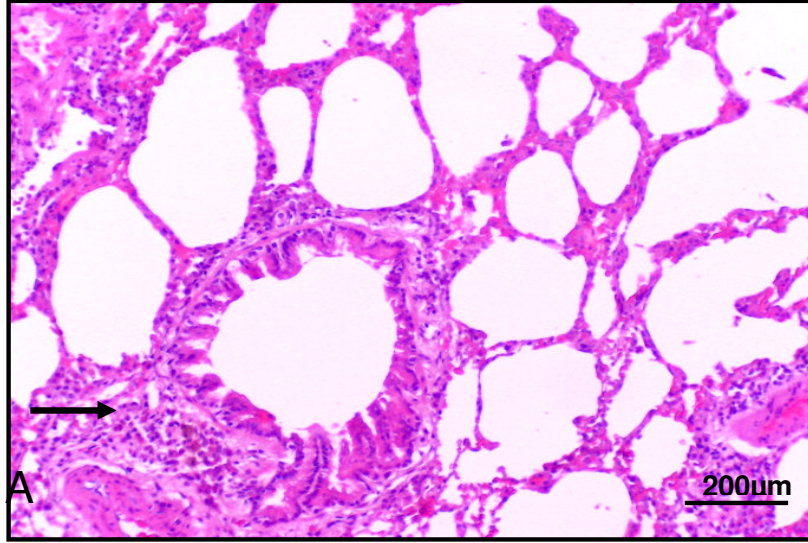
Şekil 4.6: Kontrol grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü.A: yoğun hücresel inflamasyon, HE X4. B: Kalınlaşmış alveol duvar yapısı ve artmış Tip 2 pnömosit (→). HE X20



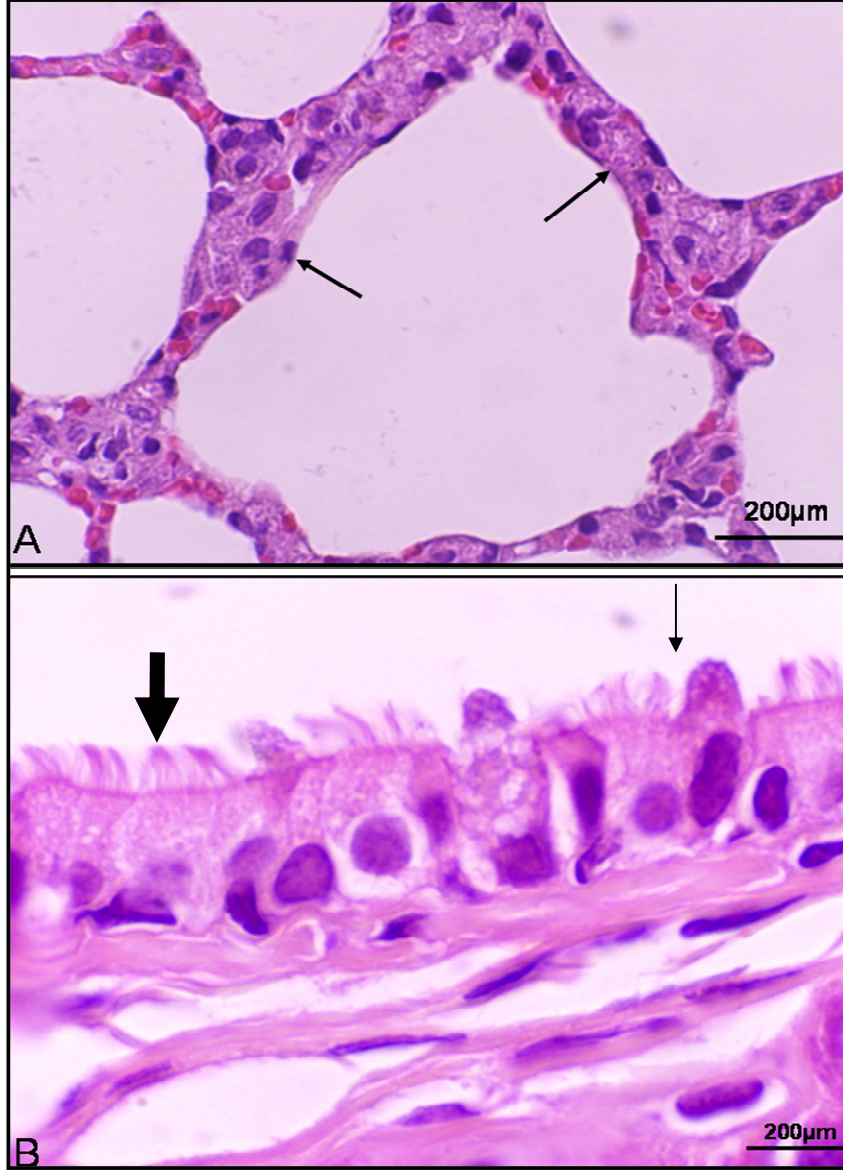
Şekil 4.7: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü. A: Bronşit, telanjiektazi, bronştaki sil kaybı, duvarda inflamasyon, bronş lümeninde sıvı toplanması (◆), iltihaba bağlı eksuda oluşumu, interalveolar septal konjesyon (→), HE X4, B: Bronşiol epitelinde blep oluşumu (apikal tomurcuklanma), sil kaybı, az miktarda inflamasyon, alveol duvarındaki kapillerlerde kanamalar. HE X20



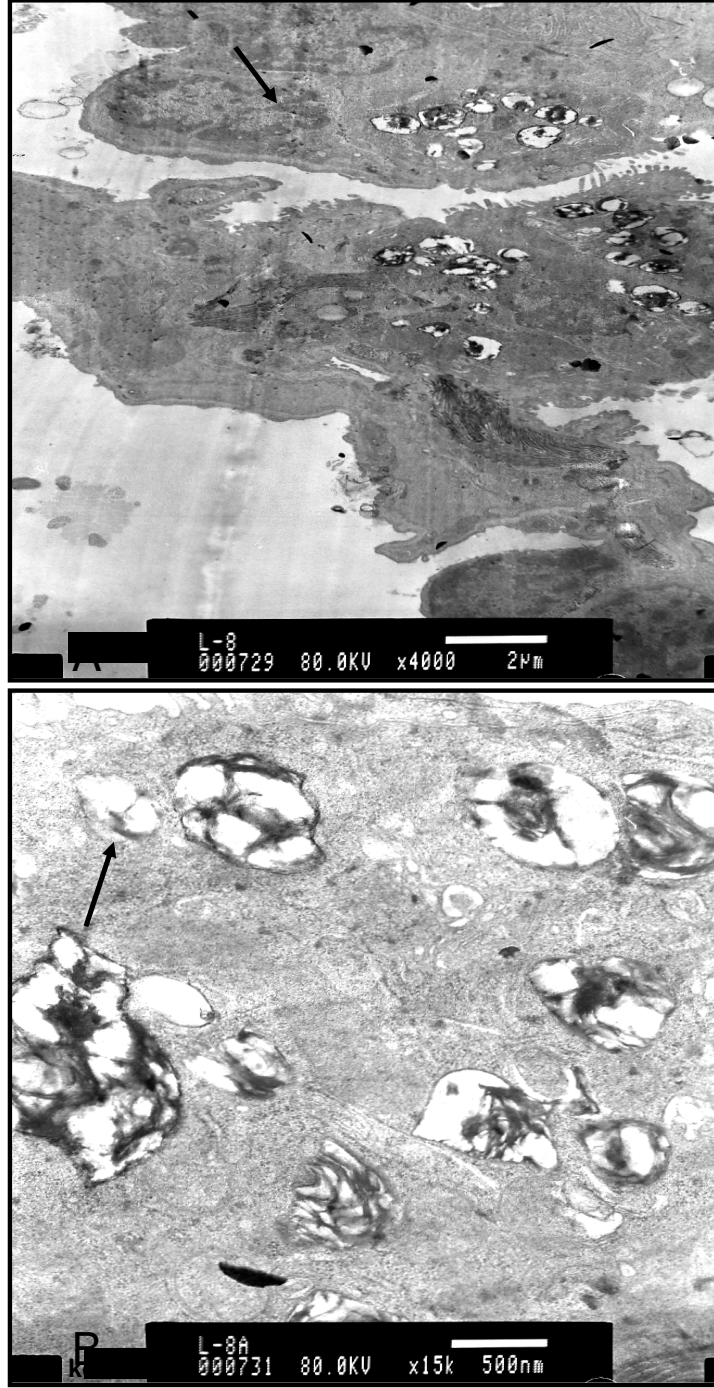
Şekil 4.8: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü. A: Bronşiol epitelinde siller normal görünümde, mukus salgısı artmış ve bronşiyol duvarında az miktarda inflamasyon (↓) HE X20 B: Alveol duvarındaki Tip2 pnömosit artışı (→) ve alveol duvar kalınlaşması, interalveolar septal konjesyon. HE X 100



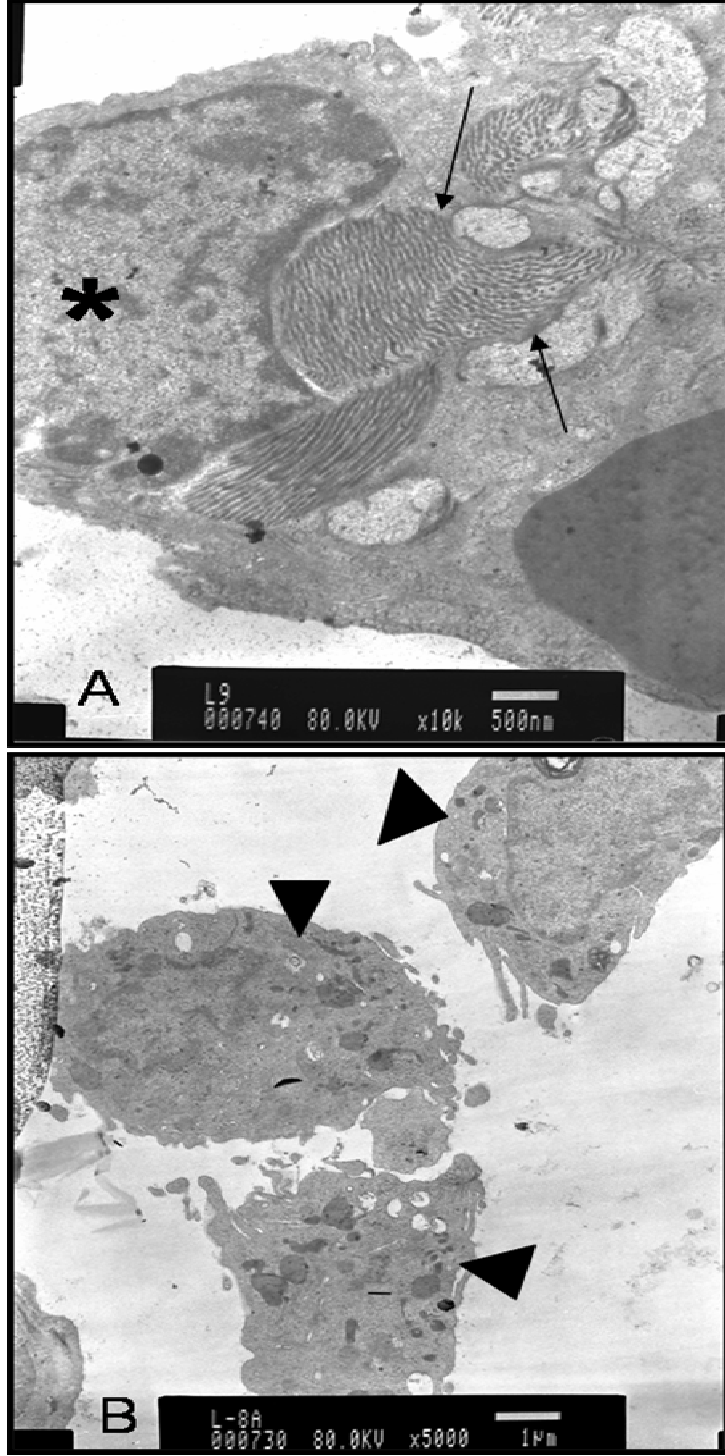
Şekil 4.9: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın korunmuş alveoller duvar yapıları ve bronşiole yakın bölgede az miktarda hücresel inflamasyon gözlenmekte. (→) (A), (B), HE X10



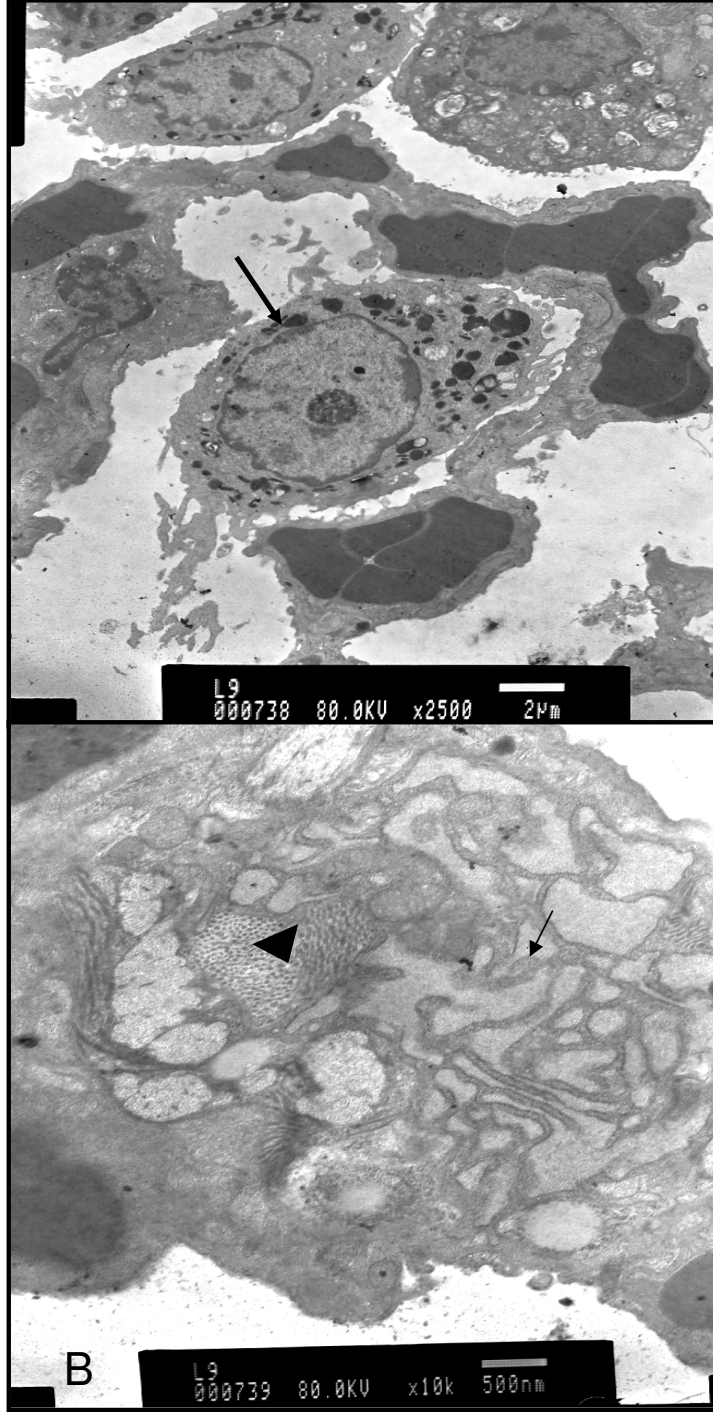
Şekil 4.10: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin ışık mikroskopik görüntüsü. A: Normale yakın korunmuş alveol duvar yapıları (→) HE X20. B: Korunmuş sil yapıları (↓) ve kısmi bleb (epitelde bombeleşme oluşumu (↓) ile normale yakın görünümlü bronşiyol epitel yapısı. HE X40



Şekil 4.11: Kontrol grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü. Alveol duvarında Tip 1 pnömosit ve içerisindeki lameller yapılar (→). (A), (B)



Şekil 4.12: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü. A: Alveol duvarında Tip 1 pnömosit (*) ve lifsel artış (→), B: Makrofaj hücrelerinde sayıca artış. (▼)



Şekil 4.13: L-Name uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskopik görüntüsü. A: Alveol duvarı ve makrofaj hücresi (→). B: Genişlemiş düz endoplazmik retikulum yapıları (→) ve artmış kollajen lifler (▼).



Şekil 4.14: Aminoguanidin uygulanmış deney grubuna ait akciğerin elektron mikroskobik görüntüsü. Normale yakın korunmuş alveol duvar yapıları (↓) ve kapiller damar yapısı (↓).

Akciğerde tesbit edilen histolojik bulgular değerlendirildi ve tablo 4.1 de görüldüğü şekilde histolojik skor tablosu oluşturuldu. -(hasar yok), + (az hasar veya histolojik değişiklik), ++(orta derecede hasar veya histolojik değişiklik), +++(ileri derecede hasar veya histolojik değişiklik) olarak değerlendirildi.

Tablo 4.2 : Akciğer histolojik skor tablosu.

Gruplar	Bronşit	Telenjektazi	Inter-alveolar Septal Konjesyon	Intra-alveolar hemoraji	Intra-alveolar Sıvı Birikimi	Lökosit İnfiltrasyonu	Makrofaj Artışı
Sham 1	-	-	+	-	-	-	+
Sham 2	-	-	-	-	-	-	-
Sham 3	-	-	-	-	-	-	-
Sham 4	-	-	+	-	-	+	-
Sham 5	-	-	+	-	-	-	+
Sham 6	-	-	-	-	-	-	-
Sham 7	-	-	-	-	-	+	-
Kontrol 1	+	++	++	++	+	++	+++
Kontrol 2	++	+++	++	-	-	++	+++
Kontrol 3	++	+++	+	+	+	+++	+++
Kontrol 4	+	++	++	+	-	+++	+++
Kontrol 5	++	+++	++	+	++	++	+++
Kontrol 6	++	+++	+	+	+	+++	+++
Kontrol 7	+	++	+	+	+	+++	+++
L- Name 1	-	++	++	-	+	+	+
L- Name 2	-	+	++	+	+	++	++
L- Name 3	+	+	+		-	+	-
L- Name 4	-	++	++	+	-	++	-
L- Name 5	+	++	++	-	-	++	++
L- Name 6	++	++	++	-	-	++	-
L- Name 7	-	+	-	-	-	+	+
AG 1	-	++	++	-	-	+	++
AG 2	--	-	-	-	-	-	-
AG 3	-	-	+	-	-	+	+
AG 4	-	-	-	+	+	++	-
AG 5	++	+	+	-	-	+	++
AG 6	-	+	+	-	-	++	-
AG 7	-	+	+	-	-	+	-

- :hasar yok
- + :az hasar veya histolojik değişiklik
- ++ :orta derecede hasar veya histolojik değişiklik
- +++ :ileri derecede hasar veya histolojik değişiklik

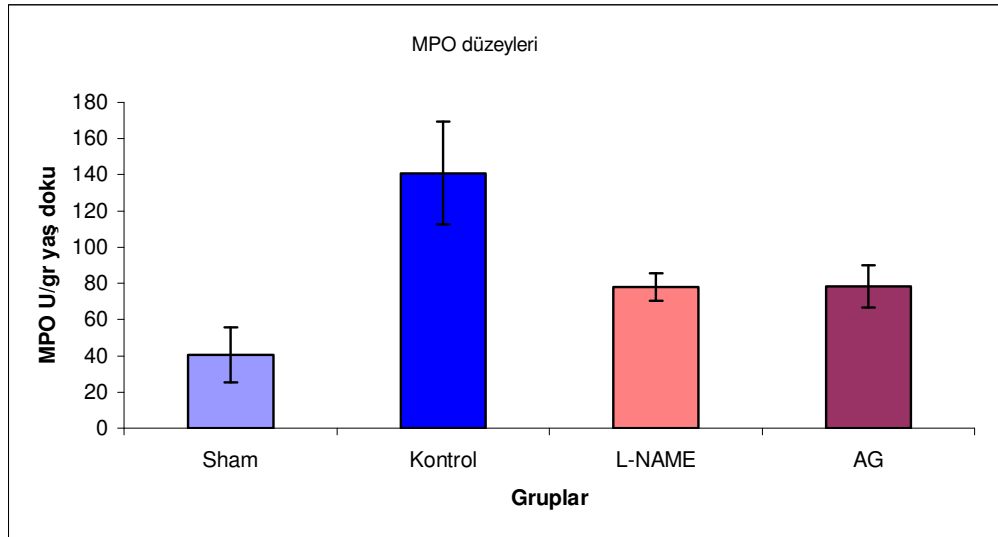
4.3 İstatistik Sonuçları

4.3.1 MPO düzeyleri

Kontrol grubu ile sham grubu ve deney grupları (L-NAME ve AG) arasında ileri düzeyde önemli fark bulunmuştur ($F_{3;24} = 39.21$, $P < 0.001$). Ancak L-NAME ve AG grupları arasında önemli fark görülmemiştir ($P > 0.05$).

Tablo 4.3 : MPO düzeyleri karşılaştırılması.

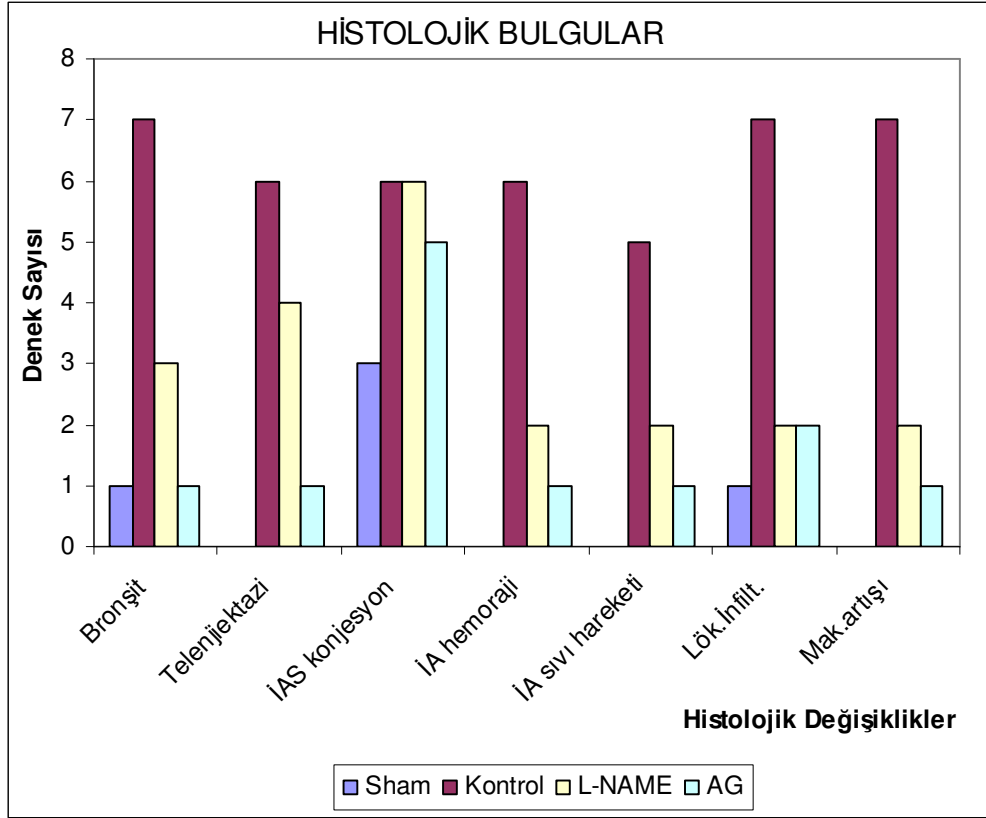
GRUPLAR	SAYI (n)	ORTALAMA DEĞERLER	STANDART HATA
SHAM	7	40.57	5.76
KONTROL	7	140.86	10.74
DUMAN+ L-NAME	7	78.14	2.89
DUMAN + AG	7	78.28	4.40



Şekil 4.15: Akciğer dokusunda MPO düzeyleri (L-NAME: L-nitro-L-Arginine metilester, AG: Aminoguanidin).

4.3.2 Histolojik sonuçların değerlendirilmesi

Akciğerlerde; kontrol grubunda gözlenen bronşit, sham grubu ve duman+AG grubundan, çok önemli düzeyde farklı ($p<0.01$) iken, diğer gruplar arasında önemli fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Kontrol grubundaki telenjektazi, sham grubundan ileri düzeyde farklı ($p<0.001$), duman+AG grubundan çok önemli düzeyde farklı ($p<0.01$) bulunmuş, kontrol grubu ile duman+L-NAME grubu arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca diğer gruplar arasında da, birbirinden fark bulunmamıştır ($p>0.05$). İnteralveolar septal konjesyonda, gruplar arasında fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). İnteralveolar hemoraji, kontrol grubunda; sham grubu, duman+AG ve duman+L-NAME grubundan belirgin düzeyde farklı bulunmuştur ($p<0.01$). Diğer gruplar arasında fark saptanmamıştır ($p>0.05$). İnteralveolar sıvı birikimi, sadece kontrol grubunda, sham grubundan önemli düzeyde farklı gözlenmiş ($p<0.05$); diğer gruplar arasında ise önemli düzeyde farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Lökosit infiltrasyonu kontrol grubunda, sham grubundan, çok ileri düzeyde önemli farklı ($p<0.001$), duman+AG ve duman+L-NAME grubunda kontrol grubundan önemli düzeyde farklı ($p<0.05$) bulunmuştur. Deney grupları arasında lökosit infiltrasyonu yönünden farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). Makrofaj artışı kontrol grubunda; sham grubuna göre çok ileri düzeyde önemli farklı gözlenirken ($p<0.001$), duman+L-NAME grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($p<0.05$), duman+AG grubunda ise kontrol grubuna göre çok önemli düzeyde farklılık gözlenmiştir ($p<0.01$). Makrofaj artışı yönünden diğer gruplar arasında ise önemli düzeyde bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.16: Akciğer dokusunda medyana gelen değişikliklerin görüldüğü denek sayıları, bunların bulunduğu gruplar (Sham grubu, Kontrol grubu, L-NAME: L-nitro-L-Arjinin metilester grubu, AG: Aminoguanidin grubu), histolojik değişiklikler: bronşit, telenjektazi, İAS konjesyon (interalveolar septal konjesyon), İA hemoraji (intraalveolar hemoraji), İA sıvı birikimi (intraalveolar sıvı birikimi), lökosit infiltrasyonu, makrofaj artışı.

5.TARTIŞMA

Yanık yaralanmalarında mortaliteyi belirleyen en önemli kriter inhalasyon hasarının olup olmadığıdır. Çünkü yanığa bağlı ölümlerin yaklaşık %80'i inhalasyon yaralanması ile ilgilidir. Yüzey yanığı olmasa bile yangından etkilenen hastada bilinç değişikliği varsa duman inhalasyonundan şüphelenilmelidir (15,27).

Duman inhalasyonu sonrası gelişen akciğer hasarının fizyopatolojisi, tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, dumanın içerisinde bulunan zararlı kimyasalların, doğrudan hava yolu hasarına neden olduğu, bunun yanında kemotaktik ajanların salınımına ve lökosit aktivasyonu ile inflamatuvar yanıtı sebep oldukları bilinmektedir. Lökosit kemotaktik ajanlar, duman partiküllerini fagosite eden alveolar makrofajlar ve gaz değişiminin gerçekleştiği akciğer parankimindeki mikrovasküler damar endotel hücreleri tarafından salınır (14,41,114,115). Kemotaktik ajanlar tarafından uyarılan lökositler özellikle de nötrofiller, salgıladıkları proteazlar ve toksik oksijen metabolitleri ile doku hasarı meydana getirirler (2,14,49-54).

Duman inhalasyonuna bağlı ilk saatlerdeki ölümler akut pulmoner yetmezliğe bağlıdır. Akut pulmoner yetmezlik, şiddetli hipoksinin yanısıra karbonmonoksit (CO), siyanit (CN) gibi sistemik toksinler nedeniyle ortaya çıkar. Daha sonraki günlerde ortaya çıkan ölümler ise akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) ile ilişkilidir (6,7,27,28).

ARDS termal yaralanmaların en önemli komplikasyonlarından biridir. ARDS'deki temel patolojik değişiklikler kapiller endotel hasarı, permeabilite artışı ve akciğerlerde sıvı birikimidir. Oluşan akciğer ödemi sonucu epitel hasarı da ortaya çıkar. Akciğer kapasitesi, akciğer kompliyansı ve alveollerde gaz değişimi azalır. Duman inhalasyonu olan bir hastada, yüzey yanığının da olması durumunda, ortaya çıkan vasküler permeabilite artışı daha fazla olmaktadır. Bundan dolayı termal yaralanma ile birlikte olan duman inhalasyonunda oluşan hasar daha fazla olmaktadır (15,27,116).

Duman inhalasyonu sonucu değişik mekanizmalarla akciğerlerde hasar ortaya çıkmaktadır. Akciğer parankiminde ortaya çıkan hasar artmış MPO aktivitesi ile karakterizedir (4,15,117,118). MPO nötrofil infiltrasyonu,

oksidan stres, pulmoner ödem ve iNOS aktivitesi için gösterge olarak değerlendirilebilir (119,120). Birçok araştırmada, inflamasyonun eşlik ettiği patolojik durumlarda, nötrofillerin dokuya geçişinin artışı ve oluşan doku hasarı ile doğru orantılı olarak, doku MPO aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (25,46,101,121).

Ischiropoulos ve ark. (52) duman inhalasyon hasarını araştırmak için hayvan modeli kullanarak yaptıkları çalışmada doku MPO düzeyleri değerlendirmişler ve duman inhalasyonu ile hasar oluşturulan ratlarda ölçülen akciğer MPO aktivitesinin, duman uygulanmayan kontrol grubuna oranla beş kat arttığını göstermişlerdir.

Çetin ve ark.'nın (4) duman inhalasyon modelinde ratlarla yaptıkları çalışmada doku MPO düzeyleri ölçülmüş, benzer sonuçlar alınmıştır. Duman uygulan ratların akciğerlerinden alınan örneklerde ölçülen akciğer MPO aktivitesinin, duman inhalasyonu uygulanmayan ratlardan alınan örneklerle göre önemli düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada doku MPO aktivitesi, daha önceki çalışmalarla uyumlu şekilde yüksek bulunmuştur. Duman inhalasyonu uygulanmasından 24 saat sonra alınan akciğer örneklerinde doku MPO aktivitesi düzeylerinin duman uygulanmayan ratlara göre arttığı görülmüş ve bu artış istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($P < 0.001$).

Duman inhalasyonu sonucu akciğer MPO aktivitesi önemli düzeyde artmaktadır. Bu artışla beraber akciğerlerin histolojisinde de değişiklik olmaktadır. Duman inhalasyonu ile akciğerlerde oluşan hasarın histolojik olarak değerlendirildiği birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda akciğerlerde; bronşit, interalveoler septal konjesyon, intraalveoler hemoraji, atelektazi, intraalveolar sıvı birikimi, lökosit infiltrasyonu ve makrofaj artışı gibi değişiklikler ortaya çıktığı görülmüştür (54,103,105,122-124).

Yapılan bu çalışmada histopatolojik örnekleme, duman inhalasyonu sonrası akciğer inflamasyonunun pik yaptığı 24. saatte yapılarak en yoğun histopatolojik bulgular yakalanmaya çalışılmıştır (105,122). Sadece duman inhalasyonu yaptırılan ratlarda akciğerlerin histopatolojik incelemesinde; bronşit, intraalveoler hemoraji, intraalveolar sıvı birikimi önemli düzeylerde

yüksek bulunurken ($P<0.01$) makrofaj artışı ve lökosit infiltrasyonu sham grubuna göre çok daha yüksek saptanmıştır ($P<0.001$).

Çetin ve ark.'nın (4) yaptıkları çalışmada, duman inhalasyonundan 24 saat sonra ratların akciğerlerinden örnekler alınıp histolojik inceleme yapılmıştır. Duman uygulanan ratların akciğerlerinde bronşit, intraalveoler hemoraji, lökosit infiltrasyonu, makrofaj artışı, intraalveoler sıvı birikiminin ortaya çıktığı görülmüştür. Ortaya çıkan değişiklikler skorlanıp değerlendirme yapıldığında, duman uygulanmayan gruba göre artış olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak önemli düzeyde anlamlı olduğu gösterilmiştir. çalışma ile uyumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Başka bir çalışmada Matthew ve ark. (103) duman inhalasyon hasarını koyunlarda oluşturmuş ve akciğerlerde oluşan değişimi histopatolojik olarak değerlendirmişler ve yine benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Duman inhale ettirilen koyunların akciğerlerinde; konjesyon, hemoraji, ödem ve makrofaj artışı gibi bulgular saptanmıştır.

Hem Çetin ve ark.'nın (4) hem de Matthew ve ark.'nın (103) elde ettikleri histolojik değişiklikler yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçları destekler şekildeydi.

Gerek bu çalışma, gerekse daha önce yapılmış çalışmalarda (4,52,54,103,122-124) elde edilen sonuçlar, duman inhalasyonu yaralanmasının ağır bir travma olduğunu ve akciğerlerde önemli patolojik değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Duman inhalasyonu sonucu akciğerlerde ortaya çıkan hasardan birçok faktör sorumlu tutulmakla birlikte en çok sorumlu tutulan faktörlerden biri nitrik oksittir (NO) (1,11,16,17, 18,20,29,99,125).

Artmış proinflatuar sitokinler aşırı NO üretimine neden olan iNOS enzimini tetiklerler. Büyük miktarlarda üretilen NO, akut akciğer hasarında önemli bir role sahiptir (99,126). Numata ve ark. (125) yaptıkları çalışmada NO'in metaboliti olan peroksinitritin mikrovasküler endoteli hasarlayıp, permeabilite artışına ve ödeme sebep olduğunu göstermişlerdir.

Klinik çalışmalarda yanıklı hastalarda NO üretiminin arttığı, sepsis gelişen yanıklı hastalarda bu yükselişin daha da fazla olduğu gösterilmiştir.

Yanık sonrası oluşan inflamatuvar reaksiyonun yoğunluğu ile orantılı olarak NO seviyesinin arttığı bulunmuştur (1,20-23,127). Bu nedenle nitrik oksit oluşumunu sağlayan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe eden ilaçların patolojik olaylarda yararlı olabileceği düşünülmektedir (1,128).

NOS'ın farmakolojik inhibitörlerinin birçok hayvan modelinde akciğer hasarında oksidatif hasarı önlediğini gösteren çalışmalar vardır (129,130). Ayrıca endotoksemi, endotoksik şok ve iskemi-reperfüzyon hasarı gibi patolojik durumlarda, NOS inhibitörleri kullanımı ile yararlı etki sağlandığını bildiren araştırmalar vardır (131,132). Buna karşın NOS inhibitörü kullanımı ile herhangi bir etkinlik sağlanmadığını gösteren çalışmaların yanı sıra (133,134), NO üretiminin tamamen durdurulmasının, NO'nun antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkilerini ortadan kaldırarak, akciğer hasarını daha da kötüleştirdiği ve zararlı etkilerin oluştuğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (11,125,135,136).

Cruz ve ark.'nın (137) yaptıkları çalışmada, ratlara intraperitoneal olarak NO üretimini artıran bir ajan olan N-Nitroso-N-Metilüretan (NNMU) uygulanmış ve akut akciğer hasarı oluşturulmuş. NOS inhibitörleri L-NAME ve aminoguanidin kullanılarak, oluşan hasarı önlemedeki rolleri değerlendirilmiş. NOS inhibiörü uygulanması ile N-Nitroso-N-Metilüretan (NNMU) ile oluşan, alveolar-arteriyel O₂ farkı, azalmış sürfaktan fosfolipid/protein oranı, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu gibi alveolar hasarın önlenemediği gösterilmiştir. Sonuçta NO'nun akut akciğer hasarı oluşturabildiği ve NO inhibitörleri kullanımı ile bu hasarın önemli düzeyde azaldığını göstermişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada; selektif olan ve olmayan NOS inhibitörleri kullanılarak, NO yapımının önlenmesi ve bunun duman inhalasyon hasarına olan etkileri değerlendirilmiştir. Nitrik oksitin (NO) inhalasyon hasarının oluşmasında önemli role sahip olduğu bilinmektedir (1,16,20,117). Ancak fizyolojik koşullarda da birçok olumlu ve koruyucu etkileri vardır (1,17,18,66,). Bu durum göz önünde bulundurularak; inhalasyon hasarında yapısal NO sentezinin devam etmesinin yapacağı etki incelenmiştir.

Nitrik oksit oluşumunu tamamen baskıladığı düşünölen L-NAME ile sadece indöklenebilir NOS enzimini bloke edip yapısal NOS enzimini etkilemediğı düşünölen Aminoguanidin kullanımı sonucu oluşın etkiler değeriendirilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

L-NAME ve Aminoguanidin nötrofillerin damar dışına çıkışını ve doku hasarı oluşumuna etkilerini değeriendirmek amacı ile doku MPO aktivitesi ölçümleri yapılmıştır. Duman+L-NAME ve duman+Aminoguanidin ile koruyucu tedavi uygulanan deney gruplarında, MPO aktivitesinin; sadece duman inhale ettirilip tedavi uygulanmayan gruba oranla önemli şekilde azaldığı ($p<0.001$) görölmüştür. Her iki deney grubu ile ve duman uygulanmayan grup karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak fark olmadığı ($p>0.05$) görölmüştür. Ayrıca duman+L-NAME ve duman+Aminoguanidin grupları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Ischiropoulos ve ark.'nın (52) yaptıkları çalışmada da MPO aktivitesinin duman inhalasyonu ve L-NAME uygulanan ratlarda, sadece duman inhale ettirilen ratlara göre, önemli düzeyde azaldığı gösterilmiştir. .

NOS inhibitörü uygulanması vasköler permeabiliteyi sınırlamakta ve duman inhalasyon hasarında ortaya çıkan permeabilite değerişimlerini önlemektedir (52,120) NO'in vasköler permeabilite üzerine etkisini çalışın Sozumi (29), yaptığı deneysel yanık çalışmasında; NOS inhibisyonu ile NO oluşumu azaltılınca, ikinci derece yanıkta vasköler permeabilitenin de azaltılabildiğini göstermiştir. Mikawa ve ark. (99) yaptıkları çalışmada; NO inhibitörleri kullanıldığında, hiperpermeabiliteye bağı akciğer ödeminin azaldığını gösterilmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, hem duman+L-NAME, hem de duman+AG uygulanan ratların akciğerlerindeki histopatolojik bulguların azaldığı görölmüştür. Her iki gruptaki alveol içine kanama, makrofaj artışı, infiltrasyonu gibi bulgular duman uygulanan kontrol grubundan önemli düzeyde farklı bulunurken ($P<0.01$); intraalveoler sıvı birikimi, telenjektazi gibi bulgularda fark olmadığı görölmüştür ($P>0.05$). Histopatolojik bulgular yönünden duman+AG ve duman+L-NAME grupları

arasında ise fark olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Ayrıca her iki grubun da histopatolojik olarak, hiç duman ve tedavi almamış sham grubuna göre farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$).

Enkhabaatar ve ark.'nın (58) koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, NO'in ciddi yanık ve duman inhalasyon hasarında ortaya çıkan ARDS'deki rolü araştırılmış. Koyunlarda %40 yüzey yanığı oluşturulmuş ve duman inhale ettirilmiş ve bir gruba duman uygulanmasından bir saat sonra selektif iNOS inhibitörü BBS-2 kullanılmış. Tedavi uygulanmayan koyunlarda azalmış hava değişimi, artmış pulmoner ödem, azalmış kompliyans ve havayolu obstrüksiyonu gibi ARDS bulguları gelişirken selektif iNOS inhibisyonu yapılanlarda bu bulguların tamamının azaldığı gösterilmiştir.

Zilan ve ark.'nın (22) yanık modelinde yaptıkları çalışmada, 3. derece yanık oluşturulan sıçanlarda NO'in etkisi araştırılmış. NOS inhibitörü L-NAME kullanılan grupta, NO agonisti L-arjinin kullanılan gruba ve kontrol grubuna göre; TNF-alfa, MDA, kan ve akciğer nötrofil değerlerinde azalma görülmüştür. Yaptığımız çalışmada, benzer şekilde inhalasyon yaralanmasında NO antagonist tedavinin hasar oluşumunu azalttığı gösterilmiştir.

Yapılan bu çalışmada ve daha önceki bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlar, duman inhalasyonunun, akciğerlerde ciddi hasar oluşturduğunu ortaya koymuştur. Duman inhalasyonu sonucu hasarın oluşmasında NO'in önemli rol oynadığı ve NOS inhibitörleri kullanılarak NO yapımının önlenmesi ile oluşan bu hasarın azaltılabildiğini gösterilmiştir.

Yapılan bu çalışmada selektif olmayan NOS inhibitörü L-NAME ve iNOS selektif NOS inhibitörü AG'in kullanılması, duman inhalasyonu sonrası akciğerlerde oluşan doku hasarını önlemede benzer düzeyde başarılı oldukları bulunmuştur. Yani selektif iNOS inhibitörü kullanımıyla korunan yapısal NOS ile üretilen NO'in koruyucu rolü ortaya konamamıştır. Bu da; yanık gibi travma durumlarında NO üretiminin tamamına yakın iNOS tarafından katalize edilen reaksiyonla ortaya çıktığını, yapısal NOS enzminin katkısının ihmal edilecek düzeyde olduğunu düşündürmektedir.

6.SONUÇ

Duman inhalasyon hasarı, yanıkla ilgili mortalitede halen önemli bir faktördür. Hasar oluşum mekanizması, halen tam olarak çözülememiş olmakla birlikte, birçok önemli mediatör ve sitokin rolü gösterilmiştir. Bunların başında gelen NO, inhalasyon yaralanmasında çok yüksek düzeylerde saptanmaktadır.

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular şöyledir:

1- İnhalasyon hasarı modeli ile yeterli duman inhalasyon hasarı oluşturulabilmiştir. Kontrol grubunda, sham grubuna göre MPO aktivitesinde önemli düzeyde yükselme ve histolojik olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

2- İnhalasyon hasarı modelinde L-NAME ve Aminoguanidin kullanımı, hücre membranında iskemi ve serbest oksijen radikallerinden kaynaklanan lipid hasarını ile bu hasarın göstergesi olan MPO düzeyini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır

3- Bu modelde, MPO aktivitesindeki artış ile oluşan histopatolojik değişimler arasında korelasyon bulunduğu gösterilmiştir.

4- Duman inhalasyon hasarı modelinde akciğerde ortaya çıkan; bronşit, telenjiyektazi, intraalveoler sıvı birikimi, lökosit infiltrasyonu ve makrofaj artışı gibi histolojik bulgular kontrol grubunda, sham grubuna göre önemli düzeyde farklı bulunmuştur. Hem L-NAME hem de Aminoguanidin, akciğer parankim hasarı bulgularını azaltmıştır.

Hem selektif olan, hem de selektif olmayan NOS inhibitörleri, NO miktarını azaltarak inhalasyon hasarında ortaya çıkan patolojik bulguları azaltmışlardır. Bu maddelerin klinik kullanıma girmeden önce etkinlik ve güvenliğinin araştırıldığı daha geniş ve daha uzun dönem çalışmalara ihtiyaç vardır. Yapılacak çalışmalardan sonra özellikle iNOS bağımlı olmak üzere aşırı NO üretiminin inhibe edilmesini sağlayan ilaçlar, duman inhalasyon hasarının önlenmesinde bir tedavi seçeneği olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Murakami K, Traber DL. Pathophysiological basis of smoke inhalation injury. *News Physiol Sci.* 2003;18:125-129
2. Herndon DN, Traber DL, Niehaus GD et al. The pathophysiology of smoke inhalation injury in a sheep model. *J Trauma.* 1984;24:1044-1051
3. Guy JS, Peck MD. Smoke inhalation injury. Pulmonary implications. *Respiratory Care.* 1999; 3: 904-912
4. Çetin C, Özyılmaz M, Bayçu C et al. Effects of rolling inhibition on smoke inhalation injury. *Burns.* 2003;29: 307-314
5. Souza R, Jardim C, Salge JM et al. Smoke inhalation injury. *J Bras Pneumol.* 2004; 30(5): 557-565
6. Teofilo L, Lee-Chiong Jr. Smoke inhalation injury. *Postgraduate Medical Journal.* 1999; 105: 55–62
7. Mayes RW. Measurement of carbon monoxide and cyanide in blood. *J Clin Pathol.* 1993;46:982-988
8. Wang CZ, Li A, Yang ZC. The pathophysiology of carbon monoxide poisoning and acute respiratory failure in a sheep model with smoke inhalation injury. *Chest.*1990;97:736-742
9. Abdi S, Herndon DN, Traber LD et al. Lung edema formation following inhalation injury: role of the bronchial blood flow. *J Appl Physiol.* 1991;71(2): 727-734
10. Efimova O, Volokhov AB, Iliiafar S et al. Ligation of the bronchial artery in sheep attenuates early pulmonary changes following exposure to smoke. *J Appl Physiol.* 2000; 88: 888-893
11. Van der Vliet A, Eiserich JP, Cross CE. Nitric oxide: a pro-inflammatory mediator in lung disease? *Respir Res.* 2000; 1(2): 67–72

12. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J et al. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;149 (2): 538–551
13. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol.* 1996; 271:C1424–C1437
14. Zwischenberger JB, Cox CS, Minifee PK et al. Pathophysiology of ovine smoke inhalation injury treated with extracorporeal membrane oxygenation. *Chest.* 1993;103 (5): 1582-1586
15. Enkhbaatar P, Traber DL. Pathophysiology of acute lung injury in combined burn and smoke inhalation injury. *Clinical Science.* 2004;107:137–143
16. Becker WK, Shippee RL, Mc Manus AT et al. Kinetics of nitrogen oxide following experimental thermal injury in rats. *J Trauma.* 1993; 34: 855 – 862
17. Brett SJ, Quinlan GJ, Mitchell J et al. Production of nitric oxide during surgery involving cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med.* 1998; 26: 272–278
18. Özkan M, Yüksekol İ. Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks Dergisi.* 2003; 4(1): 88-94
19. McMullan DM, Bekker JM, Parry AJ et al. Alterations in endogenous nitric oxide production after cardiopulmonary bypass in lambs with normal and increased pulmonary blood flow. *Circulation.* 2000; 102: 172-178
20. Lovett JE, Fink BF, Bernard A et al. Analysis of nitric oxide activity in prevention of reperfusion injury. *Ann Plast Surg.* 2001; 46: 269-274
21. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM et al. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksitin rolü. *Ulus Travma Dergisi.* 2004; 10(3): 149-159

22. Zilan A, Çetinkale O, Kıran B et al. Yanıkta nitrik oksit üretiminin desteklenmesi veya azaltılmasının iskemik hasarı önlemedeki rolü. *Ulus Travma Dergisi*. 2003; 9(3): 169-175
23. Xia Y, Zweier JL. Superoxide & peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. *Proc Natl Acad Sci*. 1997;94:6954-6958
24. Singh S, Evans TW. Nitric oxide, the biological mediator of the decade: fact or fiction? *Eur Respir J*. 1997; 10: 699–707
25. Çetin C, Köse AA, Erinç A et al. Protective effect of Fucoidin (a neutrophille rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: Experimental study in rat epigastric island flaps. *Ann Plast Surg*. 1999; 47: 540-546
26. Liaudet L, Pacher P, Mabley JG et al. Activation of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 Is a Central Mechanism of Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165: 372–377
27. Çeliköz B. İnhalasyon yanıkları. İç:Selmanpakoğlu N,editör. Yanıklar ve tedavileri. Ankara. GATA basımevi; 1998.s. 261-286
28. Mortelliti MP, Manning HL. Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am Fam Physician*. 2002; 65: 1823-1830
29. Sozumi T. The role of nitric oxide in vascular permeability after a thermal injury. *Ann Plast Surg*. 1997; 39: 272-277
30. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*.1989; 1: 1-8
31. Langfort RM, Armstrong RF. Algorithm For Managing İnjury From Smoke İnhalation. *BMJ*. 1989; 299: 902-905
32. Weaver LK, Hopkins RO, Chan KJ et al. Hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med*. 2002;347:1057-1067

33. Fisher JA. Isocapnic hyperpnea accelerates carbon monoxide elimination. *Am J Respir Crit Care Med.*1999; 159: 1289-1292
34. Takeuchi A, Vesely A et al. A simple “new” method to accelerate clearance of carbon monoxide. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161: 1816-1819
35. Demling RH. Smoke inhalation injury. Ayres SM. *Critical Care.* W.B. Saunders Company USA, 1995; 1506-1515
36. Shpakov IF, Venevitinov IO, Inshakov LN et al. Bronchoscopic methods in complex diagnosis and treatment of burned patients with inhalation injuries. *Ventn Khir Im Il Grek.* 1999; 158: 34-37
37. Young DM. Burn and electrical injury. In:Mathes SJ: *Plastic surgery.* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders;2006.p. 811-833
38. Isago T, Noshima S, Traber LD, et al. Analysis of pulmonary microvascular permeability after smoke inhalation. *J. Appl Physiol.* 1991; 71: 1403–1408
39. Traber DL, Herndon DN, Stein MD et al. The pulmonary lesion of smoke inhalation in an ovine model. *Circ Shock.* 1986; 18: 311–323
40. Soejima K, Schmalstieg FC, Sakurai H et al. Pathophysiological analysis of combined burn and smoke inhalation injuries in sheep. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001; 280, L1233–L1241
41. Riyami BMS, Tree R, Kinsella J et al. Changes in alveolar macrophage, monocyte, and neutrophil cell profiles after smoke inhalation injury. *J Clin Pathol.* 1990; 43: 43-45
42. Basadre JO, Sugi K, Traber DL et al. The effect of leukocyte depletion on smoke inhalation injury in sheep. *Surgery.* 1988; 104: 208-215

43. Laffon M, Pittet JF, Modelska K et al. Interleukin-8 mediates injury from smoke inhalation to both the lung endothelial and the alveolar epithelial barriers in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 1443-1449
44. Nişancı M. Yanık fizyopatolojisi. İç: Selmapakoğlu N, editör. Yanıklar ve tedavileri, Ankara. GATA basımevi; 1998.s. 25-59
45. Ley K, Linnemann G, Meinen M et al. Fucoidin but not yeast polyphosphomannan PPME inhibits leukocyte rolling in venules of the rat mesentery. *Blood.* 1993; 81:177-185
46. Omata M, Matsui N, Inomata N et al. Protective effects of polysaccharide fucoidin on myocardial ischemia – reperfusion injury in rats. *J Cardiovascular Pharmacology.* 1997; 30: 717-724
47. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte endothelial adhesion molecules. *Blood.* 1994; 84: 2068-2101
- 48) Horgan MJ, Ge M, Gu J et al: Role of ICAM-1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. *Am J Physiol.* 1991; 259: L315-L319
49. Ogura H, Cioffi WG, Jordan BS et al. The effect of inhaled nitric oxide on smoke inhalation injury in an ovine model. *J Trauma.* 1994; 37: 294-302
50. Stewart RJ, Yamaguchi KT, Knost PM et al. Effects of ibuprofen on pulmonary oedema in an animal smoke inhalation model. *Burns.* 1990; 16: 409-413
51. Sakurai H, Schmalstieg FC, Traber LD et al. Role of L-selectin in physiological manifestations after burn and smoke inhalation injury in sheep. *J Appl Physiol.* 1999; 86: 1151-1159
52. Ischiropoulos H, Mendiguren I, Fisher D et al. Role of neutrophils and nitric oxide in lung alveolar injury from smoke inhalation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 150:337-341

53. Tasaki O, Mazingo DW, Ishihara S et al. Effect of Sulfo Lewis C on smoke inhalation injury in an ovine model. *Crit Care Med.* 1998;26:1238-1243
54. Ahn SY, Sugi K, Talke P et al. Effect of allopurinol on smoke inhalation in the ovine model. *J Appl Physiol.* 1990; 68:228-234
55. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R et al. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke.* 1994; 25: 1847-1854
56. Virag, L, Szabo C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev.* 2002; 54: 375–429
57. Pulido EJ, Shames BD, Selzman CH et al. Inhibition of PARS attenuates endotoxin-induced dysfunction of pulmonary vasorelaxation. *Am J Physiol.* 1999; 277: L769–L776
58. Enkhbaatar P, Murakami K, Shimoda K et al. The inducible nitric oxide synthase inhibitor BBS-2 prevents acute lung injury in sheep after burn and smoke inhalation injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167: 1021–1026
59. Cox RA, Burke AS, Soejima K et al. Airway obstruction in sheep with burn and smoke inhalation injuries. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2003; 29: 295–302
60. Hubbard GB, Langlinais PC, Shimazu T et al. The morphology of smoke inhalation injury in sheep. *J Trauma.* 1991; 31: 1477-1486
61. Murakami K, McGuire R, Cox RA et al. Heparin nebulization attenuates acute lung injury in sepsis following smoke inhalation in sheep. *Shock.* 2002; 18: 236–241
62. Murakami K, McGuire R, Cox RA et al. Recombinant antithrombin attenuates sepsis following smoke inhalation and pneumonia in sheep. *Crit Care Med.* 2003; 31: 577–583

63. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; 327: 524-526
64. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L- arginine. *Nature*. 1988; 333: 664–666
65. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol*. 1993; 54: 171–178
66. Moncada S, Higgs A: The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329: 2002-2012
67. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994; 120: 227–237
68. Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunohistochemical and histochemical localization. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1993; 9: 371-377
69. Furukawa K, Harrison DG, Saleh D et al. Expression of nitric oxide synthase in the human nasal mucosa. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 153: 847–850
70. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1993; 268 (23): 17478-17488
71. Guilinger RA, Paradis IL, Dauber JH et al. The importance of bronchoscopy with transbronchial biopsy and bronchoalveolar lavage in the management of lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995; 152: 2037-2043
72. Asano K, Chee CBE, Gaston B et al. Constitutive and inducible nitric oxide synthase gene expression, regulation, and activity in human lung epithelial. *Proc Natl Acad Sci*. 1994; 91: 10089–10093

73. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Journa of Turgut Özal Medical Center*. 1997; 4 (4) :453-461
74. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994; 344: 721-724
75. Chartrain NA, Geller DA, Koty PP et al. Molecular cloning, structure, and chromosomal localization of the human inducible nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1994; 269: 6765-6772
76. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax*. 1993; 48: 1034–1043
77. Kummer W, Fischer A, Mundel P et al. Nitric oxide synthase in VIP-containing vasodilator nerve fibres in the guinea-pig. *Neuroreport*. 1992; 3: 653–655
78. Lundberg JO. Airborne nitric oxide: Inflammatory marker and aerocrine Messenger in man. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1996; 633: 1–27
79. Chartrain NA, Geller DA, Koty PP et al. Molecular cloning, structure, and chromosomal localization of the human inducible nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1994; 269: 6765-6772
80. Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: A new lung function test. *Thorax*. 1996;51: 233–237
81. Taha Z, Kiechle F, Malinski T. Oxidation of nitric oxide by oxygen in biological systems monitored by porphyrinic sensor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992; 188: 734-739
82. Lefer DJ, Scalia R, Campbell B et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest*. 1997; 4: 684-691

83. Hinder F, Booke M, Traber LD et al. Nitric oxide and endothelial permeability. *J Appl Physiol.* 1997; 83: 1941-1946
84. Jang AS, Choi IS, Lee S et al. Nitric oxide metabolites in induced sputum; a marker of airway inflammation in asthmatic subjects. *Clin Exp Allergy.* 1999; 29: 1136-1142
85. Al-Ali MK, Howarth PH. Nitric oxide and the respiratory system in health and disease. *Respir Med.* 1998; 92: 701-715
86. Dweik RA, Laskowski D, Abu-Soud HM et al: Nitric oxide synthesis in the lung. Regulation by oxygen through a kinetic mechanism. *J Clin Invest* 1998; 101: 660-666
87. Gümüşel B, Orhan D, Tolunay O et al. The role of nitric oxide in mediating nonadrenergic, noncholinergic relaxation in rat pulmonary artery. *Nitric Oxide.* 2001; 5(4): 296-301
88. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB.* 1992; 6: 3051-3064
89. Bast A, Doelman C. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med.* 1991; 91: 2-13
90. Soekime K, Traber LD, Schimalsteg FC et al. Role of nitric oxide in vascular permeability after combined burns and smoke inhalation injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163: 745–752
91. Nijveldt RJ, Nood E, Hoorn DEC et al: Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2001, 74(4): 418-425
92. Elliott M, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews.* 2000; 52(4), 673-751

93. Nakazawa H, Fukuyama N, Takizawa S. Nitrotyrosine formation and its role in various pathological conditions. *Free Rad Res.* 2000; 33: 771-784
94. Çakatay U, Telci A, Kayalı R et al. Relation of aging with oxidative protein damage parameters in rat skeletal muscle. *Clin Biochem.* 2003; 36: 51-55
95. Ellis JL, Udem BJ. Inhibition by L-NG-nitro-L-arginine of nonadrenergic-noncholinergic-mediated relaxations of human isolated central and peripheral airway. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146(6): 1543-1547
96. Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol.* 1997; 20: II-3-II-10
97. Dwyer MA, Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide synthase: irreversible inhibition by L-NG-nitroarginine in brain in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Comm.* 1991; 176: 1136-1141
98. Moore PK, Babbedge RC, Wallece P et al. 7-nitroindazole, an inhibitor of nitric oxide synthase, exhibits antinociceptive activity in the mouse without increasing blood pressure. *Br J Pharmacol.* 1993; 108: 296-297
99. Mikawa K, Nishina K, Takao Y et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits. *Anesth Analg.* 2003; 97: 1751–1755
100. Silva MT, Rose S, Hindmarsh JG et al. Increased striatal dopamine efflux in vivo following inhibition of cerebral nitric oxide synthase by the novel monosodium salt of 7-nitroindazole. *Br J Pharmacol.* 1995; 114(2): 257-258
101. Granert C, Raud J, Xie X et al. Inhibition of leukocyte rolling with polysaccharide fucoidin prevents pleocytosis in experimental meningitis in the rabbit. *J Clin Invest.* 1994; 93: 929-936
102. Shimakoa M, Ikeda M, Iida T et al. Fucoidin, a potent inhibitor of leukocyte rolling, prevents neutrophil influx into phorbol-ester-induced

inflammatory sites in rabbit lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 153: 307-311

103. Matthew E, Warden G, Dedman J. A murine model of smoke inhalation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001;280: L716–L723

104. Guha SC, Herndon DN, Evans MJ et al. Is the CD18 adhesion complex of polymorphonuclear leukocytes involved in smoke-induced lung damage? A morphometric study. *J Burn Care Rehabil.* 1993; 14: 503-511

105. Demling R, Ikegami K, Lalonde C. Increased lipid peroxidation and decreased antioxidant activity correspond with death after smoke exposure in the rat. *J Burn Care Rehabil.* 1995; 16:104-110

106. Abdi S, Evans MJ, Cox RA et al. Inhalation injury to tracheal epithelium in an ovine model of cotton smoke exposure. *Am Rev Respir dis.*1990; 142:1436-1439

107. Gute DC, İshida T, Yarimizu K et al. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Moll Cell Bio.*1998;179:169-187

108. Meldrum DG, Stephanson LL, Zamboni WA. Effects of L-NAME and L-arginin on ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle. *American Society of Plastic Surgeons.* 1999; 103(3): 935-940

109. Abbasoğlu SD, Balkan J, Kanbağlı Ö et al. Aminoguanidin ve N-asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 2004; 5(1): 27-32

110. Mascolo N, Izzo AA, Autore G et al. Nitric oxide and castor oil-induced diarrhea. *J Pharmacol Exp Ther,* 1994; 268: 291-295

111. Kavuklu B, Agalar C, Güc MO et al. Evidence that aminoguanidine inhibits endotoxin-induced bacterial translocation. *British Journal of Surgery.* 1998; 85(8): 1103-1106

112. Suzuki K, Ota H, Sasagava S et al. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem.* 1983;132: 345-352
113. Demirpençe E, Köksoy C, Kuzu A et al. A spectrophotometric assay for tissue-associated myeloperoxidase activity and its application to intestinal ischemia-reperfusion. *Turk J Med Sci.* 1997; 27: 197-200
114. Riyami BMS, Kinsella J, Pollok AJ et al. Alveolar macrophage chemotaxis in fire victims with smoke inhalation injury. *Eur J Clin Invest.* 1991; 21: 485-489
115. Clark WR, Nieman G, Hakim TS. Distribution of extravascular lung water after acute smoke inhalation. *J Appl Physiol.* 1990; 68: 2394-2402
116. Soejima K, Traber LD, Schmalstieg FC et al. Role of nitric oxide in vascular permeability after combined burns and smoke inhalation injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163: 745–752
117. Shimoda K, Murakami K, Enkhbaatar P et al. Effect of poly(ADP ribose) synthetase inhibition on burn and smoke inhalation injury in sheep. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;285: L240–L249
118. Chen LW, Hwang YC, Chen CJ et al. Burn-induced Lung Damage in Rats Mediated By a Nitric Oxide/cGMP System. *Shock.* 2003. 20(4): 369–374
119. Wang LF, Patel M, Razavi HM et al. Role of inducible nitric oxide synthase in pulmonary microvascular protein leak in murine sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1634–1639
120. Razavi HM, Werhun R, Scott JA et al. Effects of inhaled nitric oxide in a mouse model of sepsis-induced acute lung injury. *Crit Care Med.* 2002; 30: 868–873

121. Mihelcic D, Schliffenbaum B, Tedder TF et al. Inhibition of leukocyte L-selectin function with a monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in rabbit ear. *Am S Haematol.* 1994; 7: 2322-2328
122. Hubbard GB, Langlinais PC, Shimazu T et al. The morphology of smoke inhalation injury in sheep. *J Trauma.* 1991; 31: 1477-1486
123. Ladonde C, Picard L, Campbell C et al. Lung and systemic oxidant and antioxidant activity after graded smoke exposure in the rat. *Circ Shock.* 1994; 42:7-13
124. Ladonde C, Picard L, Youn KY et al. Increased early postburn fluid requirements and oxygen demands are predictive of the degree of airways injury by smoke inhalation. *J Trauma.* 1995; 38: 175-183
125. Numata M, Suzuki S, Miyazawa N et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents LPS-induced acute lung injury in dogs. *The Journal of Immunology.* 1998, 160: 3031–3037
126. Hinder F, Booke M, Traber LD et al: Nitric oxide and endothelial permeability *J.Appl. Physiol.* 1997; 83(6): 1941-1946
127. Preiser JC, Reper P, Vlasselaer D et al. Nitric oxide production is increased in patients after burn injury. *J Trauma.* 1996; 40: 368-371
128. Özek M, Üresin Y, Güngör M. Deneysel endotoksemide nitrik oksit sentaz inhibitörlerinin etkileri. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi.* 2001; 64 (4): 301-306
129. Akaike T, Noguchi Y, Ijiri S et al. Pathogenesis of influenza virus-induced pneumonia: involvement of both nitric oxide and oxygen radicals. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93: 2448–2453
130. Tsuji C, Shioya Y, Hirota Y et al. Increased production of nitrotyrosine in lung tissue of rats with radiation-induced acute lung injury. *Am J Physiol.* 2000; 278: L710–L725

131. Liaudet L, Fishman D, Markert M et al. L-Canavanine improves organ function and tissue adenosine triphosphate levels in rodent endotoxemia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 155:1643- 1648
132. Liaudet L, Rosselet A, Schaller MD et al. Nonselective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis.* 1998; 177 (1):127-132
133. Vos TA, Gouw ASH, Klok PA et al. Differential effects of nitric oxide synthase inhibitors on endotoxin-induced liver damage in rats. *Gastroenterology.* 1997; 113 (4):1323-1333
134. Lindblom L, Cassuto J, Yregard L et al. Importance of nitric oxide in the regulation of burn oedema, proteinuria and urine output. *Burns.* 2000; 26: 13-18.
135. Ou J, Carlos TM, Watkins SC et al. Differential effects of nonselective nitric oxide synthase (NOS) and selective inducible NOS inhibition on hepatic necrosis, apoptosis, ICAM-1 expression, and neutrophil accumulation during endotoxemia. *Nitric Oxide.* 1997; 5(1): 404-416
136. Park JH, Chang SH, Lee KM. Protective effect of nitric oxide in an endotoxin-induced septic shock. *Am J Surg.*1996; 171(3):340-345
137. Cruz WS, Moxley MA, Corbett JA et al. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates NNMU-induced alveolar injury in vivo. *Am J physiol.* 1997; 273: L1167-1173

