

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**PULMONER KONTÜZYON MODELİ OLUŞTURULAN
RATLARDA GLUTAMİN VE ARJİNİN TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUAR YANITA ETKİSİ**

Dr. ŞÜKÜR MUSAYEV

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2021

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**PULMONER KONTÜZYON MODELİ OLUŞTURULAN
RATLARDA GLUTAMİN VE ARJİNİN TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUVAR YANITA ETKİSİ**

Dr. ŞÜKÜR MUSAYEV

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Volkan KARACAM

İZMİR-2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL VE RESİMLER	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	31
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52

Teşekkür

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, mesleki ve kişisel gelişimime büyük katkıları olan, anabilim dalı başkanımız, değerli hocam Prof. Dr. Nezih ÖZDEMİR'e

Eğitimim boyunca yanında çalışmaktan onur duyduğum, değerli bilgi ve deneyimlerini aktararak yetişmemi sağlayan ve her konuda yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aydın ŞANLI'ya

Mesleğin kutsallığını ve inceliklerini öğrendiğim, yetişmemde sonsuz katkıları olan ve tez konumun planlanması, çalışmanın yürütülmesi ve yönlendirilmesinde önemli desteği olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Volkan KARAÇAM'a

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkıları olan saygıdeğer Uzm. Dr. Fatma İlknur ULUGÜN'e, kıdemlilerim Uzm. Dr. Ali KARAKILIÇ'a ve Uzm.Dr. Bahar Ağaoğlu Şanlı'ya

Tezimin tüm aşamasında destekleinin esirgemeyen, her türlü sorunumda yanımda olan Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Kemal Can TERTEMİZ'e,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman YILMAZ ve Multidisiplin Laboratuvarı çalışanları'na,

Tezimin hazırlanması sürecinde emeği olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bekir ERGUR ve Dr. Pınar AKOKAY'a

Göğüs cerrahisi kliniğinin yükünü birlikte taşıdığımız sevgili meslektaşlarım Dr. Kamran ALİYEY, Dr. Meltem SEVİNÇ, Dr. Fatma MUTLU, Dr. Öykü İSKENDEROĞLU, Dr. Emrah KARCI, Dr. Berfin Kızıldağ AKTAŞ, Dr. Burak GEYİK, Dr. İlkey KAYA, Dr. Nigar ALİZADE'ye

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan sevgili anneme, babama, kardeşlerime, hayatıma girdiği andan itibaren sevgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşime,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum servis sorumlu hemşiremiz Serap KARA, yoğun bakım sorumlu hemşiremiz Selda Işık YILDIZ, ameliyathane sorumlu hemşiremiz Şükran AVCU, anabilim dalı sekreterimiz Naciye AYDIN, ameliyathane personelimiz Rahmi AKSOY ve şahsında tüm poliklinik, servis, yoğun bakım ve ameliyathane hemşire ve çalışanlarına,

Sonsuz minnetle teşekkürlerimi sunarım...

Dr. Şükür MUSAYEV

İZMİR -2021

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Pulmoner kontüzyonun tipleri

Tablo 2: pulmoner kontüzyonun patofizyolojisi

Tablo 3: ALI/ARDS tanımları

Tablo 4: ARDS tedavi şeması

Tablo 5: Tüm grup ratların parankimal inflamasyon skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerleri

Tablo 6: Tüm grup ratların parankimal inflamasyon skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Tablo 7: Tüm grup ratların alveolar konjesyon skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

Tablo 8: Tüm grupların alveolar konjesyon skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Tablo 9: Tüm grup ratların intraalveolar hemorajiye skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

Tablo 10: Tüm grupların intraalveolar skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

ŞEKİL VE RESİMLER

Şekil 1: ALI/ARDS etiyoloji

Şekil 2: Normal alveol ile ALI/ARDS erken faz alveolun karşılaştırılması

Şekil 3: Hücresel glutamin metabolizmasının şematik görünümü

Şekil 4: Glutamin takviyesinin travmada kullanımının şematik görünümü

Şekil 5: L-arjinin biyosentezi ve metabolik yolları

Şekil 6: Deney protokolünün şematik görünümü

Resim 1: Deneysel kontüzyon modelinin oluşturulması

Resim 2: Travma modeli sonrası oksijen desteği alan ratlar

Resim 3: Enblok şekilde çıkarılan akciğer dokusunun makroskopik görüntüsü

Resim 4: Kontüzyon modeli sonrası 3. Günde sakrefiye edilen ratların akciğer dokularının histopatolojik olarak görünümü

KISALTMALAR

ALI	: Akut akciğer hasarı
AM	: Alveolar makrofaj
ARDS	: Akut respiratuar distres sendromu
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
BT	: Bilgisayarlı tomografi
DAMP	: Hasar ilişkili moleküler patern
GLN	: Glutamin
H&E	: Hematoksilen - Eozin
HSP 70	: Isı Şok protein 70
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
i.p	: İntraperitoneal
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PAMP	: Patojenle ilişkili moleküler patern
PEEP	: Ekspirasyon sonu pozitif basınç
PNL	: Polimorfonükleer lökositler
PPR	: Patern tanıyan reseptörler
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa

ÖZET

PULMONER KONTÜZYON MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA GLUTAMİN VE ARJİNİN TEDAVİSİNİN İNFLAMATUAR YANITA ETKİSİ

Dr. Şükür MUSAYEV

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi ABD

İzmir/Türkiye

Amaç: Biz çalışmamızda; immuno-inflamatuar yanıtta önemli rolü olan glutamin ve/veya arjinin tedavisinin deneysel travma modelinde etkili olup olmadığını histopatolojik olarak değerlendirdik. Çalışmamızın amacı pulmoner kontüzyon sonrası oluşan inflamasyonun azalması için erken dönemde glutamin ve/veya arjinin tedavisinin etkinliğinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmamızda aynı koloniden 24 adet yetişkin, dişi ve ortalama 460 gr ağırlığında Wistar Albino ratlar kullanıldı. Ratlar rastgele olarak beş gruba bölünerek; sham ve travma gruplarında 3, arjinin, glutamin ve glutamin+arjinin gruplarında 6'şer olmak üzere randomize olarak gruplar oluşturuldu. İlk gruptaki ratlara travma uygulanmazken, diğer grup ratlara Raghavendran ve ark.'nın tariflediği izole bilateral pulmoner kontüzyon modelinin modifiye şekli ile kontüzyon uygulandı. İlk gruptaki ratlara herhangi tedavi uygulanmazken, ikinci grup ratlara intraperitoneal (i.p) %0,9 serum fizyolojik uygulandı. Üçüncü grup ratlara i.p glutamin, dördüncü grup ratlara i.p arjinin ve son tedavi grubundaki ratlara glutamin + arjinin tedavisi i.p olarak uygulandı. Tüm gruplarda sakrifikasyon, işlemden üç gün sonra gerçekleştirildi. Sakrifikasyon sonrası histopatolojik değerlendirme yapıldı. Histopatolojik değerlendirmede üç farklı parametre; inflamasyon yoğunluğu, intraalveolar hemoraji ve alveolar konjesyon histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Travma ile glutamin ve arjinin gruplarının karşılıklı analizinde; hem glutamin hem de arjinin grubunda her üç histopatolojik parametrede iyileşme izlenmiş ve istatistiksel olarak

anamlılık saptanmıştır. Ratlarda glutamin ve arjininin ayrı ayrı verilmesi sonucunda iki molekülde de benzer etkiler olduğu görüldü. Tedavi alt gruplarının değerlendirilmesinde, glutamin ve arjininin tedavide birlikte uygulanması, glutamine göre intraalveolar hemoraji ve alveolar konjesyon açısından benzer etkiler göstermesine rağmen, parankimal inflamasyon yoğunluğu açısından tek glutamin tedavisine göre daha olumsuz sonuçlara neden olduğu görüldü. Her üç skorlamada da; Glutamin ve arjininin tedavisinin birlikte uygulandığı ratlarda, tek başına arjinin tedavisine göre daha az etkili olduğu görüldü.

Sonuç: Pulmoner kontüzyon sonrası oluşan inflamasyonun tedavisinde; glutamin ve arjininin ayrı ayrı verilmesi ile faydalı sonuçlar izlenmesine rağmen, bu iki molekülün kombine uygulanmasının diğer tedavi gruplarına kıyasla daha az etkili olduğunu saptadık.

Anahtar Sözcükler: Arjinin, Glutamin, İnflamasyon, Pulmoner kontüzyon

ABSTRACT

EFFECT OF GLUTAMINE AND ARGINE TREATMENT ON INFLAMMATORY RESPONSE IN RATS WITH PULMONARY CONTUSION MODEL

Dr. Şükür MUSAYEV

Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Thoracic Surgery

Izmir / Turkey

Purpose: In our study; We evaluated histopathologically whether glutamine and/or arginine treatment, which has an important role in the immuno-inflammatory response, is effective in the experimental trauma model. The aim of our study is to investigate the effectiveness of glutamine and/or arginine treatment in the early period for the reduction of inflammation after pulmonary contusion.

Method: In our study, 24 adult female Wistar Albino rats with an average weight of 460 g were used from the same colony. Rats were randomly divided into five groups; They were randomly grouped as 3 in the sham and trauma groups, and 6 in the arginine, glutamine and glutamine+arginine groups. While trauma was not applied to the rats in the first group, contusion was applied to the other group of rats with the modified form of the isolated bilateral pulmonary contusion model described by Raghavendran et al. The rats in the first group did not receive any treatment, the rats in the second group were administered intraperitoneally (i.p) 0.9% saline. The rats in the third group were treated with i.p glutamine, the fourth group rats with i.p arginine, and the rats in the last treatment group were given i.p. glutamine + arginine treatment. Sacrification was performed three days after the procedure in all groups. Histopathological evaluation was performed after sacrifice. Three different parameters in histopathological evaluation; Inflammation intensity, intraalveolar hemorrhage and alveolar congestion were examined histopathologically.

Results: In the mutual analysis of glutamine and arginine groups with trauma; In both glutamine and arginine groups, improvement was observed in all three histopathological parameters and statistical significance was determined. As a result of the individual administration of glutamine and arginine in rats, similar effects were observed in both molecules. In the evaluation of the treatment subgroups,

although the combined administration of glutamine and arginine in the treatment showed similar effects in terms of intraalveolar hemorrhage and alveolar congestion compared to glutamine, it was observed that it caused more negative results in terms of parenchymal inflammation intensity than single glutamine treatment. In all three scoring; It was observed that glutamine and arginine treatment were less effective than arginine treatment alone in rats.

Conclusion: In the treatment of inflammation after pulmonary contusion; Although beneficial results were observed with the separate administration of glutamine and arginine, we found that the combined administration of these two molecules was less effective compared to the other treatment groups.

Keywords: Arginine, Glutamine, Inflammation, Pulmonary contusion



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Travma; vücudun mekanik, kimyasal, termal veya elektriksel enerjiye maruz kalması sonucu yaralanması olarak tanımlanmaktadır (1). Özellikle genç nüfusta önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan travma, günümüzde en önemli sağlık problemlerinden biridir.

Toraks travmaları; basit, izole kot fraktürlerinden, yaşamı tehdit eden yaralanmalara kadar geniş yelpaze oluşturmaktadır. Kafa ve ekstremitte travmalarından sonra üçüncü sıklıkta görülür (2). Toraks travmaları travmaya bağlı tüm ölümlerin yaklaşık %25'inden sorumludur (3).

Temel olarak künt göğüs travmasına bağlı ortaya çıkan akciğer kontüzyonu; alveoler konjesyon ve hemoraji, alveoler yapının bütünlüğünün bozulması, ödem ve lökosit infiltrasyonudur. Bu travma; akut akciğer hasarı, akut solunum yetmezliği ve pnömoni gelişimini kolaylaştırmaktadır.

Günümüzde pulmoner kontüzyon tedavisinin temelini destekleyici yaklaşımlar oluşturmaktadır ve kesin belirlenmiş bir farmakolojik tedavisi yoktur. Bu çalışmada, daha önce pek çok alanda faydalı olduğu ispatlanmış, immuno-inflamatuvar yanıtta önemli rolü olan glutamin ve arjinin tedavisinin etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 TORAKS TRAVMASI

2.1.1 Tanım ve Epidemiyoloji

Travmalar basit olarak künt ve penetran olarak sınıflandırılır. Künt toraks travmaları %70 oranla daha çok karşımıza çıkmaktadır ve mortalitesi genellikle diğer organ (karaciğer, dalak, beyin ve b.) yaralanmalarının da eşlik etmesinden dolayı penetran travmalardan daha yüksektir (4). Günümüzde künt göğüs travmalarının %24-34'ünde pulmoner kontüzyon gözlenmektedir (5). Künt toraks travması ile birlikte bulunan yaralanmalar sıklık sırasına göre: ekstremitte kırıkları (%54), kafa travması (%44), batin travmaları (%21), pelvis travmaları (%12) ve spinal yaralanmalar (%6)'dir (6).

Güncel cerrahi ve acil tıp bilgileri; pulmoner kontüzyonun ciddi komplikasyonlarla ilişkili solunum yetmezliğinin gelişimine neden olabileceğinden yakın takip ve gözlemi zorunlu kılar (5). Künt göğüs travması sonrası gelişen pulmoner kontüzyon; akut akciğer hasarı, akut solunum yetmezliği ve pnömoni gelişimini kolaylaştırmaktadır. Bu komplikasyonlar, erişkinlerde %10-25 gibi yüksek oranda mortalite ile seyretmektedir (7). Morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olması ve belirgin bir tedavi yönteminin olmaması nedeni ile akciğer kontüzyonu hakkında deneysel ve klinik araştırmalar günümüzde de devam etmektedir.

2.1.2 Tarihçe

Toraks travmasıyla ilgili en eski bilgi (sternum ve kot kırığından bahsedilmiştir) Mısır'da milattan önce 1600 yıllarında Edwin Smith Papirusları'nda yer alır (8). Hipokrat ve Galen toraks yaralanmaları konusunda tedavi önerilerinde bulunmuşlar. Hipokrat ilk olarak hemoptiziyi tariflemiştir ve hemoptizi gelişen hastalarda akciğer dokusunda yaralanma olasılığından dolayı basit kot kırığından daha ciddi bir patoloji olduğunu söylemiştir (9).

Göğüs duvarı travmasının eşlik etmediği ilk akciğer parenkim hasarı, 1761'de Morgagni tarafından bildirilmiştir. İngiliz literatüründe bununla ilgili ilk görüşler R. W. Smith tarafından 1840'ta yayınlanmış ve kemik yapıda yaralanma olmaksızın ortaya çıkan akciğer hasarı, gençlerdeki göğüs duvarının elastikliği ile ilişkilendirilmiştir (10).

Torasentez, birinci dünya savaşı yıllarında hemotoraks tedavisi için yaygın olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, ikinci dünya savaşı yıllarında gecikmiş hemotoraks olgularında dekortikasyon yapılmaya başlanmıştır (11). Savaş süresince yapılan çalışmalar da travma etkisinin en önemli klinik yansıması olarak akciğer kontüzyonu tanımlanmıştır (12). Savaşlar sırasında yapılan araştırmalar, akciğer kontüzyonu tedavisinin gelişmesinde önemli rol oynadı (13).

2.1.3 Künt Toraks Travmasının Patofiziolojisi:

Pulmoner kontüzyon tipik olarak göğüs duvarına yapılan künt travmanın sonucudur. Travma sırasında göğüs duvarı yaralanmaya direnç gösterir ve absorbe ettiği kinetik enerjiyi akciğerlere iletir (14). Alveollerde ortaya çıkan aşırı gerilme ve yırtılma, alveollerin bronşiolardan ayrılması, intraalveoler kanama, interstisyel ödem ve sonuçta meydana gelen alveolokapiller hasar, akciğer kontüzyonu olarak tanımlanır. Motorlu taşıt ve motosiklet kazaları bu yaralanma modelinin en yaygın nedenleridir. Patlama travması da bu yaralanma modelinde büyük öneme sahiptir ve akciğerler, patlama yaralanmalarında en sık yaralanan ikinci organdır (15).

Wagner ve arkadaşları, etiyoloji ve bu yaralanma sürecindeki risklerin daha iyi değerlendirilmesi amacıyla pulmoner kontüzyonu 4 alt tip olarak ayırmıştır (tablo – 1) (16).

Tablo – 1 Pulmoner kontüzyon tipleri

<i>Pulmoner kontüzyon tipleri</i>
<i>Tip I</i>
Akciğer parenkimine direk göğüs duvarı kompresyonu sonucu olan yaralanmalar, en sık görülen vaka tipi
<i>Tip II</i>
Akciğer parenkiminin vertebra osseöz yapılarına doğru ani yer değişmesi ile yırtılması
<i>Tip III</i>
Altda yatan kırık kotların doğrudan hasarı sonucu akciğer parenkiminde gelişen lokalize lezyonlar
<i>Tip IV</i>
Altda yatan plöropulmoner adezyonlar nedeniyle oluşan yaralanmalar

Toraks travmaları içerisinde akciğer kontüzyonu, kosta fraktürlerinden sonra %30-77 oranla ikinci sıklıkla görülür. Bu yaralanmada bulgular travmanın ağırlığına ve alveokapiller hasarın derecesine bağlıdır. Genelde multitravma ile birlikte görüldükleri için gözden kaçabilirler (17).

Akciğer kontüzyonunun oluşum mekanizması hakkında üç temel görüş vardır (18):

- 1) Spalling (patlama) etkisi:** Akciğer gibi hava iştirakli organlarda, şok dalgaları ile ilk temas yüzeyinde spalling etkisi ile alveolar harabiyet oluşması ve çarpan enerji dalgasının pozitif basıncı nedeniyle alveolların gerilmesi ve yırtılması.
- 2) İnertial (eylemsizlik) etkisi:** Enerji dalgası ile, yoğunluğu farklı olan alveol ve bronşların farklı hızlarda hareket etmesi sonucu alveol ve bronşların ayrılması.
- 3) İmpulsion (ribaund) etkisi:** Enerji dalgasının alveol yüzeyindeki sıvı-gaz temas yüzeyine çarparak ortak yüzeyini ayırması.

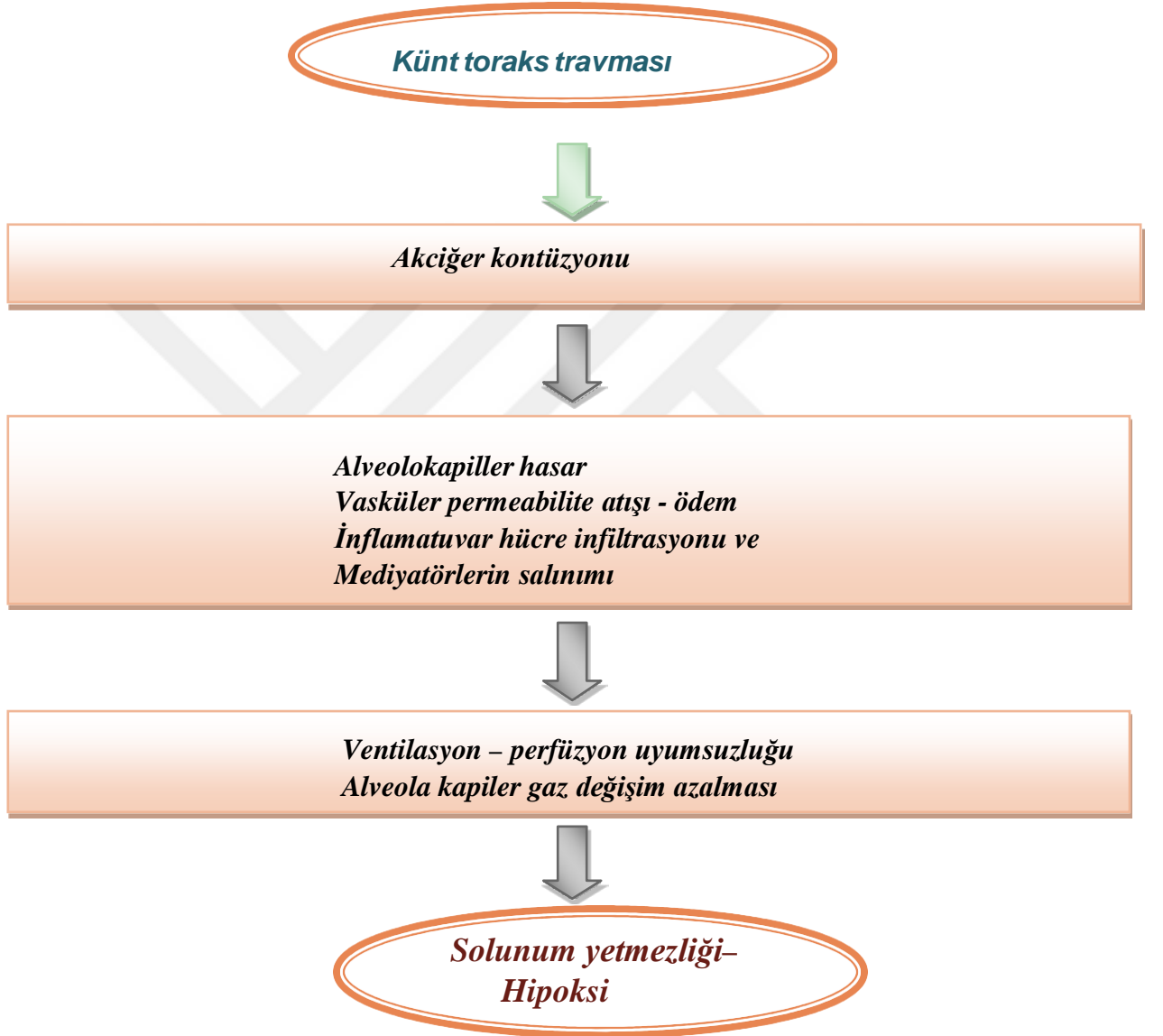
Akciğerin direk laserasyonu göğüs duvarının sıkışması veya kot fraktürü nedeniyle olur. Doku içine olan kanama alveoler fonksiyonlarda kayıp ve bronkospazm ile irritasyona sebep olur, klirens azalmasıyla mukus üretimi artar, sürfaktan üretimi azalır ve alveoler kollapsa neden olur (19). Ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğu, artan intrapulmoner şant, akciğer ödemi, segmental akciğer hasarı ve uyum kayıpları akciğer kontüzyonunun patofizyolojisini oluşturur (tablo- 2) (20). Akciğer kontüzyonundaki patofizyolojik

değişiklikler, kontüzyon sonrasında süre ile bağlantılı olacak şekilde değişiklik göstermektedir.

Akciğer kontüzyonunda patolojik bulgular travmanın ağırlığına ve alveolokapiller hasarın derecesine bağlıdır. Bu fizyopatolojik bozulma sonucu parsiyel oksijen basıncı ilk 24 saatte kötüleşir. İlk günün sonunda alveollerin normal yapısı bozulur ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür. Kontüzyona uğramamış bölgelerde de azalmış surfaktan, artmış mukus üretimi, bronş ağacının kan ve ödem sıvısı ile dolması nedeni ile gelişen atelektazi ve konsolidasyon da klinik tablonun ağırlaşmasına katkıda bulunur (22). Akciğer kompliyansı, sürfaktan içeriği ve kan akımı azalır. Pulmoner vasküler direnç ile alveoler–arteriyel oksijen basınç farkı artar. Sonuçta; akciğerdeki dolaşım bozulur, mikrosirküler şok meydana gelir. Tüm bu olaylar iskemiye bağlı hücre hasarına ve serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumuna neden olur (23). SOR reperfüzyon esnasında hücreler için daha yüksek oranda toksik olmaktadır. Hücre zarı bütünlüğünü bozulur, hücre permeabilitesi artar ve lipid peroksidasyonu ve membran hasarı sonucu hücre ölümü meydana gelir (21).

Majör toraks travması geçiren hastalarda, alveolokapiller hasara bağlı gaz değişimi azalması ile arteriyel hipoksi oluşmaktadır. Hipoksemiye bağlı olarak pulmoner vazokonstriksiyon gelişebilmektedir ve pulmoner kapiller basıncın vasküler basıncı aşması durumunda intrapulmoner şant gelişir ve bu mekanizma ciddi hipokseminin nedenidir (20).

Tablo -2 Akciğer kontüzyonunun patofizyolojisi



2.2 AKCİĞER KONTÜZYONU

2.2.1 Akciğer Kontüzyonunda Akut İnflamatuvar Yanıt:

Akciğer kontüzyonunda yaralanma bölgesindeki vasküler yanıt, inflamasyonun ortaya çıkmasında en önemli etkidir. Travmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arteriyal vazodilatasyon oluşması, travmaya ikincil oluşan akciğer kontüzyonu ile epitelyal ve endotelyal hücrelerde bozulma ve alveolokapiller membranın geçirgenliğinin artması sonucunda vasküler permabilite artışına neden olur. Direk veya dolaylı yollar ile akciğerlere gelerek toplanan makrofajlar; potansiyel inflamatuvar mediatörler olan, kemokin, sitokin, komplemen komponentleri gibi birçok farklı mediyatörleri üretir ve polimorf nüveli lökositler (PMNL) ile inflamatuvar yanıt oluşur. PMNL infiltrasyon miktarı ile oluşan hemoraji miktarı kolerasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostoglandinler, trombosit aktive edici faktor, SOR ve serotonin gibi inflamasyon medyatörleri yaralanmış lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuvar hücreler için kemotaktik olan bu maddeler doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olurlar (24).

Kontüzyon sonrası ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtın bir ürünü olan TNF- α ve IL-6'nın hasardan 180 dakika sonra anlamlı oranda arttığı görülmüştür ve bu durumun hasarın şiddeti ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (25).

2.2.2 Akciğer Kontüzyonunda Klinik

Akciğer kontüzyonu olan hastalar hızlı bir şekilde kötüleşebilir. Bu nedenle, ayrıntılı muayene ve değerlendirme, genellikle zaman kısıtlı olduğundan zordur ve hastalar mutlaka tam olarak monitörize edilmelidir. Bu hastalarda en önemli yapılması gereken, solunum yeterliliğinin tespitidir. Solunum sayısı ve derinliği, hava yolu açıklığının olması, aspirasyon ve sekresyon kontrolü, hemoptizi ve siyanoz hemen değerlendirilmelidir. Solunum kontrolü ile eş zamanlı hemodinami de değerlendirilmelidir. Nabız sayısı, arteriyal tansiyon ve cilt rengi yol gösterici olabilir (26).

Künt toraks travması sonrası solunum sıkıntısı nedeniyle hastaneye başvuran hastada; öncelikle tansiyon pnömotoraks ve hemotoraks dışlanmalıdır. Sonrasında kot fraktürleri ve yelken göğüs gibi göğüs duvarı patolojileri bulunamazsa şiddetli akciğer kontüzyonu düşünülmelidir. Daha önce de belirtildiği gibi, lokalize göğüs duvarı travması

olmaksızın akciğer kontüzyonu görülebilir ve bu hastalar genellikle birden fazla ciddi travma mekanizmalarından kaynaklanan yaralanmaya sahiptir. Solunum semptomları ve akciğer kontüzyonun radyolojik bulguları ilk yaralanma anından itibaren gecikebileceğinden, kontüzyonu belirlemek için hastaları yakından takip etmek ve sıklıkla yeniden değerlendirmek önemlidir. Fizik muayene açıklayıcı olmayabilir, buna rağmen şiddetli kontüzyon durumlarında raller ve solunum seslerinde azalma görülebilir.

2.2.3 Akciğer Kontüzyonunda Radyoloji:

Travma hastasının klinik değerlendirilmesi tamamlandıktan ve hemodinamik olarak stabil hale getirilmesinden sonra yapılan radyolojik incelemeler, hastaya yaklaşımda ve yapılan tedaviye karar vermede önemli role sahiptir (27). Toraks patolojisi düşünülen veya varsayılan hastalardaki ilk görüntüleme yöntemi direkt akciğer grafisidir. Daha ileri incelemeler, şüphelenilen yaralanma tipine ve hastanın hemodinamik stabilitesine bağlıdır (28).

Direk grafide plevra ve akciğerlerin değerlendirilmesi yapılarak ilk önce tansiyon pnömotraks ve hematoraks ekarte edilmelidir (29). Akciğer kontüzyonunda travmanın şiddetine bağlı olarak radyografik değişiklikler ilk 4-6 saatte belirgin hale gelmeye başlarken, bazı hastalarda görülmesi 24 saate kadar gecikebilir. Bu nedenle 6 ila 12 saatlik periyotlarla kontrol grafiler önerilmektedir. Çekilen grafilerde tek ya da multipl sayıda yamalı alveolar infiltrasyon görülebilir. Bu lezyonlar flu ve kenarları siliktir ve bunlar birleşerek bir lobu ya da bütün bir akciğeri tutan homojen infiltrasyonlar oluşturabilir. Travmaya bağlı oluşan bu infiltrasyonların çevresindeki kanın ve ödemin zamanla absorbe olması ile görüntü keskin kenarlı olur (30). Tam rezolüsyon birkaç gün ile birkaç hafta arasında oluşur. Lezyonda rezolüsyonun gecikmesi durumunda; hematoma, akciğer parenkiminin yırtılması, aspirasyon, bakteriyel pnömoni veya akut respiratuvar distress sendromundan şüphelenmelidir (31).

Direk akciğer grafisinin acil travma hastalarında genellikle yatarak çekilmesi nedeniyle, patolojilerin gösterilmesinde duyarlı olsalar da özgüllükleri oldukça düşüktür. Özellikle, hematoma akciğer kontüzyonu ayırımında bu görüntüleme yöntemi ile zorluk çekilmektedir (32). Toraks travma hastalarındaki akciğer patolojilerinin değerlendirilmesinde, toraks bilgisayarlı tomografinin (BT) diğer görüntüleme yöntemlerinden %60 oranında daha üstün olduğu gösterilmiştir (33).

Toraks BT sadece hemodinamik olarak stabil hastalarda uygulanan bir yöntemdir, bu nedenle anstabil bir hasta, hayatı tehdit eden koşullarda toraks BT odasına taşınmamalıdır. Toraks BT deneysel modellerde akciğer kontüzyonunu belirlemede yüksek hassasiyete sahiptir. Bu yöntem akciğer kontüzyonlu vakalarda yaralanma derecesinin doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlar. Bununla birlikte, direk grafide tespit edilmeyen, yalnızca toraks BT’de görülebilen akciğer kontüzyonlarının klinik olarak anlamlı olmaması ihtimali vardır. Toraks BT’deki kontüzyonun özellikleri yaralanmanın ciddiyetine bağlıdır: Buzlu cam opasitesi, kısmı alveolar dolgulu, esas olarak interstisyel bir hasarın göstergesidir. Oysa konsolidasyon, sıklıkla laserasyonlarla ilişkili ciddi bir alveolar hasarın göstergesidir (29). Distal hava yollarında kanama ve ödem nedeniyle akciğer kontüzyonunda hava bronkogram bulgusu nadir görülür.

Ayrııcı tanıda aspirasyon, atelettazi ve pnömonilere dikkat edilmelidir.

2.2.4 Akciğer Kontüzyonunda Tedavi:

Akciğer kontüzyonu tanısı ile yatırılan hastaların genel durumu hızlı bir şekilde kötüleşebileceğinden tam olarak monitörize edilmelidir. Öncelikli amaç solunum yetmezliğinden kaçınmak ve yeterli doku oksijenlenmesini sağlamaktır (34). Travma sonrası hastalarda destekleyici tedavi ön plandadır. Destekleyici tedavinin amacı solunum yetmezliğini önlemek, ağrıyı gidermek, hava yollarının temizliğini artırmak ve oluşabilecek komplikasyonları önlemektir.

Travma sonrası hastalar da solunum stratejisinin amacı, pulmoner koruyucu solunum sağlamaktır. Bu şekilde alveolların aşırı şişkinliği ve yapısal hasarını azaltabiliriz. Arteriyel kan gazında parsiyel oksijen basıncı (PaO₂) 60 mmHg’nın üzerinde olacak şekilde oksijen verilmelidir. Ciddi akciğer kontüzyonlarında mekanik ventilasyon ihtiyacı da olabilir. Mekanik ventilatör gerektiğinde 6-8 ml/kg ideal vücut ağırlığı olarak hesaplanan düşük tidal hacimli solunum hedeflenmelidir (35). Travma sonrası vücudun verdiği metabolik yanıt ve ağrının şiddeti hastanın genel durumunu belirleyen ana faktörlerdir. İnspirasyonla şiddetlenen göğüs ağrısı hipoventilasyona, diğer ağrı türleri hiperventilasyona neden olur, her ikisi de solunum fonksiyonunu olumsuz etkiler, bu nedenle analjezi sağlanmalıdır. Hava yolları obstrüksiyonu ve atelettazi gelişimini önlemek için sekresyonların temizliği ve solunum fizyoterapisi desteği sağlanmalıdır.

Travma sonrası gelişen akciğer hasarının tedavisinde önemli basamaklardan biri de intravenöz sıvı replasmanıdır. Hemodinamiyi yönetmek çok önemlidir. Kontrolsüz

uygulanan sıvı replasmanı sonucu gelişen hipervolemi, pulmoner ödemini arttırdığından ve sonunda difüzyon/perfüzyonu oranını kötüleştirdiğinden sıvı yüklenmesinden kaçınılmalıdır (36). Özellikle, sodyum içeren sıvıların hızlı verilmesi ile kanama odakları etrafındaki ödemli alanların büyüdüğü gözlemlenmiştir. Buna göre kristaloit sıvıların beraber onkotik basıncın desteklenmesi ve kapiller permabilitenin azalması için kolloid sıvıların verilmesi önerilmektedir. Akciğer kontüzyonlu hastaya verilecek olan sıvının tipi ve miktarında tam bir konsensus yerleşmemiş olmasına rağmen saatlik idrar çıkışının kolloid ile yaklaşık olarak 0.5 ml/kg düzeyinde tutulmaya çalışılması önerilmektedir (37). Tartışmalı olan bu konuda sıvı replasman miktarı ve hızı ile akciğer kontüzyonun kötüleşmesi arasında bir ilişki olmadığını savunanlar da vardır (18). Resüsitasyon maksadıyla hızlı bir şekilde ve büyük miktarda sıvı vermek gerekliyse, pulmoner arter basınçları ve pulmoner kapiller wedge basınçları ölçülmelidir. Kan kayıpları kan veya kan komponentleri ile replase edilmeli ve hemoglobinin 10 mg/dl'nin üzerinde tutulmaya çalışılmalıdır.

Toraks yaralanması sonrası ortaya çıkan komplikasyonlar ve ek yaralanmalar ivedilikle tedavi edilmelidir. Küçük ölçekli pnömotoraks varlığı durumunda, spontan olarak emilebileceğinden gözlem yeterli olabilir. Ancak mevcut ek yaralanmalar gaz değişiminde bozulmaya neden oluyorsa veya pozitif basınçlı ventilasyon ihtiyacına neden oluyorsa, torasik drenaj kesinlikle endikedir. Akciğer kontüzyonlu hastalarda profilaktik antibiyotik tedavisi enfeksiyon belirtiler olmadığı sürece, bakteriyel direnç gelişimini sınırlamak amacıyla önerilmemektedir (38).

Bazı çalışmalar, inhalasyon ajanlarının şiddetli kontüzyonu olan hastalarda kullanımını önermiştir. Bu ajanlar, travma sonrası alveolar patolojinin çeşitli düzeylerinde ağır solunum bozukluğu gelişen hastalarda ventilatörsüz günlerin sayısını artırabilir, ancak bu tedavinin doğrudan olumlu etkileri hala doğrulanmamıştır (39). Benzer şekilde statinlerin endotel fonksiyonunu iyileştirmedeki etkisini ve asetilsalisilik asitin (aspirin) akciğerdeki mikro trombusların sayısını azaltmadaki rolünü ve böylece ARDS insidansını azaltmaya katkısını değerlendiren çalışmalar yapılmıştır (40,41).

2.3. Akut Akciğer Hasarı Komplikasyonları:

Toraks travması, şiddetine göre akciğer kontüzyonundan akut akciğer hasarı (acute lung injury: ALI) ve akut respiratuar distres sendromu (acute respiratory distress syndrome: ARDS) gibi ciddi morbidite ve mortalite nedenlerinden olan akut solunum yetmezliği sendromlarına kadar ilerleyebilir. ALI'den sağ kalan hastalarda bile, uzun vadeli yaşam kalitelerinin olumsuz yönde etkilendiğine dair kanıtlar vardır (42). ALI/ARDS akciğer kompliyasında azalma, pulmoner epitel ve endotelial hücrel hasar, alveolar ödem gelişimine yol açan inflamasyon, apoptoz, nekroz ve artmış alveolar-kapiller geçirgenlik ile karakterizedir (43).

1994 yılında Kuzey Amerika-Avrupa Konsensus Konferans Komitesi (American-European Consensus Conference Committee) ALI/ARDS için konsensüs tanımının kabul edilmesini tavsiye etti ve yeni tanı kriterleri belirlenerek ARDS, ALI'nin en ağır formu olarak kabul edildi (tablo-3) (44).

Tablo- 3 ALI/ARDS tanımları

<u>ALI/ARDS, AECC tanımları (1994)</u>				
<i>Kriter</i>	<i>Başlangıç</i>	<i>Hipoksemi</i>	<i>Radyolojik özellik</i>	<i>Pulmoner Wedge Basıncı</i>
ALI	Akut	$PaO_2/FiO_2 < 300$ (40kPa)	Bilateral infiltrasyonlar	PCWP ≤ 18 mm Hg veya sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları olmaması
ARDS	Akut	Hafif: $200 \text{ mmHg} < PaO_2/FiO_2 \leq 300 \text{ mmHg}$ ile PEEP ve ya CPAP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$ Orta: $100 \text{ mmHg} < PaO_2/FiO_2 \leq 200 \text{ mmHg}$ ile PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$ Ciddi: $PaO_2/FiO_2 \leq 100 \text{ mmHg}$ ile PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$	Bilateral infiltrasyonlar	PCWP ≤ 18 mm Hg veya sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları olmaması

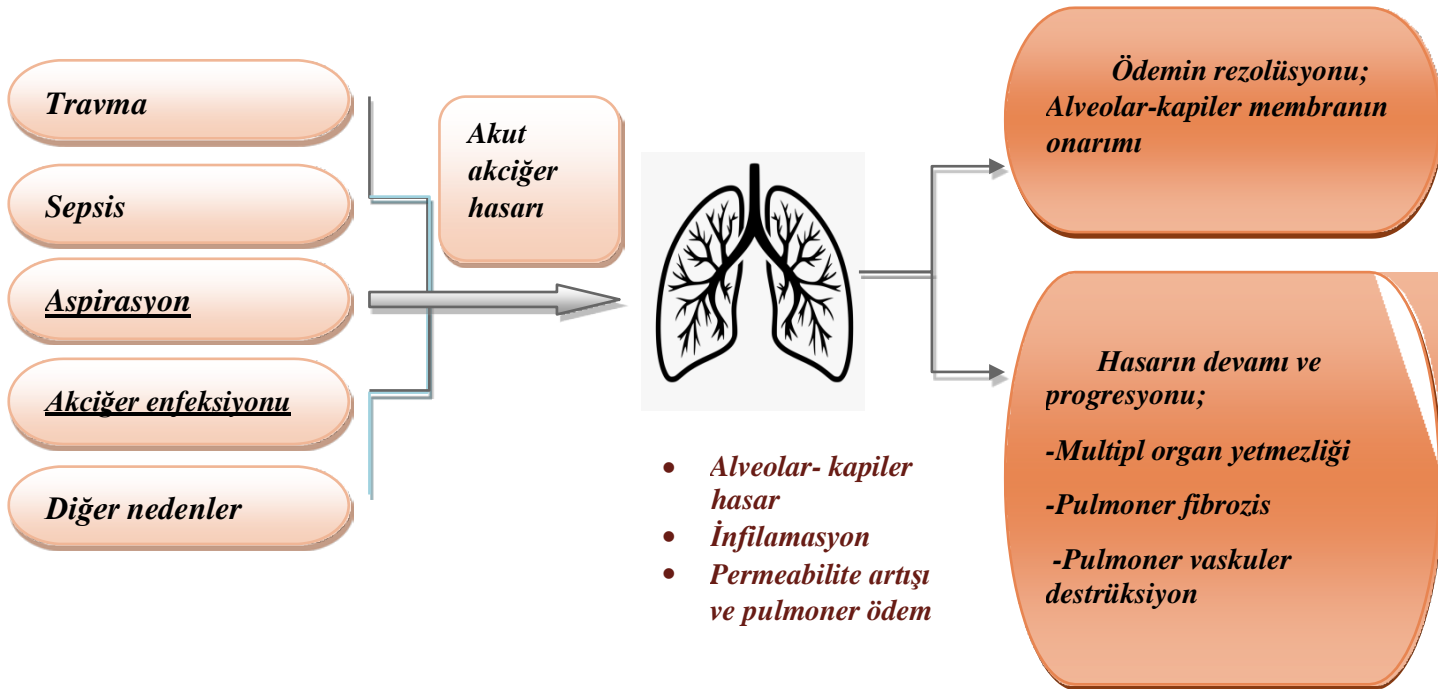
Kısaltmalar: AECC: Amerikan Avrupa Konsensüs Konferansı, ALI: Akut akciğer hasarı, ARDS: Akut respiratör distres sendromu, CPAP: Sürekli pozitif havayolu basıncı, FiO_2 : İnspire edilen oksijen fraksiyonu, PaO_2 : Parsiyel arteriyel oksijen basıncı, PEEP: Ekspirasyon sonu pozitif basınç, PCWP: Pulmoner kapiller wedge basıncı
Not: Hipoksemi kriteri (yani $PaO_2/FiO_2 < 200 \text{ mmHg}$) hastanın ventilatör ayarlarından, özellikle kullanılan PEEP seviyesinden önemli ölçüde etkilenebilir.

2.3.1 Epidemiyoloji ve Etiyoloji:

Ashbaugh ve arkadaşlarının 1967’de akut solunum yetmezliği olan 12 kritik hastadan oluşan bir kohortu tanımlamak için kullandığı ilk ARDS tanımından bu yana, sendromun çeşitli klinik yönlerini ele alan çok sayıda çalışma yapılmıştır. AECC’nin tanı kriterlerini belirlediği konsensüste ARDS, ALI’nin en ağır formu olarak kabul edilmiştir. Bu doğrultuda travma sonrası gelişen tüm ARDS’li hastalarda ALI görülmesine rağmen, ALI olarak değerlendirilen hastalarda ARDS gelişmeyebilir. Travma sonrası gelişen ALI nedeniyle izlenen hastaların %38’inde ARDS saptanmıştır (45).

ARDS’nin yaygın etiyolojileri arasında ciddi travmatik yaralanmalar, sepsis, pnömoni ve mide içeriğinin aspirasyonu bulunur (şekil-1) (46). Daha az yaygın etiyolojiler arasında iskemi reperfüzyon hasarı, transfüzyonla ilişkili akut akciğer hasarı (TRALI), akut pankreatit, yağ embolisi ve boğulma yer alır (47). Kemik iliği ve solid organ nakli yapılan hastalarda rejeksiyon önleyici ilaçların kullanımı ve sonuç olarak nakil için gerekli immunosupresyon nedeniyle, bu hastalar ARDS için risk altındaki grup olarak tanımlanmaktadır. Böbrek transplantasyonu uygulanan (42.190 hasta) hastaları kapsayan bir çalışmada ARDS insidansı %0,2 olarak değerlendirilmiştir (48).

Şekil- 1 ALİ/ARDS etiyoloji.



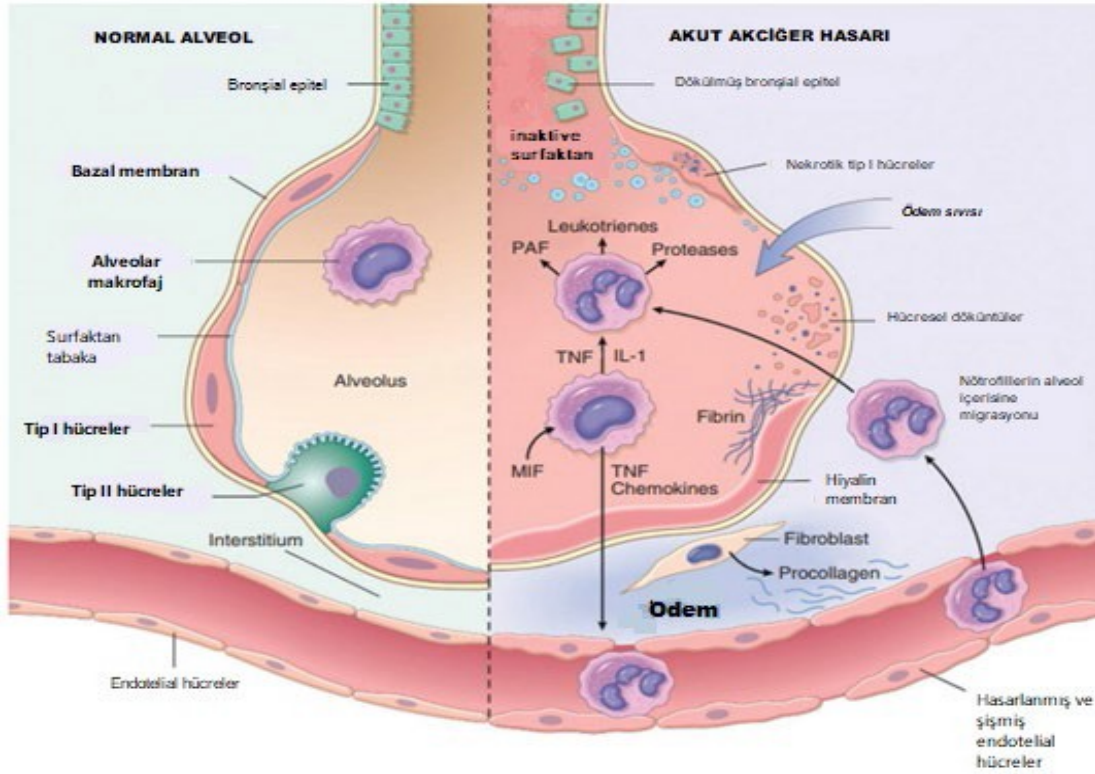
Arroliga ve ark.'nın Kuzeydoğu Ohio'da yetişkin bir popülasyonda ARDS insidansını değerlendirmek için yaptığı bir çalışmada, ARDS'nin en yaygın nedeninin doğrudan akciğer hasarı (%76) olduğunu, ardından pulmoner olmayan sepsis (%18), diğer tüm nedenler (%6,0) olduğunu bulmuştur (49).

Klinik bozukluk ve yaş gibi diğer faktörler ALI ve ARDS insidansını etkileyebilir. Daha önceki çalışmalar ile benzer olan Rubenfeld' in kohort çalışmasında ALI insidansı; 15-19 yaşlarında yılda 16/100.000 iken, 75-84 yaşlarında yılda 306/100.000 olarak gözlemlenmiştir (50). Alkol kötüye kullanımı ve sigara dumanına maruz kalma gibi çevresel faktörler, risk altındaki hastalarda ARDS gelişme olasılığını artırabilir.

2.3.2 Patogenez:

Travma sonrası gelişen ALI (nonkardiyojenik pulmoner ödem) /ARDS, pulmoner epiteliyal ve endotelial bariyerinin bozulması ve pnömositlerin yaralanması nedeniyle oluşan çok siddetli inflamatuvar cevap ile karakterizedir ve bu patolojik durumun histolojik görünümü yaygın alveolar hasardır (51). Bu akut inflamatuvar yanıtın patofizyolojisine çeşitli humoral elemanlar (sitokinler, growth faktörler, kompleman sistemi, proteazlar, nitrik oksit (NO) ve kinin sistemi) ve hücrel mekanizmalar (lenfositler, nötrofiller (ana faktörler), trombositler ve makrofaj /monositler) katkıda bulunur (52) ve artan inflamasyon da akciğer hasarı döngüsünü harekete geçirir (şekil- 2) (53).

Şekil-2: Normal alveol (sol tarafta) ile akut akciğer hasarı ve akut respirator distress sendromunda erken faz alveolun karşılaştırılması.



IL-1, interlökin-1; MİF, makrofaj migrasyon inhibitor faktör; PAF, trombosit aktive edici faktör; TNF, tümör nekroz faktör

- Endotel aktivasyonu: Pnömosit hasarına sekonder olarak alveolar makrofajlar tarafından endotelyum üzerinden tümör nekroz faktör (TNF) gibi mediatörler salgılanır. Şiddetli travmaya bağlı doku hasarı veya sepsis gibi durumlarda enflamatuvar mediatörler direkt pulmoner endotelyumu aktive edebilir ve bu aktivasyon endotel hücrelerinde hasar oluşturur. Bazı sitokinler ise endotel hücrelerini aktive ederek kemokinleri, prokoagulan proteinleri ve adhezyon moleküllerini artırır.
- Nötrofillerin adhezyonu: Aktive edilmiş nötrofiller akut inflamasyonun önemli belirteci olup endotelyuma yapışarak alveollere ve interstisyuma geç ederek reaktif oksijen radikalleri, proteazlar, sitokinleri ve başka enflamatuvar mediyatörleri degranüle eder.

- Hiyalin membranların oluşması ve intraalveolar sıvı birikimi: Alveolokapiller membran (interstisyum ve alveolar epitelyum, mikrovasküler endotel) permeabilite artışı, intra-alveolar proteinden zengin sıvının artmasına ve ödem oluşmasına neden olur. Aynı zamanda tip II alveolar pnömositlerin hasarı da alveolar gaz değişimini azaltır. Sonuç olarak, proteinden zengin sıvı ve nekroze olmuş alveolar epitel hücreleri hiyalin membranlar halinde organize olurlar.
- Hasarın rezolüsyonu: Enflamatuvar uyarının azalmasıyla makrofajlar PDGF (platelet kaynaklı büyüme faktör) ve TGF- β (transforme edici büyüme faktör- β) gibi sitokinler salarlar ve bu faktörler alveol fibrozisine neden olur (54) (Resim -2). ARDS nedeniyle hayatını kaybeden hastaların ultrastrüktürel çalışmalarında epitel hasarı; vakuolizasyon ve sitoplazmik şişme gibi hafif yaralanmadan nekroz ve epitel tabakasının tamamen kaybına kadar değişir (55).

2.3.2.1 Nötrofiller:

Nötrofillerin (Polimorfonükleer lökositler (PNL)) transepitelyal migrasyonu akut akciğer hasarının önemli bir özelliğidir. Travma sonrası nötrofillerin uzun süreli aktivasyonu bazal membran yıkımına ve alveolar-kapiller permeabilite artışına katkıda bulunur. İmmunolojik savunmada önemli rol alan nötrofiller, kompleman aktivasyonuna bağlı hücresel yanıtta işlev görmektedir. Nötrofiller sitotoksik moleküller olan kemokin, sitokin, ROS, granül proteinler (proteolitik enzim ve kationik peptidler) gibi enzimlerin serbestleşmesini sağlar. Nötrofil türevi olan serin proteaz elastaz önemli antimikrobiyal fonksiyonunun yanı sıra akciğer hasarı patogeneğinde de önemli rol almaktadır (56). Bu enzimin plazmada ve bronkoalveolar lavajdaki (BAL) seviyeleri ALI/ARDS gibi durumların ciddiyeti ile kolerasyon göstermektedir (57). Nötrofiller aynı zamanda demir bağlayıcı protein olan, MIP-1 α (makrofaj inflamatuvar protein-1 α) ve MIP-2 (makrofaj inflamatuvar protein -2) gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini indükleyen, antiviral ve antibakteriyel etkisi olan laktoferrinin de önemli bir kaynağıdır (58).

2.3.2.2 Makrofajlar:

Makrofajlar (mononükleer fagositik sistem ve ya retikuloendotelial sistem) monosit orijinli hücreler olup antijen sunumu, sitokin üretimi (IL-1, IL-8 ve TNF başta olmak üzere) ve fagositik aktivite gibi önemli işlevleri yerine getirmektedir (59). Bu hücreler doku ve organlarda yaygın olarak bulunmaktadır ve buldukları yere göre adlandırılırlar (akciğerde-alveolar makrofaj, böbrekte-mezangial makrofajlar, karaciğerde-Kupffer hücreleri, beyinde-mikroglial hücreler vb.). Vücuttaki makrofajlar, farklı işlevleri, uyarana verdiği tepki ve transkripsiyonel profilleri baz alınarak genellikle iki farklı alt gruba ayrılırlar: Pro-inflamatuar tip (klasik olarak aktive edilmiş M1) ve anti-inflamatuar tip (alternatif olarak aktive edilmiş M2 makrofajlar) (60,61,62). Bu farklılık makrofajlardaki arjinin metabolizmasına yansımaktadır. Böylece, M1 makrofajlar arjinini NO'ya metabolize ederek hücrel öldürme aktivitelerinin teşvik edilmesine aracılık eder. M2 makrofajlar ise arjinini ornitine metabolize etme konusunda yetenekli olup konak savunmasında ve yara iyileşmesinde önemli rol üstlenmektedir (63).

Alveolar makrofajlar (AM), konak savunmasında, doku yeniden şekillendirilmesinde ve homeostazda kritik rol oynayan fagositlerdir. Bu lökosit popülasyonu BAL'da en çok bulunan hücrelerdir, ama kronik veya akut enflamatuvar hastalıklarda lenfositler (alerjik alveolit, sarkoidoz vb.) ve nötrofiller (kistik fibrozis, akut enfeksiyonlar, akut respiratuvar distress sendrom vb.) bu dengeyi değiştirebilir (64). AM'ların ALI/ARDS patogenezinde rolünü araştıran çalışmalarda AM'lerin tükenmesinin sıçanlarda pulmoner ödem ve mekanik ventilatörün neden olduğu barotravmalarda akciğer hasarını önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir ve bu durum pro-inflamatuar sitokinlerin azalmasına ve nötrofilik alveolitin azalmasına bağlanmıştır (65).

2.3.2.3 Sitokinler

Akut inflamasyon sonucu gelişen akciğer hasarında, özellikle ARDS patogenezinde sitokinler, özellikle IL-1 β (interleukin 1-beta) ve TNF α (tumor necrosis factor - alpha) kilit rol oynamaktadır. Ek olarak, ALI/ARDS oluşturulan hayvan modellerinde IL-8, IL-6, kemotaktik kemokin, IL-18 ve IL-33'ün önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir (66). BAL'da bu sitokinlerin seviyelerinin artması ile akciğer oksijenizasyonundaki bozulma derecesi tahmin edilebilir. Daha yüksek IL-6, trombomodülin ve IL-8 düzeyleri olan ARDS gelişen hastalarda ventilatörsüz gün sayısı önemli ölçüde azalmaktadır (67).

2.3.2.4 Travmatik Hasar İlişkili Sinyal Reseptörleri

PRR (patern tanıyan reseptörler); travmatik hasar sonrası immun hücreler tarafından eksprese edilen sitozolik veya hücre yüzeyi proteinleri olup her biri spesifik molekül tarafından aktive edilmektedir. PPS ligandları; hasarla ilişkili moleküler modeller, DAMP'lar (hasar ilişkili moleküler paternler), ve patojenle ilişkili moleküler modeller, PAMP'lar (patojenle ilişkili moleküler paternler), olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. DAMP'lar intrinsik moleküller olup hasarlı hücrelerden veya hücre dışı moleküllerden sağlanmaktadır. PRR'lerin aktivasyonu ayrıca IL-1 β , IL-8 ve TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin aktivasyonuna yol açar (68). Doku yıkımının gözlemlendiği multi travma ve yanık yaralanmaları gibi durumlarda protein DAMP'ların, HSP (ısı şok proteinler) ve HMGB1 (Yüksek mobilite grup kutusu 1), ARDS'nin progresyonunda kritik rol oynadığı tahmin edilmektedir (69). HMGB1 proteini immun hücrelerden salındıktan sonra matürasyon, proliferasyon, enflamasyon, hayatta kalma ve hücre ölümüne kadar çok sayıda hücre düzenleyici işlemde önemli rol oynamaktadır (70) ve bu etkileşim TLR2 (toll benzeri reseptör 2), TLR4 (toll benzeri reseptör 4) ve RAGE (İleri glikozillenmiş son ürün reseptörü) gibi reseptörlerle olmaktadır. Başka bir nükleer bağlayıcı protein olan histon, travmadan sonra dolaşıma salınır ve hayvan modellerinde enflamasyona ve ALI/ARDS'ye neden olabilir (71).

2.3.3 Tedavi

ARDS, multipl organ yetmezliği sendromunun başlıca belirtilerinden biridir ve yoğun bakım ünitesinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (72). Arteriyel hipoksemi ve bilateral pulmoner infiltrasyon ile karakterize olan bu durumda kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği ve hiperhidrasyon dışlanmalıdır. Diffüz alveolar hasar (DAD), ARDS için patogonomik bir bulgudur.

Günümüzde ARDS tedavisinde kesin belirlenmiş bir farmakolojik tedavi yoktur. Bu nedenle optimal tedavi için çeşitli terapötik-farmakolojik ve destekleyici yaklaşımlar gerekmektedir.

2.3.3.1 Farmakolojik Tedavi:

Kortikosteroidler: ALI/ARDS tedavisinde kortikosteroidlerin yeri anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle araştırılmaktadır. Yüksek doz kortikosteroidlerin kullanıldığı çalışmalarda bu tedavinin sağkalım üzerine faydası izlenmemiştir (73) fakat uzun süreli düşük-orta doz kortikosteroid tedavisinin morbidite ve mortalite sonuçlarında ümit verici olduğu izlenmiştir. Bu nedenle ciddi ARDS durumlarında düşük doz kortikosteroid kullanımına ilgi artmaktadır (74).

İnhale vazodilatörler: İnhale nitrik oksid, güçlü vazodilatator ve anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle ARDS'ye sekonder gelişen pulmoner hipertansiyon ve ventilasyon/perfüzyon bozukluğunun tedavisinde kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda inhale vazodilatörlerin oksijenizasyonu iyileştirmesine rağmen, bu ilaçların şiddetli ARDS ($PaO_2/FIO_2 \leq 100$ mmHg) gelişen durumlarda hastaların mekanik ventilatörden erken dönemde ayrılmasına ve sağkalım üzerine yarar sağladığına dair görüşler tam olarak desteklenmemiştir (75).

Asetilsalisilik asit (ASA): ARDS patogenezinde önemli bir adım da pulmoner vasküler yapılara nötrofillerin ve trombositlerin birikmesidir. Bu tedavi ile, trombosit inhibisyonunun, ARDS modeli oluşturulan hayvan deneyi modellerinde daha iyi sonuçlara yol açtığı gösterilmektedir (76).

ARDS'de klinik sonuçları iyileştirmek için çoklu farmakolojik terapi yolları denenmiştir. Denenen farmakolojik tedavilerin birçoğunun, örnek olarak intavenöz β_2 -adrenerjik agonistler, sürfaktan replasmanı, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, statinler (Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reduktaz inhibitör), antioksidantlar, omega-3, prostaglandin E1, IFN- β 1 (interferon-beta 1) ve lisofilin (anti-inflamatuar), ARDS tedavisinde başarısız olduğu gözlemlenmiştir (77).

2.3.3.2 Destek Tedavisi:

ALI/ARDS gelişen hastalarda uygulanan destek tedavisinin temelinde solunum desteği (oksijen takviyesi ve pozitif basınçlı ventilasyon dahil), besin takviyesi ve dikkatli sıvı tedavisi durmaktadır.

Solunum desteği: ALI'de ciddi hipoksemi görülen vakalar dışında, 48-72 saat içinde iyileşme başlar ve bu iyileşme süresi yaklaşık bir hafta da tamamlanır.

Hafif formlu ARDS'li hastalarda non-invaziv pozitif basınçlı ventilasyondan yararlanarak invaziv mekanik ventilasyondan kaçınmak faydalı olmaktadır. Mekanik ventilatöre bağlı ARDS'li hastalarda tidal volümün <6 ml/kg/dk (tablo-3) ve plato basıncının (plateau pressure-PP) <30 cmH₂O olarak ayarlanmasının mortalite üzerine fayda sağladığı bilinmektedir (79). Yüksek veya düşük PEEP (positive end expiratory pressure) uygulanan hasta grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (80). Bununla birlikte, retrospektif alt grup analizleri daha yüksek PEEP düzeylerinin şiddetli ARDS'de faydalı olabileceğini öne sürmüştür.

Tablo- 4 ARDS tedavi şeması

ARDS tedavi tönnetimi		
Hafif: PaO ₂ /FIO ₂ 200 mmHg < PaO ₂ /FIO ₂ ≤ 300 mmHg ile PEEP ≥ 5 cm H ₂ O	Orta: PaO ₂ /FIO ₂ 100 mmHg < PaO ₂ /FIO ₂ ≤ 200 mmHg ile PEEP ≥ 5 cm H ₂ O	Ciddi: PaO ₂ /FIO ₂ ≤ 100 mmHg ile PEEP ≥ 5 cm H ₂ O
Düşük tidal volümle ventilasyon (<6 ml/kg, plato basıncı <30 cmH₂O)		
Konservatif sıvı denge hedeflenmesi		
	Prone pozisyon (>12 saat/gün)	
	Yüksek PEEP	
	Nöro-musküler blokaj (ilk 48 saat)	
	ECMO (Ekstrakorporeal membran oksijenizasyonu)	

Besin takviyesi: Günümüzde ARDS hastalarında spesifik bir beslenme rejimini destekleyen hiçbir kanıt yoktur. Buna rağmen, ARDS gelişen hastalarda N-3 yağ asitleri, gama-linoleik asit ve antioksidanlarla diyet takviyesinin hem klinik hem de fizyolojik sonuçlar üzerinden yapılan birkaç randomize çalışmada faydalı olabileceği ileri sürülmüştür (81).

Sıvı tedavisi: Sıvı denge tedavisi ARDS yönetiminde önemli olduğu kadar aynı zamanda tartışmalıdır. Bu tedavideki ana amaç kan volümünü, kardiyak debiyi ve parsiyel oksijen basıncını optimal seviyede tutacak minimal pulmoner kapiller oklüzyon basıncını sağlamaktır. ARDS gelişen vakalarda akut dönemde sıvı resusitasyonu ile hemodinamik

stabilizasyon sağlanmalıdır. Yapılan konservatif yaklaşımda ana amaç pulmoner arter oklüzyon basıncının (PAOB veya PCWP-Pulmonary Capillary Wedge Pressure) <12 mmHg ve santral venöz basıncının (CVP-Central Venous Pressure) <9 mmHg olmasını sağlamaktır (82).

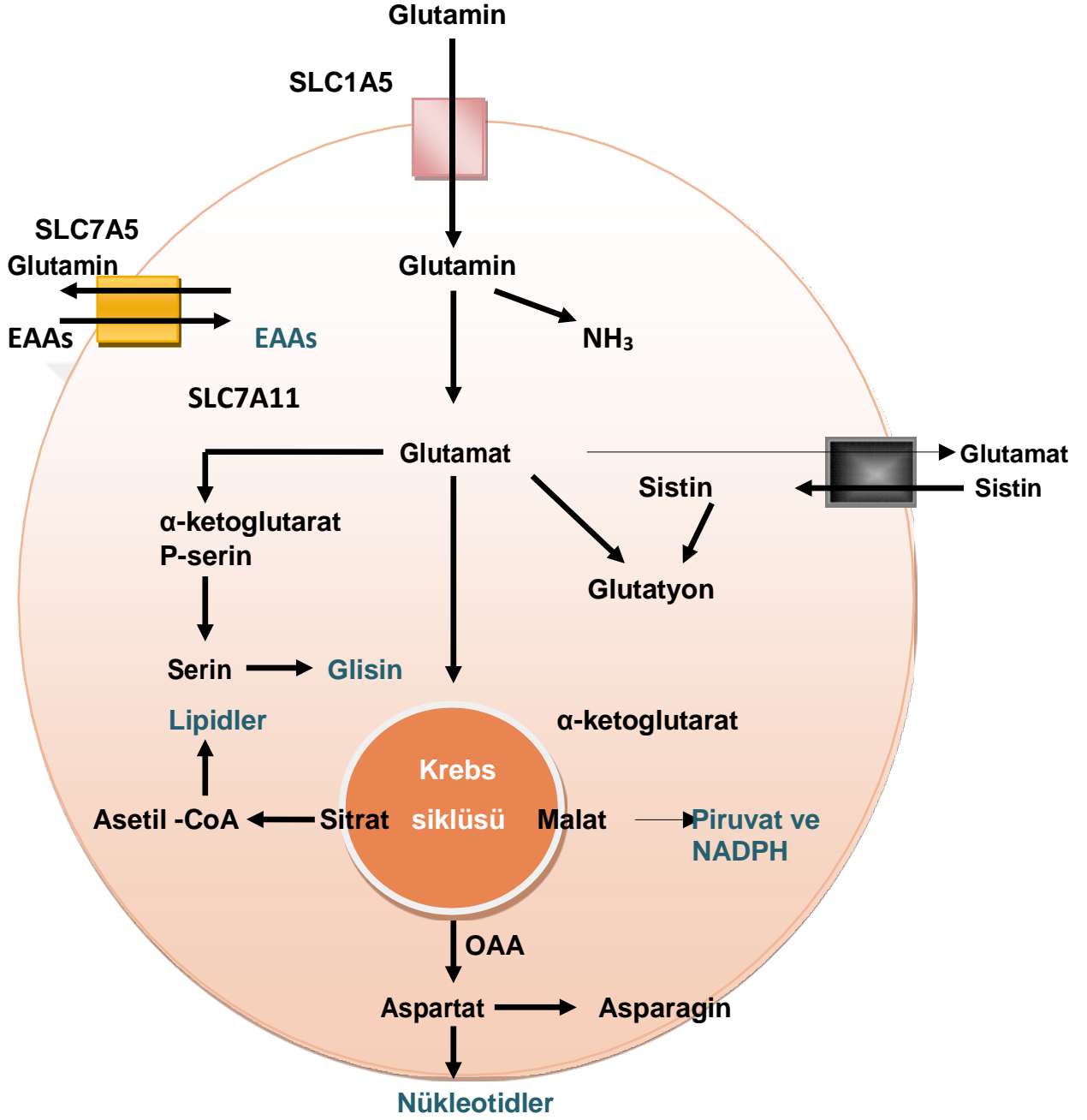
2.4 Glutamin

Glutamin beş karbon atomu içeren, moleküler ağırlığı 146.15 kDa olan, insanda en bol bulunan ve bölünen hücrelerdeki nükleotid sentezinin prekürsörü olan bir nötr aminoasit olup temel işlevi proliferasyonun arttığı durumlarda (büyüme, enflamasyon vb.) hücre proliferasyonunu desteklemektir. Sağlıklı, 70 kg ağırlığında bir bireyde yaklaşık 70 ila 80 gr glutamin bulunmaktadır (83). Güncel farmakokinetik ve izotopik teknikler kullanılarak, insan vücudunda glutaminin endojen üretiminin 40 gr/gün ile 80 gr/gün arasında olduğu tahmin edilmiştir (84). İnsan vücudunda glutaminin majör plazma havuzunu iskelet kası oluşturmaktadır (85). İnsanlarda ve ratlarda minör ama yine de önemli glutamin kaynağı yağ dokusudur (86). Karaciğer glutamini sentezleyebilmesine ve katabolize etmesine rağmen ne insanlarda ne de ratlarda plazma seviyesine önemli bir katkısı yoktur (87).

Glutamin akciğerler de dahil olmak üzere vücuttaki birçok doku tarafından sentezlenebilen, vücutta en bol bulunan ve normal metabolik durumlarda esansiyel olmayan amino asit olarak kabul edilmektedir. Glutamin organlar arasındaki azot değişiminde, bağışıklıkta ve pH homeostazında kritik rol oynamaktadır (88). Glutamin aynı zamanda peptid, protein, lipid, amino şeker, purin ve pirimidin, nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH), antioksidan, glukoamin sentezinde ve hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alan diğer birçok biyosentetik yolların sentezinde çok önemli bir substrattır (şekil-3) (89).

Şekil -3 Hücresel glutamin metabolizmasının şematik görünümü

EAA- esansiyel amino asit, OAA – oksalaasetik asit, NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

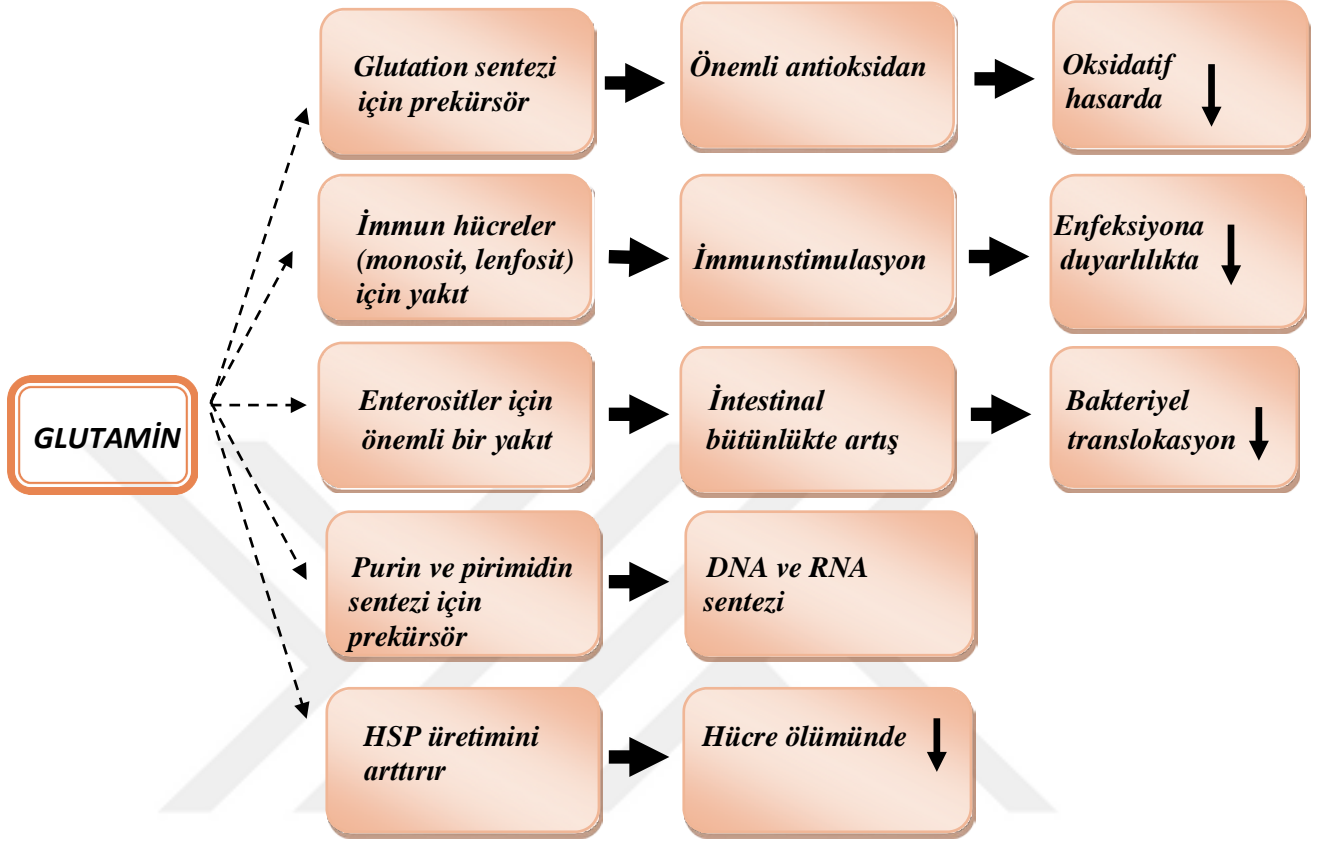


İmmun sistem hücrelerinin aktivasyonu, bu hücrelere önemli enerji ve substrat kaynağı gerektirir. Bu nedenle glutamin, immünmodülasyonda önemli rol oynamaktadır. İmmun hücrelerin aktivasyonunda yüksek düzeyde ekstraselüler glutamin gerekmektedir.

Son 20 yılda yapılan araştırmalar göstermiştir ki, lökositlerin glutamin ve glukoz kullanım oranları birbirine yakındır ve hatta bazı durumlarda glutamin daha yüksek oranlarda metabolize olabilir (90,91). Bundan başka, makrofajlar (opsonine bağlı fagositoz, sitokin sentezi ve nitrik oksit salgılanması), nötrofiller (antimikrobiyel ROS üretimi ve hayatta kalmak için) ve lenfositler (proliferasyon ve sitokin sentezi) (92) spesifik efektör fonksiyonlarını sürdürmek için glutamine bağımlıdır (93). Yapılan hayvan deneylerinde glutaminin oral alımının, intestinal T-lenfositlerin lokal immünostimulan etkisini arttırdığı gözlemlenmiştir (94).

Akciğerlerdeki glutamin metabolizması, prekürsör olarak glutamat ve dallanmış zincirli amino asitleri kullanarak de novo olarak biyosentezlenen glutamin ile desteklenmektedir. Pan ve ark. akciğer parankiminde glutamin alımının %80'inin yüksek afiniteli Na⁺ bağımlı taşıyıcı sistem aracılığıyla gerçekleştiğini, %19'unun ise Na⁺ bağımsız sistem aracılığıyla gerçekleştiğini gösterdi (95). Ratlarda sepsis sonrası geliştirilen ALI modelinde, glutamin eklenen total parenteral beslenmenin nitrojen dengesi ve sağkalım oranı üzerine önemli ölçüde faydası olduğu ve arteriyel oksijen parsiyel basıncını önemli ölçüde arttırdığı izlenmiştir (96). Bildiğimiz gibi, nötrofiller ALI patogeneğinde çok önemli bir konumda bulunmaktadır. Glutamin alımı nötrofillerin migrasyonunu ve enflamasyonunu önlemekte olup aynı zamanda alveolar bariyeri koruyarak enflamatuvar hasarı azaltmaktadır. Bu sonuçlar, glutatyon sentezi ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak, glutamin takviyesinin BAL sıvısında total hücre ve nötrofil sayılarını ve total protein konsantrasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir (97). Glutamin takviyesi akciğerlerde glutatyon sentezini ve akciğer HSP70 (ısı şok protein 70) ekspresyonunu arttırmakta olup aynı zamanda alveolar epitelyum hücrelerinden TNF- α salınımını, akciğerlerde miyeloperoksidaz aktivitesini, akciğer parankiminde IL-8 salınımını engelleyerek akciğer hasarını azaltmaktadır (şekil-4) (98, 99).

Şekil-4. Glutamin takviyesinin travmada kullanımının şematik görünümü



Diyetle alınan glutamin normal şartlarda yeterli olmasına rağmen; sepsis, yanık, travma ve major cerrahi gibi metabolik stres durumlarında insan vücudu daha fazla glutamine ihtiyaç duymaktadır. Bu metabolik stres durumlarında azalan glutaminin yerine konulmasının şemada da gösterildiği üzere immün sistem, yara iyileşmesi, negatif nitrojen dengesi regülasyonu, protein sentezi desteklenmesi ve gastrointestinal sistem üzerine olumlu etkileri farklı çalışmalarda gösterilmiştir (100).

2.5 Arjinin

Arjinin, vücutta birçok önemli metabolik yolakta rol alan yarı esansiyel bir aminoasittir. Arjininin endojen sentezi stres altında ve hemolitik anemi (101), astım (102), travma (103), yanık ve sepsis gibi katabolik durumların arttığı zamanlarda azalmaktadır.

L-arjinin travmaya yanıtta metabolik, immün ve onarıcı yanıtta kilit rol oynamaktadır. Arjinin proteinli diyetten, vücut protein yıkımından (yaklaşık %80) veya böbreklerde endojen de novo (%10-%15 total arjinin üretimi) elde edilir. Arjinin, barsak lümeninden (özellikle jejunumdan) enterositler tarafından alınarak aktif transportla emilir. Emilen L-Arjinin portal dolaşım ile karaciğere taşınır. Karaciğerde metabolize olmamış L-Arjinin sistemik dolaşıma geçer. L-Arjinin oral yolla alındıktan yaklaşık 1-2 saat sonra plazmada en yüksek düzeylere ulaşır (104).

L-arjinin metabolizmasında glutamat, NO ve agmatin gibi nörotransmitter görevleri olan ürünler ortaya çıkmaktadır (Şekil-5). Aynı zamanda L-arjinin insulin, katekolaminler, büyüme hormonu, glukagon ve prolaktin gibi hormonların salgılanmasını da uyarılmaktadır (105).

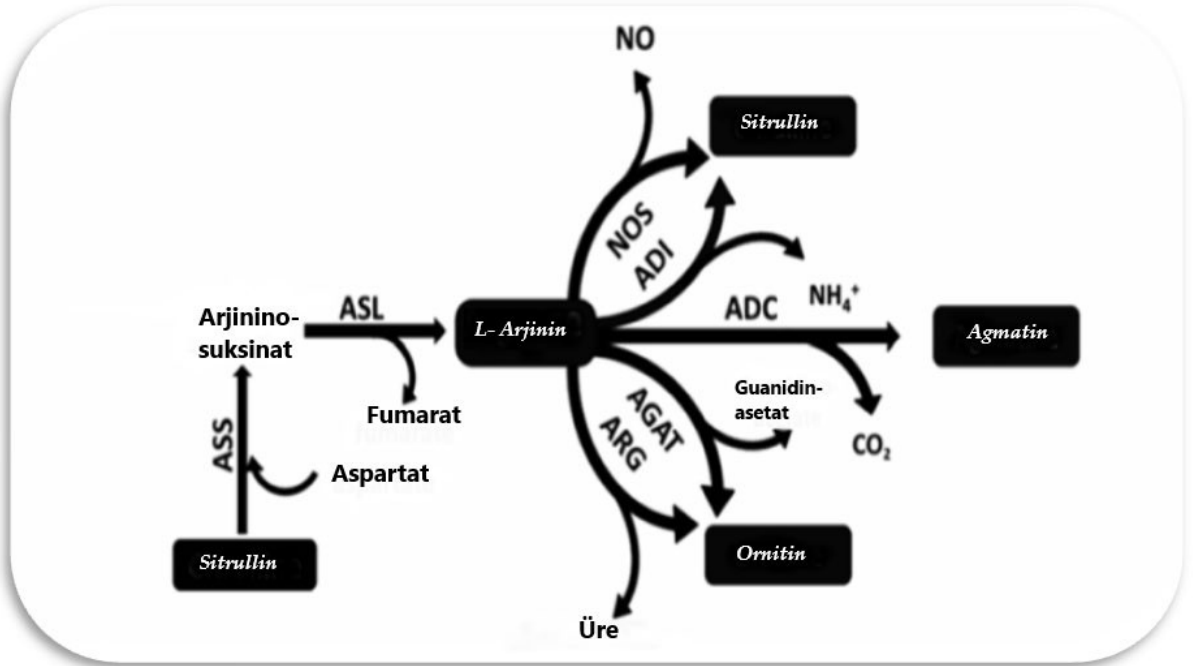
L-arjininin en önemli fizyolojik özelliklerinden bir tanesi hücre metabolizmasının ana düzenleyicilerinden biri olan nitrik oksit (NO) oluşumunda nitrik oksit sentaz enziminin tek substratı olmasıdır. NO etkisini sGMP düzeyini artırarak göstermektedir (106). NO, vazodilatasyon, trombosit agregasyonu inhibisyonu ve nötrofil adhezyonu, ksantin oksidaz (XO) supresyonu gibi çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir. Son zamanlarda L-arjininin, in vitro O_2^- ile etkileşim sonucu oluşan reaktif oksijen radikallerine (ROS) karşı koruyucu rolünün de olduğu gösterilmiştir (108). Ayrıca, ratlarda L-arjinin uygulanmasının, pulmoner nötrofil birikimini önlediği ve endotoksin salınımı sonrası pulmoner endotel fonksiyonunu koruduğu gözlemlenmiştir (109).

NO, L-arjinin amino asiti ile moleküler oksijenin nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından kataliz edilmekte ve kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmodülün ve tetrahidrobiopterinin rol oynadığı enzimatik reaksiyon sonucu sentez edilmektedir (110). NOS enzimleri, yapısal NOS (cNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere 2 ana gruba ayrılır.

cNOS vasküler endotelde (eNOS), nöronlarda (nNOS) ve plateletlerde bulunur (111) ve kısa zamanda düşük konsantrasyonda NO sentezinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (112). Yapısal NOS çeşitli organ sistemleri için bazal seviyelerde gereklidir.

iNOS ise kardiyomiyositler, hepatositler, mikroglial hücreler, düz kas hücreleri ve vasküler endotel hücrelerde bulunan; lipopolisakkaritler, sitokinler ve büyüme faktörleri ile sentezi artan; kalmodülinle sıkı bağlantı yapan ancak cNOS gibi kalsiyuma gereksinim duymayan ve uzun zamanda yüksek konsantrasyonda NO sentezlenmesini sağlayan bir enzimdir (113).

Şekil -5 L-arjinin biyosentezi ve metabolik yolları: ASS, arjinin suksinat sentaz; ASL, arjinin suksinat liyaz; NOS, nitrik oksit sentaz; ADI, arjinin deaminaz; ADC, arjinin dekarboksilaz; AGAT, arjinin glisin amidinotransferaz; ARG, arjinaz



Travma sonrasında NO sentezi azalır ve karaciğerden salınan NOS ve arjinaz enzimleri L-arjinini substrat olarak kullanır. Respiratuvar sistemdeki epitelium hücrelerinden, enflamatuvar hücrelerden (makrofajlar, nötrofiller, mast hücreler) ve vasküler endotelden salınan NOS ile NO sentezi sonucunda, platelet agregasyonu ve nötrofil infiltrasyonunu engellenir. Bunun sonucunda, guanilat siklaz aktivasyonu ve sGMP artışına bağlı olarak hava yolu düz kaslarında gevşeme (114), DNA sentezinde azalma, anti-prolifertif etki (115), pulmoner dolaşımda vasodilatasyon, hava yolu submukozal bez

sekresyonunda uyarıcı aktivasyon (116) görülür. Yapılan bir çalışmada NO sentezini arttırmak için intravenöz L-arjinin verilmesi ile hasarın engellendiği gösterilmiştir (117).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deney protokolü Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no: 23/2020). Ratlar, Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Rehberine uyularak, Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Laboratuvarında bakıldı. 24 adet aynı koloniden ortalama 462 gram ağırlığında (min:405; max:493) gr ağırlığında dişi Wistar albino ratlar bu çalışmada kullanıldı. Ratlar 21°C ile 23°C arasında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde tutuldu. Kolay temin edinebilme, güvenilir sonuç verme ve deneyin tekrar edilebilme oranının yüksek olması sebebiyle rat modeli kullanıldı.

Tüm ratların bakımı, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen Deneyleeri Hayvanlarının Bakım Prensipleri'ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan, Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı Kılavuzu'na uygun olarak yapıldı.

Sham ve travma gruplarında 3, ajinin, glutamin ve glutamin+arjinin gruplarında 6'şer olmak üzere randomize olarak gruplar oluşturuldu.

3.1 Anestezi ve travma

Çalışmamızda kullanılacak olan ratlar deney öncesinde ağırlıkları tartılarak 80 mg/kg intraperitoneal ketamine HCL (Ketalar, Pfizer Pharma GMBH, Germany,2020) ve 8 mg/kg xylazine (Alfazyne %2, Alfasan International, Holland,2020) intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi sağlandı. İşlem boyunca ratlar solunumları spontan olarak devam edecek şekilde uyutuldu. Akciğer kontüzyonu, Raghavendran ve ark.'nın tariflediği izole bilateral pulmoner kontüzyon modelinin modifiye şekli olan, alüminyum metalden imal edilmiş olan silindirik şekildeki ağırlığın, vertikal olarak platform üzerine monte edilmiş paslanmaz çelik tüpün içinden serbest düşürülmesi ile oluşturuldu (Resim – 1) (118).



Resim- 1 Deneysel kontüzyon modelinin oluşturulması

Sham grubu hariç ratlara 1,94 joule kuvvet ile künt toraks travması uygulandı. Çarpma enerjisi (E), $E=mgh$ formulu ile hesaplandı [m = kütle (kilogram), g = yerçekimi ivmesi (9.8 m/s^2), h= ağırlığın bırakıldığı yükseklik (metre)]. Sürtünme kuvveti gözardı edildi. Kullanılan ağırlık 180 gr ve yükseklik 110 cm olduğundan göğüs duvarına transfer edilen enerji 1,94 joule olarak hesaplandı.

Travma sonrası sıçanlara 2 lt/dk akım hızı ile oksijen (Gez Oxyhome Oksijen Konsantratörü) (resim -2) verilerek, bütün deneklerin solunum, beslenme ve sıvı ihtiyaçları takip edildi.



Resim -2 Travma modeli sonrası oksijen desteği alan ratlar

Tedavi protokolü:

Ratlar standart pellet yemlerle ve su ile beslendi. Travmadan sonra yem veya su kısıtlamasına gidilmedi. %0,9 sodyum-klorur ile %20'lik glutamin (Resource® Glutamin | Nestlé Health Science,2020) solüsyonu ve % 14,5'lik arjinin (L-Arginine 500 mg I Solgar,2020) solüsyonları hazırlandı.

Deneysel dizayn:

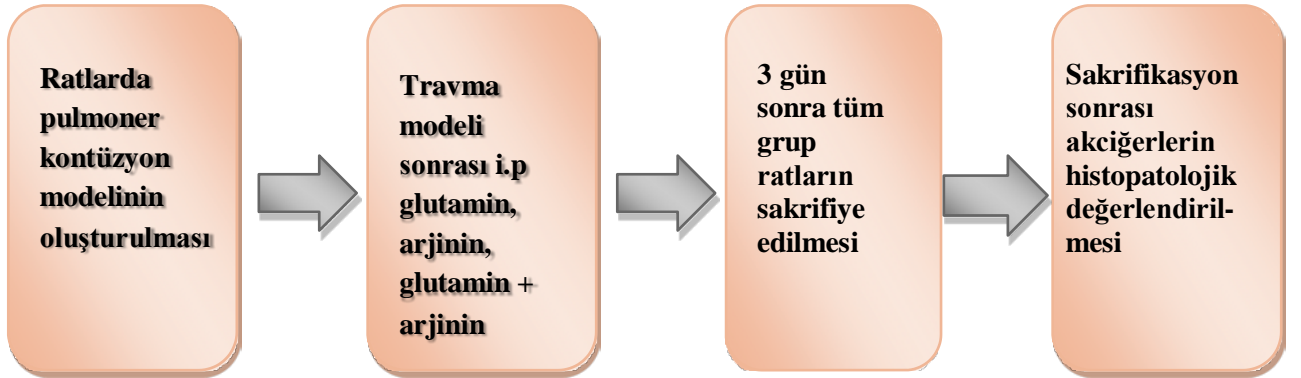
Sham ve travma gruplarında 3, ajinin, glutamin ve glutamin+arjinin gruplarında 6'şer olmak üzere randomize olarak gruplar oluşturuldu.

- I. Sham grubu (n=3): bu grup ratlarda hiç kontüzyon oluşturulmadı ve herhangi tedavi uygulanmadı.

- II. Travma grubu (n=3): Bu grup ratlara anestezi altında 1,94 joule enerji ile travma uygulandı ve oksijen desteği verildi. Travma sonra 3 gün boyunca 4 ml intraperitoneal (i.p) %0,9'luk serum fiziolojik uygulandı.
- III. Glutamin grubu (n=6) : bu grup ratlara pulmoner kontüzyon modeli oluşturulmasını takiben 3 gün boyunca standart 4 ml %0,9'luk serum fiziolojide çözündürülmüş 200 mg/kg/gün dozunda glutamin özel amino asit karışımı i.p yöntemiyle verildi.
- IV. Arjinin grubu (n=6): Ratlara travma sonrası 3 gün boyunca 4 ml %0,9 serum fiziolojide çözündürülmüş 150 mg/kg/gün dozunda arjinin i.p olarak verildi.
- V. Glutamin + Arjinin grubu (n=6): Bu gruptaki ratlara travma sonrası 3 gün boyunca hem 4 ml %0,9 serum fiziolojide çözündürülmüş 200 mg/kg/gün dozunda glutamin , hem de 4 ml %0,9 serum fiziolojide çözündürülmüş 150 mg/kg/gün dozunda arjinin i.p olarak verildi. (şekil -6)

Tüm gruplardaki denekler travmadan sonraki 3. günde sakrifiye edildi. Sağ akciğer dokusu ana bronştan kesilerek alınan dokular %10 formaline konuldu. Elde edilen dokular bazal değerlerin elde edilmesi amacı kullanıldı.

Şekil- 6: Deney protokolünün şematik görünümü



Histopatolojik inceleme

Ratlar sakrifiye edildikten sonra doku örnekleri (resim- 3) %10 luk formalin solusyonda 48 saat bekletilerek fiske edildi. Daha sonra fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla sırasıyla %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika; ardından 4 farklı aseton serisinde 20'şer dakika bekletildi.

Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutuldu. 1'er saatlik 2 kez yumuşak parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular sert parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5µ kalınlığında kesitler alındı. Her deneğe ait kesitler dokunun genel histomorfolojik özelliklerini değerlendirmek için hematoksilin-eozin boyası ile boyandı.

Morfometrik Değerlendirmeler:

Deney gruplarındaki her bir denek için sağ akciğerden ayrı ayrı beş bölgeden parankimal infamasyon, alveolar konjesyon ve alveolar hemoraji yoğunluğa göre semikantitatif olarak skorlandı.

Semikantitatif Skorlama:

Parankimal infamasyon, alveolar konjesyon ve alveolar hemoraji olarak histolojik hasarlar 0 ve 3 arasında değerlendirilerek skorlamaya tabi tutuldu (0: hiç değişiklik yok, 1: az hasar <%25, 2: orta şiddette hasar %25-%50 ve 3: şiddetli hasar> %50).

Görüntü Analiz Metodu

Kesitlerden elde edilen görüntülerin incelenmesinde bilgisayarlı video kamera esaslı görüntü analiz yöntemi kullanıldı (UTHSC Image software). Tüm kesitler (her doku için en az 5 kesit) analiz edilerek; sadece boyamaya bağlı belirgin artefaktları olan kesitler değerlendirme dışı tutuldu. Boyama tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX-51 Tokyo, Japan) incelenerek, görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı. Bütün kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

Histopatolojik değerlendirme 3 farklı parametre ile yapıldı.

İnflamasyonun derecelendirilmesi:

Parenkimal inflasyon derecelendirilmesi: hücre yoğunluğuna göre yapıldı.

Grade 0- inflamasyon yok

Grade 1- az hasar <%25

Grade 2- orta şiddette hasar %25-%50

Grade 3- : şiddetli hasar > %50

İntraalveolar hemorajinin derecelendirilmesi:

Grade 0- hemoraji yok

Grade 1- fokal hemoraji

Grade 2- yamalı (5 büyütme alanından küçük odaklar, ancak multifokal)

Grade 3- yaygın (5 büyük büyütme alanı boyunca)

Alveolar konjesyonun derecelendirilmesi:

Grade 0- alveolar konjesyon yok

Grade 1- fokal alveolar konjesyon

Grade 2- yamalı (5 büyütme alanından küçük odaklar, ancak multifokal)

Grade 3- yaygın (5 büyük büyütme alanı boyunca)

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel değerlendirme SPSS 24.0 (Statistical Package of Social Sciences Versiyon 24.0) programı kullanılarak değerlendirildi. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Witney U testi kullanıldı ve tüm değerler median (minimum ve maksimum değerler) olarak gösterildi. p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Maksroskopik bulgular

Çalışmamıza toplamda 24 rat dahil edildi. Sham grubu dışında 21 rata travma modeli oluşturuldu. Kontüzyon sonrası izlem sırasında, kontüzyondan hemen sonra ratlarda akut solunumsal depresyon olduğu, fakat saniyeler içerisinde bu durumun düzeldiği ve normal solunum hareketlerine tekrar kavuştukları gözlemlendi. Travma uygulanan ratlarda sakrifikasyon sonrası akciğerlerin makroskopik değerlendirilmesinde özellikle ratların sağ akciğerlerinde heterojen tarzda kontüzyonla uyumlu bulgular tespit edildi (resim -3). Tedavi uygulanan ratlarda da makroskopik düzeyde travma grubundakine benzer şekilde değişikliklerin sebat ettiği gözlemlendi.



a) Anterior görüntü



b) Postreior görüntü

Resim -3 Enblok şekilde çıkarılan akciğer dokusunun makroskopik görüntüsü;

4.2 Histopatolojik bulgular

4.2.1 İnflamasyonun değerlendirilmesi:

Tüm grupların histopatolojik incelenmesinde, sham grubundaki ratlarda parankimal inflamasyon saptanmadı (grade 0). Travma grubunda ise, tüm ratların akciğer parankiminde grade 3 hasar izlenmiştir. Glutamin tedavisi uygulanan ratların üçünde az hasar (grade 1), diğer üç ratda da grade 2 hasar izlenmiştir. Arjinin tedavisi uygulanan grupta ise altı ratın beşinde grade 1 hasar, bir ratda ise grade 2 hasar saptanmıştır. Glutamin ve arjinin tedavisinin birlikte uygulandığı ratlarda ise ratların beşinde grade 2 hasar, birinde ise grade 3 hasar izlenmiştir (tablo-1).

Tablo -5: Tüm grup ratların inflamasyon skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

Grup	n	mean	median	Std. dev.	min	max
Sham	3	0,3333	0,0000	0,57735	0,00	1,00
Travma	3	3,0000	3,0000	0,0000	3,00	3,00
Glutamin	6	1,5000	1,5000	,54772	1,00	2,00
Arjinin	6	1,1667	1,0000	,40825	1,00	2,00
Glutamin + Arjinin	6	2,1667	2,0000	,40825	2,00	3,00
Total	24				0,00	3,00

Sham ve diğer gruplar karşılaştırıldığında tüm gruplarda inflamasyon skorları istatistiksel olarak yüksek anlamlı saptanmıştır ($p<0,05$) (tablo -1). Travma grubu ile glutamin, arjinin ve glutamin + arjinin grupları açısından ikişerli karşılaştırılmasında, gruplar arası inflamasyon skoru istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Glutamin ve arjinin grupları inflamasyon yoğunluğuna göre değerlendirildiğinde, iki grup arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p=0,241$). Glutamin ve glutamin + arjinin karşılıklı değerlendirildiğinde sadece glutamin tedavisi alan ratlarda inflamasyon skoru glutamin +

arjinin grupuna kıyasla istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (**p=0,043**). Benzer şekilde, sadece arjinin tedavisi alan grupta da glutamin + arjinin tedavisi alan gruba kıyasla inflamasyon skorunun daha düşük olduğu görülmüştür (**p=0,006**).

Tablo -6: Tüm grup ratların parankimal inflamasyon skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

<i>Gruplar</i>	<i>p</i>
<i>Grup 1- Grup 2</i>	0,034
<i>Grup 1- Grup 3</i>	0,038
<i>Grup 1 - Grup 4</i>	0,045
<i>Grup 1- Grup 5</i>	0,011
<i>Grup 2 - Grup 3</i>	0,014
<i>Grup 2 - Grup 4</i>	0,009
<i>Grup 2 - Grup 5</i>	0,025
<i>Grup 3 - Grup 4</i>	0,241
<i>Grup 3 - Grup 5</i>	0,043
<i>Grup 4 - Grup 5</i>	0,006

4.2.2 Alveolar konjesyonun değerlendirilmesi:

Tüm grupların alveolar konjesyona göre dağılımı tablo – 3’te görülmektedir. Sham grubunda alveolar konjesyon saptanmazken (garde 0), travma grubuna ait ratların tamamında ağır derecede (grade 3) alveolar konjesyon saptanmıştır. Glutamin tedavisi uygulanan ratlarda, 3 ratda fokal (grade 1) ve 3 ratda yamalı (grade 2) alveolar konjesyon saptanmıştır. Arjinin tedavisi uygulanan ratlarda ise 1 ratda yamalı (grade 2), 5 ratda ise fokal (grade 1) alveolar konjesyon saptanmıştır. Glutamin ve arjinin tedavisi uygulanan 1 ratda yaygın (garde 3), 4 ratda yamalı (grade 2) ve 1 ratda fokal alveolar konjesyon izlenmiştir (tablo -3).

Tablo – 7. Tüm grup ratların alveolar konjesyon skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

Grup	n	mean	median	Std. dev.	min	max
Sham	3	0,00	0,00	0,000	0,00	0,00
Travma	3	3,00	3,00	0,00	3,00	3,00
Glutamin	6	1,50	1,50	0,54772	1,00	2,00
Arjinin	6	1,1667	1,00	0,40825	1,00	2,00
Glutamin+ Arjinin	6	2,00	2,00	0,632	2,00	3,00
Total	24				0,00	3,00

Sham grubu ile travma, glutamin, arjinin ve glutamin+arjinin gruplarının alveolar konjesyon açısından karşılaştırılmasında, istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0,05$). Travma grubu ile tedavi gruplarının karşılaştırılmasında tedavi gruplarında alveolar konjesyon skorunun istatistiksel anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Glutamin grubu ile arjinin grupları ve glutamin grubu ile glutamin + arjinin gruplarının karşılıklı değerlendirilmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Ancak sadece arjinin tedavisi alan grup ile glutamin + arjinin tedavisi alan grupa

göre alveolar konjesyon istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu görülmüştür ($p=0,026$).

Tablo -8: Tüm grup ratların alveolar konjesyon skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

<i>Gruplar</i>	<i>p</i>
Grup 1 - Grup 2	0,025
Grup 1 - Grup 3	0,014
Grup 1 - Grup 4	0,009
Grup 1 - Grup 5	0,013
Grup 2 - Grup 3	0,014
Grup 2 - Grup 4	0,009
Grup 2 - Grup 5	0,034
Grup 3 - Grup 4	0,241
Grup 3 - Grup 5	0,171
Grup 4 - Grup 5	0,026

4.2.3 İntraalveolar hemorajinin değerlendirilmesi:

Tüm grupların intraalveolar hemorajiye göre dağılımı tablo -5'te görülmektedir. Sham grubunda intraalveolar hemoraji saptanmazken (grade 0), travma grubuna ait ratların tamamında grade 3 intraalveolar hemoraji saptanmıştır. Glutamin tedavisi uygulanan grup ratlarda üç ratda grade 1 ve diğer üç ratda grade 2 intraalveolar hemoraji saptanmıştır. Arjinin tedavisi uygulanan grup ratlarda ise bir ratda grade 2, beş ratda ise grade 1 intraalveolar hemoraji saptanmıştır. Glutamin ve arjinin tedavisi uygulanan grupta bir ratda grade 3, dört ratta grade 2 ve bir ratda ise grade 1 intraalveolar hemoraji izlenmiştir (tablo - 5).

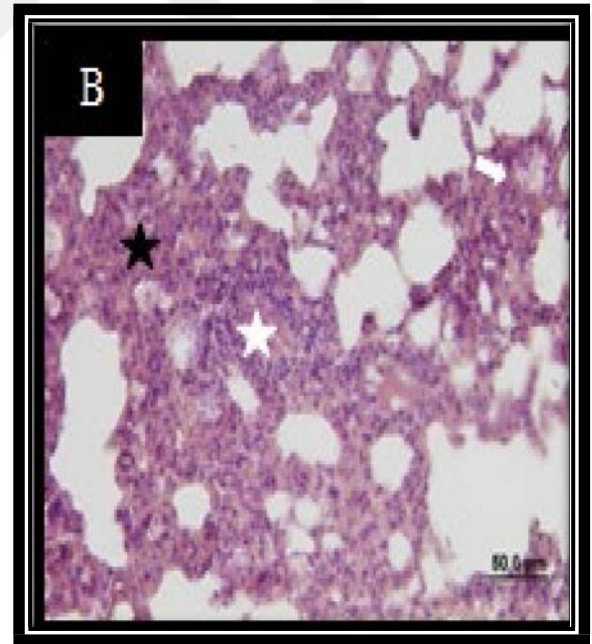
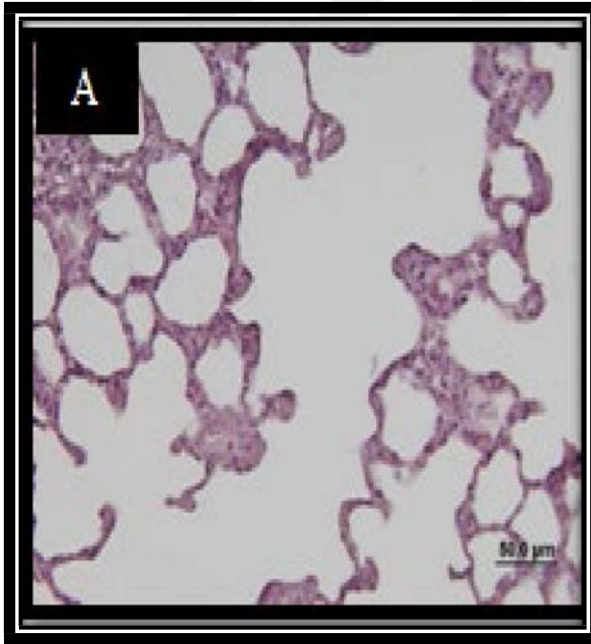
Tablo – 9. Tüm grup ratların intraalveolar hemorajiye skorlamasına göre ortalama (median), minimum ve maksimum değerler

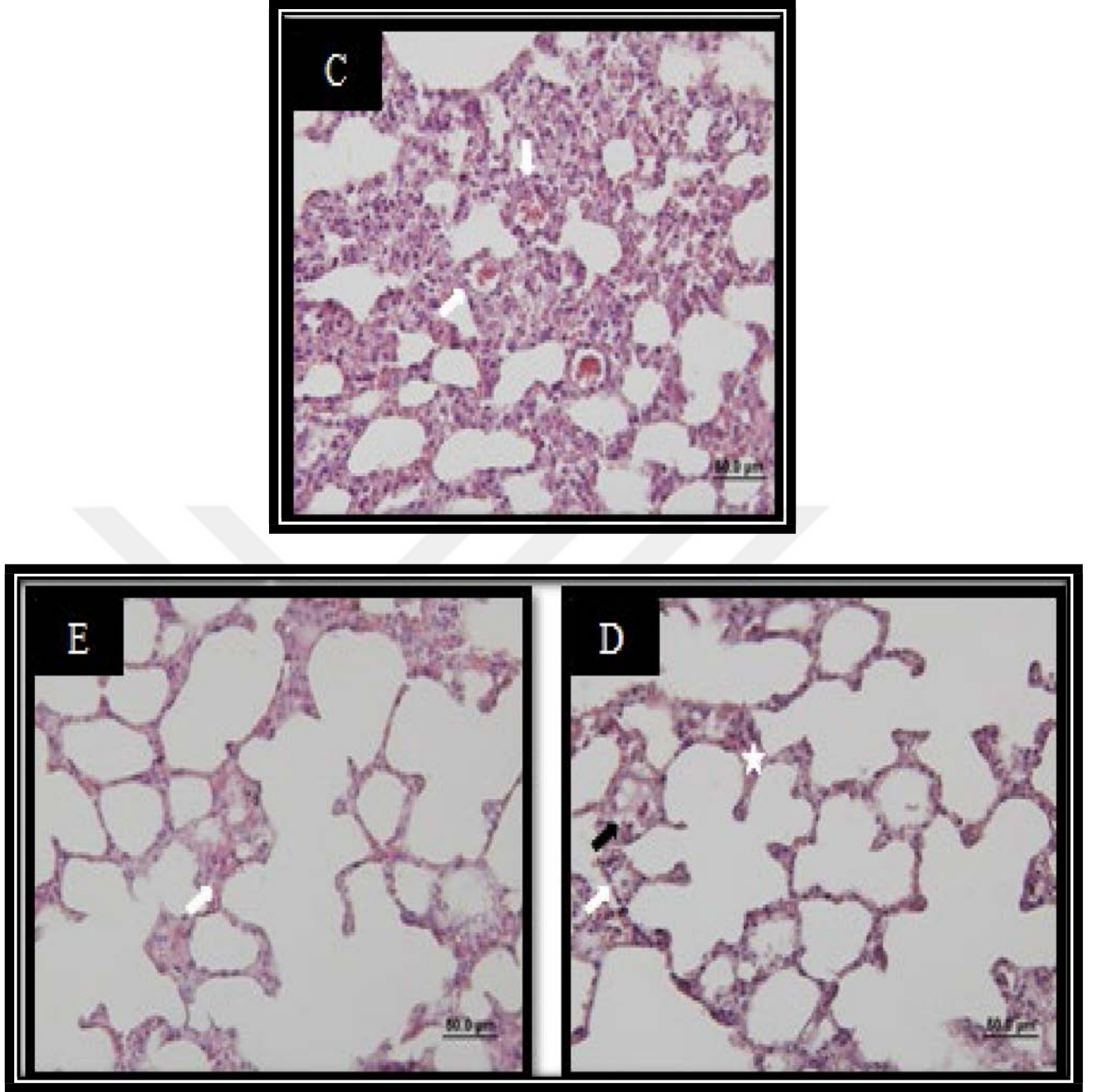
Grup	n	mean	median	Std. dev.	min	max
Sham	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Travma	3	3,00	3,00	0,00	3,00	3,00
Glutamin	6	1,50	1,50	0,547	1,00	2,00
Arjinin	6	1,1667	1,00	0,408	1,00	2,00
Glutamin + Arjinin	6	2,00	2,00	0,632	1,00	3,00
Total	24					

Sham ve diğer gruplar karşılaştırıldığında tüm gruplarda intraalveolar hemoraji istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$) (tablo -6). Travma grubu ile tedavi gruplarının karşılaştırılmasında tedavi gruplarında intraalveolar hemoraji skorunun istatistiksel anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Glutamin grubu ile arjinin grupları ve glutamin grubu ile glutamin + arjinin gruplarının karşılıklı değerlendirilmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Ancak sadece arjinin tedavisi alan grup ile glutamin + arjinin tedavisi alan gruba göre intraalveolar hemoraji istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu görülmüştür ($p=0,026$).

Tablo -10: Tüm grupların intraalveolar skorlamasına göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

<i>Gruplar</i>	p
Grup 1 Grup 2	0,025
Grup 1 Grup 3	0,014
Grup 1 Grup 4	0,009
Grup 1 Grup 5	0,013
Grup 2 Grup 3	0,014
Grup 2 Grup 4	0,009
Grup 2 Grup 5	0,034
Grup 3 Grup 4	0,241
Grup 3 Grup 5	0,171
Grup 4 Grup 5	0,026





Resim- 4 Kontüzyon modeli sonrası 3. günde sakrefiye edilen ratların akciğer dokularının histopatolojik olarak görünümü. (H&Ex40 büyütme. Bar 50 mm) Sağ akciğer histopatolojik görünümü

- A. Grup 1: Sham Grubu; Normal akciğer dokusu izlendi.
- B. Grup 2: Travmatik akciğer dokusu;
- C. Grup 3: Glutamin Grubu; İntraalveolar ve alveolar septumda hemoraji gözlendi (beyaz ok).

- D. Grup 4: Arjinin Grubu; Travma sonrası yer yer alveolar septumlarda hemoraji gözlenmekle birlikte, diğer gruplara göre interalveolar ve alveolar septumlar normale yakın gözlendi.
- E. Grup 5: Arjinin + Glutamin Grubu: Yer yer alveolar septumda hemoraji ve hiyelan membran birikimi (siyah ok) gözlendi.



5. TARTIŞMA

Bizim çalışmamızda; ratlarda oluşturulan akut akciğer kontüzyonu modelinde, tedavi amacıyla pek çok doku üzerinde etkisi daha önceden gösterilmiş olan glutamin ve/veya arjinin kullanıldı. Daha önceki çalışmalar genellikle, penetran toraks travmaları, sepsis zemininde gelişen akciğer inflamasyonu modeli şeklindeydi. Literatür incelemesinde glutamin ve /veya arjinin künt toraks travması modellerinde kullanılmadığını gördük. Künt toraks travması sonucu oluşan direkt mekanik hasar ve hasara sekonder gelişen inflamasyon üzerine tedavinin etkileri, elde edilen akciğer parankiminin histopatolojik sonuçları ile değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmeler travma sonrası oluşturulan kontüzyon modelinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. Biz yaptığımız bu çalışmada; inflamatuvar yoğunluk, alveolar konjesyon ve intraalveolar hemoraji gibi histopatolojik parametreleri değerlendirdik.

Çalışmamızda, künt toraks travması oluşturmak için hazırladığımız travma modeli, literatür bilgileri (118) ve merkezimizin araştırma olanakları ışığında planlanıp geliştirilmiştir. Bu modelin avantajları; tekrarlanabilir olması, travma şiddeti değişkenliğinin ve standardizasyonun kolayca sağlanabilmesi, insanda olan kontüzyon travması ile karşılaştırılabilir olması ve maliyetinin uygun olması sayılabilir. Sham grubu hariç ratlara 1,94 joule kuvvet uygulanan bu modelde, travma, Raghavendran ve ark.'nın tariflediği izole bilateral pulmoner kontüzyon modelinin modifiye edilmesi ile oluşturuldu. Travma sonrası ratlarda visseral yaranma ve intrabdominal ve ya intratorasik kanama belirtileri görülmedi. Deney süresince ratlar, akciğer kontüzyonundan sonraki üç gün boyunca oda havasında normal davranış ve aktivite sergilediler. Tüm travma grubundaki ratların akciğer dokusunda sham ve tedavi grubundaki ratların akciğer dokularına göre inflamasyon yoğunluğu, alveolar konjesyon ve intaalveolar hemorajinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Diğer histopatolojik veriler değerlendirildiğinde ise sham grubunda, travma ve tedavi gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüklük saptandı ($p<0,05$). Bu durum çalışmamızda istenilen izole akciğer travma modelinin oluşturulduğunu ve travmaya sekonder belirgin bir inflamatuvar yanıt geliştirildiğini desteklemektedir.

Raghavendran ve ark.'nın uyguladığı deneyde ratlara 1.8, 2.0, 2.2, 2.45 ve 2.7 joule kuvvet uygulayarak maksimal ölümcül olmayan toraks travmasını 2,45 joul olarak

hesaplamışlardır. Biz kendi modifiye izole toraks travması modelimizde 1,96 joul enerji uygulayarak orta düzeyde kontüzyon modeli oluşturduk. Bundan başka, Raghavendran ve ark.'nın modelinde travma sonrası ratlar 48 saat sonra sakrefiye edilmiştir. Biz bu çalışmamızda travma sonrası tüm grup ratları üç gün sonra sakrefiye ederek uzun dönem tedavi sonrası yanıtı histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Genel olarak yapılan çalışmalarda, kontüzyondan 24 saat sonra artan sayıda nötrofil ile akut inflamatuvar yanıt gelişmiştir. 48 saat sonrasında subakut ve onarıcı aşamaya geçişle lenfosit hakimiyeti ve intraalveolar ödem tespit edilmistir. Bizim çalışmamızda travma sonrası üçüncü gününde sakrefiye edilen travma grubu ratların histopatolojik değerlendirilmesinde sham grubuna göre ciddi akciğer kontüzyonu olduğu gözlemlendi. Travma sonrası oluşan alveolar konjesyon, hemoraji ve nötrofil ile birlikte mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edildi. İntraalveolar ve alveolar septumda hemoraji gözlemlendi. Tedavi gruplarından olan arjinin grubunda yer yer alveolar septumlarda hemoraji gözlenmekle birlikte, diğer gruplara göre interalveolar ve alveolar septumlar normale yakın gözlemlendi. Glutamin + arjinin grubunun histopatolojik değerlendirilmesinde ise alveolar septumda hiyalin membran birikimi gözlemlendi.

Çalışmamızda başlıca inflamatuvar değişiklikler; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mediatörlerin salınımı ile sekonder gelişen vasküler permeabilite artışı ve alveolar ödemdir. Oluşan inflamasyonda doku hasarına neden olan major etkili hücreler nötrofillerdir. Nötrofil infiltrasyon miktarı ile oluşan hemoraji miktarı arasında korelasyon görülmektedir.

Literatür baktığımızda daha önce oluşturulan değişik inflamasyon modellerinde glutamin ve/veya arjininin etkileri incelenmiştir. Gisele ve ark. deneysel olarak yaptıkları abdominal sepsisin neden olduğu akciğer hasarı modelinde intravenöz uygulanan glutaminin akciğerler üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Buna göre, travma sonrası tek doz (0,75 g/kg) intravenöz uygulanan glutamin grubunda, sham grubuna kıyasla alveolokapiller membran onarımında iyileşme, oksijenizasyonda artma, intestinal ödemde, nötrofil infiltrasyonunda ve alveolar kollapsta azalma izlenmiştir. Ayrıca, BAL incelemesinde 18. saatte CINC -1 (Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant – 1) ve IL 6' da azalma, 48. saatte IL 10'da artış gözlemlenmiştir (119). Wischmeyer ve ark. sepsis zeminde ratlarda akciğer hasarı modelinde glutamin uygulaması sonrası ALI ve ARDS'de sağkalım üzerine belirgin iyileşme ve nötrofil infiltrasyonunda azalma saptamışlardır. Aynı zamanda, bu çalışmada, glutaminin yüksek mortalite insidansını ve ciddi ARDS ile

ilişkilendirilen TNF- α ve IL-1 β gibi apoptotik faktörlerin işlevini azalttığı, hücre siklusu regülasyonu ve diferensiasyonunda önemli rol alan ısı şok proteinlerinin (HSP) ekspresyonunun artırdığı gözlenmiştir. Bu deney sonrası glutamin infüzyonu alan ratlarda akciğer parankiminde indüklenebilir HSP 25 ve HSP 72 protein ekspresyonunda üç kat artış saptanmıştır ve bu da hasar sonrası yüksek sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (120).

Akciğer hasarının oluşturulduğu hayvan deneyi modellerinde inflamasyon öncesi ve sonrası uygulanan glutamin tedavisine göre farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Yu-Chen Hou ve ark. yaptığı çalışmada akciğer hasarı oluşturulmadan önce ratlara enteral olarak glutamin diyeti uygulanmıştır. Glutamin takviyesi sonrası sakrefiye edilen ratlarda akciğer parankiminin histopatolojik değerlendirilmesinde; alveollerde yaygın septal kalınlaşma, kollajen birikiminde ve nötrofil migrasyonunda artış ve aynı zamanda daha yüksek inflamatuvar sitokin üretimi izlenmiştir. Bu çalışma, temel bilgiler sağlayarak, akciğer hasarında glutamin desteğinin dikkatlice değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır (121). Akciğer hasarı oluşturulmadan 72 saat önce glutamin uygulanan diğer çalışmada ise salin grubuna kıyasla glutamin grubunda akciğerin yağ/kuru oranında azalma, PaO₂ değerinde yükselme, nitrojen dengesi ve sağkalım oranında iyileşme izlenmiştir. Bu değerleri baz alan araştırmacılar bu tedavinin hipoksemi ve pulmoner ödemi azalttığına işaret ederek akut akciğer hasarının glutamin ile iyileştiğini ileri sürmüşlerdir (122).

Sonuç olarak, glutaminin, pulmoner inflamasyon ve akciğer hasarı oluşturulan rat modellerindeki antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri; intestinal ödemde, nötrofil infiltrasyonunda, IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerde azalma, alveolar kapiller membranda onarım, glutatyon üretimi ve stres proteinleri olan HSP'lerin ekspresyonunda artma şeklindedir. Bu sayede, glutamin tedavisinin akciğer hasarı modellerinde etkisi araştırılmış ve konağın inflamatuvar mediatörlerini inhibe ettiği, böylece morbidite ve mortaliteyi azalttığı sonucuna varılmıştır.

Bizim çalışmamızda, glutamin tedavisi alan ratlar ile travma gruplarının karşılıklı analizinde; glutamin grubunda her üç histopatolojik parametrede iyileşme izlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p < 0,05$). Buna, glutamin tedavisinin subakut inflamatuvar yanıtı azalttığını desteklemektedir.

Çalışmamızın diğer ayağında, L-arjinin'nin akciğer kontüzyon tedavisinde etkinliğini araştırdık. Arjininin, özellikle travmadan sonra immun sistem üzerinde güçlü etkilere sahip olduğu, protein sentezinde rol oynadığı, nitrojen retansiyonu yaptığı ve yara

iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir (123,124). Dong Yong-qiang ve ark. deneysel olarak uyguladıkları kontüzyon modeli sonrası L-arjinin tedavisi alan ratlarda yaş/kuru akciğer ağırlığı oranının, L-arjinin grubunda travma modeline kıyasla daha düşük saptanmıştır. Aynı zamanda, nitrik oksit konsantrasyonu da L-arjinin grubunda travma grubundan önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Daha öncede belirtildiği gibi, NF-κB (Nuclear Factor kappa B) ve endotelin-1 aktivasyonu ve sitokinlerin ekspresyonu ile akciğer hasarı arasında direk bir ilişki vardır. Bu çalışmanın sonucunda, açık bir şekilde TNF-α gibi sitokinlerin ekspresyonunda ve NF-κB, endotelin-1 aktivasyonunda azalma izlenmiştir. Histopatolojik değerlendirmede arjinin uygulanan ratlarda akciğer parankiminde mikrosirkülasyonda iyileşme görülmüştür (125). Sheridan ve ark. endotoksin uygulamasından 30 dakika önce eksojen L-arjinin tedavisi alan ratlarda akciğer nötrofil birikimi myeloperoksidaz testi ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, eksojen L-arjininin uygulanmasının endotoksinin neden olduğu akciğer nötrofil birikimini önlediği görülmüştür. Bu bulgu, L-arjininden NO sentezi sonrası neden olduğu reseptöre bağımsız ve bağımlı (endotelyuma bağımlı cGMP aracılı) yollarla pulmoner vazodilatasyonla ilişkilendirilmiştir (109).

L-arjininin çoğu farmakolojik etkisi nitrik NO'ya atfedilir ve vazodilatasyon, platelet agregasyonu inhibisyonu ve nötrofil adhezyonu inhibisyonu dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik özelliklere sahiptir. Wan-teng Lin ve ark.'nın yaptığı deneysel çalışmada L-arjininin oksidatif stres ve antioksidan savunma etkisini araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre, tedavi sonrası pulmoner arter endotel hücrelerinin superoksit (O_2^-) ve ksantin oksidaz (XO) aktivasyonunda azalma bildirilmiştir. Aynı zamanda, L-arjininin reaktif oksijen radikallerine (ROS) karşı protektif rol oynadığı görülmüştür (107). Arjinin iki makrofaj fenotipinin (pro- ve anti- inflamatuvar) nihai özelliklerini elde etmek için çeşitli biyokimyasal yollarla işlenir. Arjinin ile M1 makrofajlardan indüklenebilir NOS2 ve ardından NO üretir. Aksine, anti-inflamatuvar M2 makrofajlar da poliaminlere (hücre çoğalmasında önemli rol oynar) ve proline (kollajen üretimi için gereklidir) metabolize olur. Proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar aşamalarda L-arjininin işlendiği mekanizma makrofaj aktivasyonunun ayırt edici özelliklerindedir. Doku yıkımı NO üretimi ile ilişkilendirilirken, doku onarımı poliamin ve prolin üretimi ile ilişkilendirilmiştir (103).

Çalışmamızda arjinin tedavisi alan ratlarda diğer gruplara göre interalveolar ve alveolar septumlar normale yakın gözlemlendi. Bu grup ratların travma grubu ratlarla karşılaştırılmasında, arjinin grubunda inflamasyon yoğunluğu, alveolar konjesyon ve intraalveolar hemoraji skorları anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Bu da arjinin

akciğer kontüzyonunda immuno-inflamatuar yanıtta ve yara iyileşmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir.

Tedavi gruplarının değerlendirilmesinde, glutamin ve arjinin gruplarının karşılıklı analizinde tüm histopatolojik skorlamalarda anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Ratlarda glutamin ve arjininin ayrı-ayrı verilmesi sonucunda inflamasyon yoğunluğu, alveolar konjesyon ve intaalveolar hemoraji açısından iki molekül arasında benzer etkiler olduğu görülmüştür. Glutamin ve arjininin tedavide birlikte uygulanması, glutamine göre intraalveolar hemoraji ve alveolar konjesyon açısından benzer etkiler göstermesine rağmen ($p>0,05$), parankimal inflamasyon yoğunluğu açısından tek glutamin tedavisine göre daha olumsuz sonuçlara neden olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Glutamin ve arjininin birlikte uygulandığı ratlarda, inflamasyon yoğunluğu, konjesyon ve hemoraji açısından tek başına arjinin tedavisine göre daha az etkili olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bu da, arjinin uygulanan ratlarda daha düşük inflamasyon skorlarının saptanmış olması, sadece arjinin kullanımının iyileşme sürecinde daha faydalı olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızın dikkat çeken detaylarından biride, glutamin ve arjinin birlikte tedavisinin diğer tedavi gruplarına kıyasla daha az etkili olduğunu saptadık. Glutamin ve arjinin kombine tedavisinin etkileri tartışmalıdır. İmmuno-inflamatuar yanıtta önemli rolü olan bu iki molekülün metabolizması yakından ilişkilidir. Bu nedenle, bu moleküllerin metabolizma yollarında antagonist etkiler oluşabileceğini düşünüyoruz. Bu kombinasyonun faydalı mı, zararlı mı olduğunu değerlendirmek için spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, glutamin ve arjinin tek başına kullanımı inflamasyon üzerine olumlu etkiler göstermesine rağmen; birlikte kullanımında glutaminle arjinin arasında moleküler etkileşimler nedeniyle daha az olumlu etkiler oluşmasına neden olmaktadır.

Ancak, çalışmamızda her hangi bir biyokimyasal parametre bakılmadığından bu iki molekülün etkinliğinin daha kapsamlı çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. R. Demirhan, B. Onan, K. Oz, S. Halezeroğlu; Comprehensive analysis of 4205 patients with chest trauma: a 10-year experience. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2009; 9: 450-453.
2. C. Ertekin; Multipl Travmalı Hastaya Yaklaşım. *Yoğun Bakım Dergisi*. 2002;2(2):77-87.
3. A. Juan, Asensio, N. Federico, Mazzini and Thai Vu; Thoracic Injuries- pg 327-328
4. Robert M. Rodriguez, Benjamin Friedman, Mark I. Langdorf, Brigitte M. Baumann, Daniel K. Nishijima, Gregory W. Hendey, Anthony J. Medak, Ali S. Raja, William R. Mower; Pulmonary contusion in the pan-scan era Author links open overlay panel; 2016 May
5. JT. Moloney, SJ. Fowler, W. Chang; Anesthetic management of thoracic trauma. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2008;21(1):41-6.
6. G. Galan, JM. Caffarena, E. Blasco, JM. Borro; Blunt chest trauma in 1696 patients. *Eur J Cardiothorac Surg*.1992; 6:284-87.
7. MN. Eren, AE. Balcı; Toraks travmaları. In: Eren MN (eds). *Goğus Cerrahisi*. 1. baskı. Ankara: Sim matbaacılık Ltd ti 2003:661-687
8. D. Hoyt, BM. Potenza, HG. Cryer et al.; Trauma. In: Greenfield LJ, Mullholland MW, Oldham KT, Zelenock GB, Lilimoe KD eds. *Surgery: scientific principles and practise*. 2nd edn. Philadelphia: Lippincott -Raven 1997, pp. 267-362
9. Burch JM, Franciosa RJ, Moore EE.; Trauma. In: Schwartz SI (ed). *Principles of surgery*. 7th edn. Singapore: McGraw -Hill edn; 1999, pp. 155-222.
10. Fallon M, *Br J Surg*; Lung injury in intact thorax with report of a case. 28(109):39, 1940.
11. Golden PA.; Thoracic trauma. *Orthop Nurs*. 2000; 19:37-48.
12. Dr. Hooker, *Am J. Physiol*; Physiological effects of air concussion. 67:219, 1924.
13. Cohn SM. Pulmonary contusion: Review of a clinical entity. *J Trauma*. 1997;42:973-979
14. David I. Bruner, A. Pritchard, A. Hubert, Gran S. Lipm; *Pulmonary Contusions*, 2011
15. Wanek S, Mayberry JC.; Blunt thoracic trauma: Flail chest, pulmonary contusions, and blast injuries. *Crit Care Clin* 2004; 20:71-81.

16. Wagner RB, Crawford WO, Schimpf PP. Classification of parenchymal injuries of the lung. *Radiology* 1988; 167:77-82.
17. Çağrııcı U, Uç H, Çalkavur T, Gürcün U, Badak D, Bilkay Ö, et al. Toraks Travmaları: 6 Yıllık Deneyimlerimiz. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 1998; 4(4):248-52.
18. Allen GS, Cox CS. Pulmonary contusion in children: diagnosis and management. *South Med J.* 1998 Dec;91(12):1099-106
19. Demling RH, Pomfret EA.; Blunt chest trauma; *New Horizons.* 1:402, 1993.
20. Oppenheimer L, Craven KD, Forkert L, Wood LD.; Pathophysiology of pulmonary contusion in dogs. *J Appl Physiol.* 1979; 47(4):718–28
21. Kaya H, Kafalı ME, Aydın K, Sahin M, Duran A, Bayır A, et al. A Novel Experimental Bilateral Blunt Chest Trauma Model on Rabbits and its Effects in Lung. *Journal of Academic Emergency Medicine (JAEM)* 2011: 103-9
22. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE.; Free radicals, antioxidants, and human disease. *J Lab Clin Med.* 1992; 119:598–20.
23. Eichelberger MR, Randolph JG.; Thoracic trauma in children. *Surg Clin North Am.* 2001; 61:1181
24. Oztop C.; Son on yılda kliniğimize başvuran toraks travmalı olguların değerlendirilmesi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2005
25. Knoferl MW, Liener UC, Seitz DH et all.; Cardiopulmonary, histological, and inflammatory alterations after lung contusion in a novel mouse model of blunt chest trauma. *Shock* 2003; 19:519-525.
26. Kaya Akın, Can Sevinç; *Solunum Acilleri*, Poyraz Tıbbi Yayıncılık, Ankara, 2007
27. Lomoschitz FM, Eisenhuber E, Linnau KF, Peloschek P, SchoderM, Bankier AA.; Imaging of chest trauma: radiological patterns of injury and diagnostic algorithms.; 48:61-70, 2003.
28. Basoglu A, Akdag AO, Celik B, Demircan S. Thoracic trauma: an analysis of 521 patients.; 2004 Jan;10(1):42-6.
29. Scaglione, M., Linsenmaier, U., Schueller, G., Berger, F., Wirth S.; *Emergency Radiology of the Chest and Cardiovascular System* Editors; 2017, 5-375
30. M. Elmalı, A. Baydın, MS. Nural, B. Arslan, M. Ceyhan; Lung parenchymal injury and its frequency in blunt thoracic trauma: the diagnostic value of chest radiography and thoracic CT; 2007; 13:179–182

31. Y. Mizushima, A. Hiraide, T. Shimazu ve ark; Changes in contused lung volume and oxygenation in patients with pulmonary parenchymal injury after blunt chest trauma. *The American Journal of Emergency Medicine*, vol. 18, Iss. 4, July 2000, Pages 385-389
32. S. Peters, V. Nicolas, C. M. Heyer; Multidetector computed tomography-spectrum of blunt chest wall and lung injuries in polytraumatized patients Author links open overlay panel; *Clinical Radiology* 2010; 333–338
33. Trupka A, Waydhas C, Hallfeldt KK, Nast-Kolb D, Pfeifer KJ, Schweiberer L.; Value of thoracic computed tomography in the first assessment of severely injured patients with blunt chest trauma: results of a prospective study. 1997; 43:405-11
34. Szilárd Rendeki, Tamás F. Molnár; Pulmonary contusion; 2019 Feb;11: S141-S151
35. Curley G, Hayes M, Laffey JG. Can 'permissive' hypercapnia modulate the severity of sepsis-induced ALI/ARDS?; 2011; 15:212.
36. Simon B, Ebert J, Bokhari F, et al.; Management of pulmonary contusion and flail chest: An Eastern Association for the Surgery of Trauma practice management guideline, Eastern Association for the Surgery; 2012: S351-61
37. Hoth JJ, Stitzel JD, Gayzik FS, Brownlee NA, Miller PR, Yoza BK, McCall CE, Meredith JW, Payne RM. The pathogenesis of pulmonary contusion: an open chest model in the rat.; 2006; 61(1):32-44
38. P. Madej, A. Plewka, J. Madej, M. Nowak, D. Plewka; Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effect of ozonotherapy on rat organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems; *Inflammation* 30, 52-58, 2007
39. Gao Smith F, Perkins GD, Gates S. et al.; Effect of intravenous β -2 agonist treatment on clinical outcomes in acute respiratory distress syndrome (BALTI-2): a multicentre, randomised controlled trial; 2012; 379:229-35.
40. McAuley DF, Laffey JG, O'Kane CM, et al.; Simvastatin to reduce pulmonary dysfunction in patients with acute respiratory distress syndrome: the HARP-2 RCT; *NIHR Journals Library*; 2018 Jan.
41. Truwit JD, Bernard GR, Steingrub J.; Rosuvastatin for sepsis-associated acute respiratory distress syndrome; 2014; 370:2191-200.
42. Dowdy DW, Eid MP, Dennison CR, Mendez-Tellez PA, Herridge MS, Guallar E, Pronovost PJ, and Needham DM: Quality of life after acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2006; 32:1115–1124

43. Vito Fanelli, Aikaterini Vlachou, Shirin Ghannadian, Umberto Simonetti, Arthur S. Slutsky, Haibo Zhang; Acute respiratory distress syndrome: new definition, current and future therapeutic options; *J Thorac Dis.* 2013 Jun; 5(3):326-34
44. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination; *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(3 Pt 1): 818-824.
45. Pepe PE, Potkin RT, Reus DH, Hudson LD, Carrico CJ: Clinical predictors of the ARDS. *Am J Surg.*1982; 144:124.
46. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JJ, et al. (1981). Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest*, **80**, 254–8.
47. Oxford Textbook of Critical Care 2nd Edition by Andrew Webb, Derek Angus, Simon Finfer, Luciano Gattinoni, Mervyn Singer; Pathophysiology of acute respiratory distress syndrome 497/2
48. Shorr AF, Abbott KC, Agadoa LY: Acute respiratory distress syndrome after kidney transplantation: epidemiology, risk factors, and outcomes. *Crit Care Med* 2003, 31:1325–1330.
49. Arroliga AC, Ghamra ZW, Pe´rez-Trepichio A, et al.: Incidence of ARDS in an adult population of Northeast Ohio. *Chest* 2002, 121:1972–1976.
50. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, Stern EJ, and Hudson LD: Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med.* 2005; 353:1685–1963
51. Elizabeth R. Johnson, B.S. and Michael A. Matthay; Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment M.D. *JOURNAL OF AEROSOL MEDICINE AND PULMONARY DRUG DELIVERY* Volume 23, Number 4, 2010
52. Ware LB, Matthay MA.; The acute respiratory distress syndrome. *NEJM.* 2000; 342:1334-49
53. Matthay MA, Ware LB, and Zimmerman GA.; The acute respiratory distress syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 2012; 122(8), 2731–40.
54. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease (Robbins Pathology) 9th Edition, by Vinay Kumar MBBS MD FRCPath, Abul K. Abbas MBBS, Jon C. Aster MD PhD, Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome 672/2

55. Bachofen M and Weibel ER.;Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. *American Review of Respiratory Diseases*, (1977). 116, 589–615.
56. Jochen Grommes & Oliver Soehnlein; Contribution of Neutrophils to Acute Lung Injury, 2011;17(3-4):293-307
57. Donnelly SC, et al.; Plasma elastase levels and the development of the adult respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*; (1995) 151:1428–33.
58. Levay PF, Viljoen M. Lactoferrin: a general review. *Haematologica*; (1995) 80:252–67.
59. Textbook of Microbiology & Immunology – 2nd Edition by Subhash Chandra Parija, Antigen-presenting cells pp:129-133
60. Xiaofang Huang, Huiqing Xiu, Shufang Zhang, and Gensheng Zhang; The Role of Macrophages in the Pathogenesis of ALI/ARDS; 2018; 1264913
61. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, ve ark. Macrophage plasticity, polarization and function in health and disease. *J.C. Physiol.* 2018; 233: 6425-40.
62. A. Sica ve A. Mantovani; Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas; *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 122, no. 3, pp. 787–795, 2012
63. D Mills; M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease Charles, 2012; 23428224
64. Dominik Hartla, Rabindra Tirouvanziamc, Julie Lavala Catherine, M. Greened, David Habiele, Lokesh Sharmaf, Ali Önder Yildirim, Charles S. Dela Cruzh Cory M. Hogaboam; Innate Immunity of the Lung: From Basic Mechanisms to Translational Medicine, 2018; 10(5-6):487-501
65. F.G. Eyal, C.R. Hamm, ve J.C. Parker, Reduction in alveolar macrophages attenuates acute ventilator induced lung injury in rats, *Intensive Care Medicine*, vol. 33, no. 2007;1212–1218.
66. Dolinay T, Kim YS, Howrylak J, Hunninghake GM ve ark.; Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury; *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185(11):1225-34.
67. Agrawal A, Zhuo H, Brady S, Levitt J, Steingrub J, Siegel MD, Pathogenetic and predictive value of biomarkers in patients with ALI and lower severity of illness: results from two clinical trials. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012; 303(8):L634-9

68. Seitaro Fujishima, Pathophysiology and biomarkers of acute respiratory distress syndrome, - Journal of Intensive Care, 2014; 160-8582
69. Panayi GS, Corrigan VM, Henderson B; "Stress cytokines: pivotal proteins in immune regulatory networks; Opinion". Current Opinion in Immunology, 2004; 16(4):531-534
70. Damien Bertheloot ve Eicke Latz. HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins, Cellular & Molecular Immunology 2017;14, 43–64
71. Abrams ST, Zhang N, Manson J, Liu T, Dart C, Baluwa F, Wang SS, Brohi K, Kipar A, Yu W, Wang G, Toh CH: Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury. Am J Respir Crit Care Med 2013, 187(2):160–9
72. Mayr VD, Dunser MW, Greil V, Jochberger S, Luckner G, Ulmer H, ve ark. Causes of death and determinants of outcome in critically ill patients. Crit Care. 2006; 10(6): R154
73. G.Bernard, J.Luce, C.Sprung ve ark.: High dose corticosteroids in patients with adult respiratory distress syndrome. N Engl J Med 1987; 317: 1565–1570
74. Tang Benjamin, Craig, Jonathan, Eslick Guy, Seppelt Ian ve ark.: Use of corticosteroids in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A systematic review and meta-analysis; Critical Care Medicine 2009; 37(5):1541-1544
75. Adhikari NK, Burns KE, Friedrich JO, ve ark.; Effect of nitric oxide on oxygenation and mortality in acute lung injury: systematic review and meta-analysis. British Medical Journal, 2007; 334, 779–86
76. Daryl J. Kor, Rickey E. Carter, Pauline K. Park ve ark. Effect of Aspirin on Development of ARDS in At-Risk Patients Presenting to the Emergency Department: The LIPS-A Randomized Clinical Trial; JAMA. 2016; 315(22): 2406–2414
77. Michael A. Matthay, Rachel L. Zeman, Guy A. Zimmerman, ve ark.: Acute respiratory distress syndrome; 2019, PMC6709677
78. Shackford SR. Analytic Review: Blunt Chest Trauma: The Intensivist's Perspective. Journal of Intensive Care Medicine. 1986; 1(3):125-36.
79. Roy G. Brower, Michael A. Matthay, Alan Morris, David Schoenfeld, Taylor Thompson, Arthur Wheeler; Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. New England Journal of Medicine, 2000; 342, 1301–8.

80. Roy G. Browe ve ark.; Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*, 2004; 351, 327–36.
81. The ARDS Clinical Trial Network. Enteral omega-3 fatty acid, gamma-linolenic acid, and anti-oxidant supplementation in acute lung injury. *Journal of the American Medical Association*, 2011; 306(14), 1574–81.
82. Emanuel P. River, Fluid-Management Strategies in Acute Lung Injury — Liberal, Conservative, or Both? *N Engl J Med* 2006; 354:2598-2600
83. Newsholme, E.A.; Parry-Billings, M. Properties of glutamine release from muscle and its importance for the immune system. *J. Parenter. Enter. Nutr.* 1990; 14, 63S–67S.
84. Berg, A.; Norberg, A.; Martling, C.R.; Gamrin, L.; Rooyackers, O.; Wernerman, J. Glutamine kinetics during intravenous glutamine supplementation in icu patients on continuous renal replacement therapy. 2007; 33(4):660-6.
85. Stumvoll M, Perriello G, Meyer C & Gerich J Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissues. *Kidney Int* 55, 778–792 (1999)
86. Patterson BW, Horowitz JF, Wu G, et al. Regional muscle and adipose tissue amino acid metabolism in lean and obese women. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* 282, E931–936 (2002).
87. Dudrick PS, Inoue Y, Espat NJ & Souba WW Na (+)-dependent glutamine transport in the liver of tumour-bearing rats. *Surg. Oncol* 2, 205–215 (1993).
88. Cruzat, V.; Rogero, M.M.; Keane, K.N.; Curi, R.; Newsholme, P. Glutamine: metabolism and immune function, supplementation, and clinical translation. *Nutrients* 2018; 23;10(11):1564.
89. William Durante, ‘The Emerging Role of l-Glutamine in Cardiovascular Health and Disease’, 2019; 11(9), 2092
90. Brand K, Williams JF, Weidemann MJ. Glucose and glutamine metabolism in rat thymocytes. *Biochem J.* 1984;221(2):471–5.
91. Tania C. Pithon Curi, Mariza P. De Melo, Ricardo B. De Azevedo, Telma M. T. Zorn, ve Rui Curi; Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am J Physiol.* 1997;273(4 Pt 1):C1124–1129.
92. Ardawi MS.; Glutamine and glucose metabolism in human peripheral lymphocytes. *Metabolism.* 1988; 37(1):99–103.

93. Rajkumar Rajendram, Victor R. Preedy, Vinood B. Patel, 'Glutamine in Clinical Nutrition' -Glutamine Uptake and Immunomodulation, 2015, Bölüm 4, say. 55-67
94. M. Gismondo, L. Drago, M. Fassina ve ark. Immunostimulating effect of oral glutamine. 1998;44: 4224-4232
95. M. Pan, CP. Fischer, M. Wasa ve ark. Characterization of glutamine and glutamate transport in rat lung plasma membrane vesicles. J Surg Res. 1997; 69:418–24.
96. Nakamura T, Yamakawa M, Maeda J, ve ark. Effect of glutamine on acute lung injury in rats with endotoxemia. Clin Nutr. 1997; 16:79–83.
97. Zhang F, Wang X, Pan L, ve ark. Glutamine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. Nutrition. 2009; 25: 692–8.
98. KD. Singleton, N. Serkova, A. Banerjee ve ark. Glutamine attenuates endotoxin-induced lung metabolic dysfunction: potential role of enhanced heat shock protein 70. Nutrition. 2005; 21:214–23.
99. F. Zhang, X. Wang, W. Wang ve ark. Glutamine reduces TNF-alpha by enhancing glutathione synthesis in lipopolysaccharide- stimulated alveolar epithelial cells of rats. Inflammation. 2008; 31:344–50.
100. Aydin Sanli, Ahmet Onen, Sulen Sarioglu, Banu Sis, Ensari Guneli, Banu Gokcen, Sami Karapolat, Unal Acikel, Glutamine administration enhances the healing of lung parenchymal injuries and reduces air leakage in rats, 2006 Nov;210(3):239-45.
101. Claudia R. Morris, Gregory J. Kato, Mirjana Poljakovic, ve ark. Dysregulated Arginine Metabolism, Hemolysis-Associated Pulmonary Hypertension, and Mortality in Sick Cell Disease 2005;294(1):81-90
102. Claudia R. Morris, Mirjana Poljakovic, Lisa Lavrisha, Lorenzo Machado, Frans A Kuypers, Sidney Morris Jr. Decreased arginine bioavailability and increased serum arginase activity in asthma, 2004; 170(2):148-53.
103. A.C. Bernard, S.K. Mistry, S.M. Morris Jr, W.E. O'Brien, B.J. Tsuei, M.E. Maley, L.A. Shirley, P.A. Kearney, B.R. Boulanger, J.B. Ochoa, Alterations in arginine metabolic enzymes in trauma; 2001; 15(3):215-9
104. H. Tapiero, G. Mathe, P. Couvreur, K.D. Tew; L- Arginine - Bölüm 56, say. 439-445, 2002; 3322(02)00284-6
105. Wu G, Morris M. Arginine metabolis: nitric oxide and beyond. Biochem J 1998; 336:1-17

106. L.J Ignarro, G.M Buga, K.S Wood, R.E Byrns, and G. Chaudhuri. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide, 1987;84(24):9265-9
107. Wan-teng Lin, Suh-ching Yang, Kung-tung Chen, Chi-chang Huang & Ning-yuean Lee. Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and anti-oxidant defenses during exhaustive exercise in rats: 2005; 26 (8): 992–999
108. Achim Lass, Astrid Suessenbacher, Gerald Wölkart, Bernd Mayer, Friedrich Brunner. Functional and analytical evidence for scavenging of oxygen radicals by L- arginine 2002; 61(5):1081- 8
109. B.C. Sheridan, R.C. McIntyre Jr, D.R. Meldrum, D.A. Fullerton. L-arginine prevents lung neutrophil accumulation and preserves pulmonary endothelial function after endotoxin; 1998; 274(3):L337-42
110. Xun Tan, Song-Hua Hu &Xiao-Long Wang. Possible role of nitric oxide in the pathogenesis of pulmonary hypertension in broilers: a synopsis, 2007; 36(4):261-7
111. Sarela AI, Mathie RT. The role of nitric oxide in surgical practice. Surgery 1996; 14:154-6
112. B. Mayer 1, K Schmidt, P Humbert, E Böhme ve ark. Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: a cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca^{2+} -dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanylyl cyclase; 1989; 164(2):678-85.
113. Noboru Toda, Tomio Okamura. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels; 2003; 55(2):271-324
114. Nagaki M, Shimura MN, Irokawa T. ve ark. Nitric oxide regulation of glycoconjugate secretion from feline and human airways in vitro. Respir Physiol 1995; 102:89–95.
115. Hamad AM, Johnson SR, Knox AJ. Antiproliferative effects of NO and ANP in cultured human airway smooth muscle. Am J Physiol 1999; 277: L910–8.
116. Gruetter CA, Childers CC, Bosserman MK ve ark. Comparison of relaxation induced by glyceryl trinitrate, isosorbide dinitrate and sodium nitroprusside in bovine airways. Am Rev Respir Dis 1989; 139:1192–7.
117. Knopf RF, Conn JW, Fajans S ve ark. Plasma growth hormone response to intravenous administration of amino acids. J Clin Endocrinol Metab 1965; 25:1140-1144

118. Raghavendran K, Davidson BA, Helinski JD, Marschke CJ. A rat model for isolated bilateral lung contusion from blunt chest trauma. *Anesth Analg* 2005;101(5):1482-1489.
119. Gisele Pena de Oliveira, Jamil Zola Kitoko, Phillipe de Souza Lima-Gomes, Natália Cadaxo Rochael. Glutamine Therapy Reduces Inflammation and Extracellular Trap Release in Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome of Pulmonary Origin. *Nutrients*. 2019 Apr 12;11(4):831.
120. Wischmeyer PE, Kahana M, Wolfson R, Ren H, Musch MM, Chang EB: Glutamine induces heat shock protein and protects against endotoxin shock in the rat. *J Appl Physiol* 2001, 90:2403-2410.
121. Yu-Chen Hou, Man-Hui Pai, Wan-Chun Chiu, Ya-Mei Hu, Sung-Ling Yeh Effects of dietary glutamine supplementation on lung injury induced by lipopolysaccharide administration; 2009 Mar;296(3):L288-95.
122. T. Nakamura, M. Yamakawa, J. Maeda, Y. Mimura, H. Yamada, T. Ogawa, H. Kanauchi and Effect of glutamine on acute lung injury in rats with endotoxemia. *Clin Nutr* .1997 Apr;16(2):79-83.
123. Gurbuz A.T, Kunzelman J, Ratzler E.E; Supplemental dietary arginine accelerates intestinal mucosal regeneration and enhances bacterial clearance following radiation enteritis in rats. *J. Surg. Res.* 1998; 74: 149
124. Gianotti L, Alexander J.W, Pyles T, Fukushima R; Arginine-supplemented diets improve survival in gut-derived sepsis and peritonitis by modulating bacterial clearance. *Ann. Surg.* 1993; 217: 644
125. Dong Yong-qiang, Ji Tao, Zhang Xiao-ming, Xu Jiaying; Experimental study of L-arginine on lung contusion. *J. of Respi. and Critical Care*. 2011, vol.10, No. 3