

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL LİPOPOLİSAKKARİT İLE
İNDÜKLENMİŞ AKUT AKCİĞER HASARI
TEDAVİSİNDE THYMOQUINONE'UN YERİ**

DR. MUSTAFA ÇOLAK

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL LİPOPOLİSAKKARİT İLE
İNDÜKLENMİŞ AKUT AKCİĞER HASARI
TEDAVİSİNDE THYMOQUINONE'UN YERİ**

DR. MUSTAFA ÇOLAK

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BAHİRİYE OYA İTİL**

İZMİR-2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
A. ALI / ARDS.....	4
1. ALI / ARDS Tanımı ve Tanı Kriterleri.....	4
2. Epidemiyoloji.....	6
3. Etyoloji.....	6
4. Patofizyoloji.....	9
5. Klinik Seyir.....	13
6. Tanı.....	14
7. Prognoz, Mortalite.....	15
8. Tedavi.....	16
B. THYMOQUINONE.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
1. Materyal – Metod.....	20
2. İstatiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	29
6. KAYNAKLAR.....	31

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgilerini esirgemeyen, emek veren;

Dokuz Eylül Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı olan, her konuda desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Oğuz Kılınç' a,

Engin tecrübelerinden ve bilgi birikiminden çok şey öğrendiğim Sayın Prof. Dr. Atila Akkoçlu' ya, Sayın Prof. Dr. Eyüp Sabri Uçan'a, Sayın Prof. Dr. Arif Hikmet Çımrın'a, Sayın Prof. Dr. Can Sevinç'e,

Bu tezin ortaya çıkmasında sonsuz çabası olan, tez yazım sürecinde sayısız kere kapısını aşındırdığım tez hocam Sayın Prof. Dr. Bahriye Oya İtil'e,

Tezimin uygulama sürecinde desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Osman Yılmaz'a, Yard. Doç. Dr. Volkan Karaçam'a,

Tezimin histopatolojik incelemelerini değerlendiren Doç. Dr. İbrahim Meteoğlu'na,

Tezimin planlanmasında desteğini esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Serdar Kalemci'ye,

Tezimin hazırlanış ve istatistik sürecinde desteğini esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Aylin Özgen Alpaydın'a, Öğretim Görevlisi Uzm. Dr. Kemal Can Tertemiz'e, Uzm. Dr. Esma Adıyaman'a, çok şey paylaştığım asistan arkadaşlarıma,

Göğüs Hastalıkları Kliniği tüm hemşire ve personeline,

Varlığından güç aldığım, her daim yanımda hissettiğim aileme,

Sonsuz Teşekkürler...

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARDS: Akut Respiratuar Distres Sendromu

AECC: American European Consensus Conference

ALI: Acute Lung Injury

AAH: Akut Akciğer Hasarı

ATS: American Thoracic Society

COX: Siklooksijenaz

ESICM: European Society of Intensive Care Medicine

LIS: Lung injury score

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

IL: İnterlökin

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü β

VALI: Ventilatör ilişkili akciğer hasarı

ŞEKİLLER VE TABLolar

Tablo 1: ALI/ARDS tanımları (1994 - AECC)

Tablo 2: ARDS sınıflaması (2011)

Şekil 1: ALI/ARDS etyolojisi

Tablo 3: Diffüz alveoler hasarın fazları

Şekil 2: Normal alveol ve ARDS'nin akut fazındaki hasarlı alveol

Tablo 4: Akciğer Hasarı Skorlama (LIS) Sistemi

Grafik 1: Mortalite oranlarının zaman içinde değişimi

Tablo 5: ARDS Net çalışmasında koruyucu akciğer ventilasyon protokolü

Şekil 3: *Thymoquinone* (2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone)

Resim 1: BALB/C türü erkek fareler

Resim 2: Supin pozisyonda operasyon masasına sabitleme

Resim 3: Disseke edilen trakeaların bekleme süresinde sutureasyonu

Resim 4: Grup I histopatolojik görünüm

Resim 5: Grup II histopatolojik görünüm

Resim 6: Grup III histopatolojik görünüm

Resim 7: Grup IV histopatolojik görünüm

Tablo 6: Tüm çalışma gruplarında saptanan patoloji sonuçları

Tablo 7: Histopatolojik incelemelerin derecelendirilmesi

ÖZET

Amaç: ALI/ARDS yoğun bakım ünitelerinde karşılaşılan önemli bir klinik problemdir. Tedavi yöntemlerinin çoğu halen destekleyicidir. Thymoquinone nigella yağından elde edilen anti-inflamatuar, spazmolitik, bronkodilatör ve antibakteriyel etkileri olan biyoaktif bir bileşendir. Çalışmamızda, BALB/C türü farelerde lipopolisakkarit ile indüklemek koşuluyla ARDS modeli oluşturduk ve bu modelde thymoquinone' un tedavi etkinliğini araştırdık.

Materyal ve Metod: 28 adet BALB/C türü erkek fare randomize olarak seçildi ve 4 gruba ayrıldı (n=7, her bir grup için). Kontrol grubu; Thymoquinone grubu (3 mg/kg); Lipopolisakkarit grubu(5 mg/kg); Thymoquinone+Lipopolisakkarit grubu. Thymoquinone intraperitoneal yol ile, intratrakeal olarak lipopolisakkarit uygulamasından 1 saat önce uygulandı. Lipopolisakkarit uygulamasında 6 saat sonra fareler sakrifiye edildi ve akciğerleri histopatolojik inceleme için çıkarıldı.

Sonuçlar: Akciğer doku kesitleri histopatolojik olarak incelendiğinde, thymoquinone ile tedavi edilen grupta nötrofil göçü, intraalveoler hemoraji ve alveoler yıkımın azaldığı gözlemlendi.

Tartışma: Bu çalışma, thymoquinone' un lipopolisakkarit ile indüklenmiş akut akciğer hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: ALI/ARDS, thymoquinone, lipopolisakkarit

ABSTRACT

Aim: ALI/ARDS is an important clinical problem which is encountered mostly in intensive care units. Most of the treatment is still supportive. Thymoquinone is a bioactive compound derived from nigella oil which has anti-inflammatory, spasmolytic, bronchodilator and antibacterial effects. On this study, we created a model of ARDS inducing with lipopolysaccharide on BALB/C mice and also we researched the treatment efficacy of thymoquinone on this model.

Material and Method: Twenty-eight male BALB/C mice were randomly chosen and divided into four groups (n=7, each). Control group; Thymoquinone group (3 mg/kg); lipopolysaccharide group (5mg/kg); Thymoquinone+Lipopolysaccharite group. Thymoquinone was performed by intraperitoneal way 1 hour before intra-tracheal lipopolysaccharite implementation. With lipopolysaccharite implementation, mice were sacrificed 6 hours later and their lungs were removed out for histopathological examination.

Results: When lung tissue sections were histopathologically examined, in the group which was treated with thymoquinone a decrease was detected in neutrophil infiltration, intraalveolar hemorrhage and alveolar damage.

Discussion: This study indicates that thymoquinone may have protective effect against acute lung injury which was induced with lipopolysaccharite.

Key Words: ALI/ARDS, thymoquinone, lipopolysaccharite

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut Akciğer Hasarı (*Acute Lung Injury* -ALI) ve Akut respiratuar distres sendromu (ARDS); akciğerlere direkt veya indirekt etki eden birçok nedene bağlı olarak gelişen ve akut başlayan, akciğer yapı ve fonksiyonunda hipoksemi ile karakterize şiddetli değişiklik, solunum sistem kompliyansında azalma, akciğerlerde konjesyon, pulmoner hipertansiyon, akciğer endotel ve alveoler epitelyum geçirgenliğinde artış ile birlikte yaygın akciğer infiltrasyonu ile karakterize bir sendromdur. Sözü edilen bulgular ile birlikte oksijenizasyon oranının ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) ≤ 300 olan olgular ALI, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ olan olgular ise ARDS olarak tanımlanmıştır (1-3).

ALI ve ARDS; orta düzeyde pulmoner fonksiyon bozukluğundan başlayarak progresif olarak ilerleyen ve sonuçta fatal pulmoner yetmezliğe kadar giden bir klinik seyir izleyen, yoğun bakımda sık olarak karşılaşılan ve prognozu kötü bir hastalıktır (4).

ALI ve ARDS yoğun bakım ünitelerinde önemli bir hasta grubunu oluşturur ve 1994 konsensus kriterleri ile tanımlanmış ve sınıflaması çok açık bir şekilde yapılmıştır. Akut solunum yetmezliği insidansı 70-140/100000 olarak ifade edilmektedir (2). ALI/ARDS doğrudan akciğerlerden kaynaklanan sebeplere bağlı olarak gelişebileceği gibi (pnömoni, toksik gaz inhalasyonu vb.), sistemik bir hastalığa sekonder olarak da (akciğer dışı kaynaklı sepsis, akut pankreatit vb.) gelişebilmektedir. Mortalite oranı azalmakla birlikte %40-50 civarındadır (5,6).

Patofizyolojisinde, alveol-kapiller geçirgenliğinde artış sonucu meydana gelen alveol içi ödem ve oksijen tedavisine rağmen düzelmeyen ağır hipoksemi mevcuttur (7).

Araşidonik asit memeli sistemlerde mevcut olan önemli bir, çoklu doymamış yağ asididir. Üç önemli yolak ile oksijenize olmaktadır. Bunlar lipooksijenaz, siklooksijenaz (COX) ve epooksijenazdır. Araşidonik asit bu enzimlerle biyolojik aktif moleküller olan ve eikazonoidler olarak adlandırılan prostoglandinler, lökotrienler ve epoxyeicosatrienoic asitlere dönüştürülürler (8). *Thymoquinone*, araşidonik asit metabolizmasında siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yollarını inhibe eder. Tromboksan B2 ve lökotrien B4 oluşumunu, doza bağımlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (9). Siklooksijenaz-2, COX' un indüklenebilir bir izoformudur ve inflamasyonda düzeyinin artış gösterdiği bulunmuştur (10). COX-2' nin akciğer hasarında, inflamatuvar immün cevapta artış meydana getirdiği gösterilmiştir (11). COX-2' nin farmakolojik inhibisyonunun, proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerde azalma

yaparak ALI' ye karşı koruyucu etkinliği kanıtlanmıştır (12). *Thymoquinone*' un da COX inhibisyonu yaparak ALI/ARDS tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Birçok yazar Nigella otundan elde edilen *thymoquinone*' u araştırmış ve canlı organizmalarda önemli etkilerini bulmuştur. Bronkodilatör, spazmolitik, anti-inflamatuar ve anti-bakteriyel aktiviteleri tanımlanmıştır. *Thymoquinone*, araşidonat metabolizmasında siklooksijenaz ve 5-lipooxygenase yollarını inhibe etmektedir (9,13-16). Gilani ve arkadaşları bronkodilatör etkisini göstermişlerdir (9).

Çalışmamızın amacı, BALB/C türü farelerde lipopolisakkarit ile indüklemek koşuluyla ALI/ARDS modeli oluşturmak ve bu modelde *thymoquinone*' un etkinliğini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

A.ALI/ARDS

A1. ALI/ARDS Tanımı ve Tanı Kriterleri:

ARDS yıllar içerisinde, travmatik ıslak akciğer, konjestif atelektazi, şok akciğeri, Da Nang akciğeri gibi isimler almıştır. İlk olarak 1967 yılında Ashbaugh ve arkadaşları tarafından “Adult respiratory distress syndrome” olarak tanımlanmıştır (1).

Asbaugh ve arkadaşları 1967' de ilk kez, ARDS' yi 12 yetişkin hastada akut başlayan, klinik olarak takipne, dispne, oksijen tedavisine dirençli hipoksi ve sol kalp yetersizliği bulguları olmayan, akciğer kompliyansında azalma, akciğer radyografisinde diffüz bilateral infiltrasyonlar ile karakterize bir sendrom olarak tanımladılar (1). ALI, vasküler geçirgenlik artışıyla seyreden akut ve yaygın akciğer inflamasyonu olmakla birlikte, her zaman ARDS'ye dönüşmesi beklenemez. Sözü edilen bulgular ile birlikte oksijenizasyon oranının (PaO_2/FiO_2) ≤ 300 olan durumlar ALI, $PaO_2/FiO_2 \leq 200$ ARDS olarak tanımlandı (2). Histopatolojik olarak ise akciğerlerde ödem, atelektazi, inflamasyon, vasküler konjesyon ve kanamalar, hyalen membranlar ile fibrozis olduğu belirtilmiştir (1).

1992 yılında, ‘American European Consensus Conference (AECC)’, ALI ve ARDS tanımlarını yapmıştır (2) (Tablo 1).

Tablo 1: ALI/ARDS tanımları (1994 -AECC)

Klinik	Akut akciğer hasarı	Akut solunum sıkıntısı sendromu
Başlangıç	Akut	Akut
Hipoksemi	$\text{PaO}_2/\text{Fio}_2 \leq 300$ (40kPa)	$\text{PaO}_2/\text{Fio}_2 \leq 200$ (27kPa)
Radyoloji	Pulmoner ödem ile uyumlu bilateral infiltrasyonlar	Pulmoner ödem ile uyumlu bilateral infiltrasyonlar
Nonkardiyak neden	Sol atriyal hipertansiyonun klinik bulgusunun olmaması veya $\text{PCWP} \leq 18$ mmHg	Sol atriyal hipertansiyonun klinik bulgusunun olmaması veya $\text{PCWP} \leq 18$ mmHg
AECC: American European Consensus Conference, PCWP: Pulmoner kapiller uç/oklüzyon basıncı, kPa:Kilopaskal		

AECC’ nin yaptığı ARDS tanımı ile ilgili problemler bulunmaktadır. Tanımlamanın duyarlılığı %83, özgüllüğü %51’dir (17). Bu tanımlamayla ARDS hastaları yeteri kadar tanınmamaktadır ve bu durum muhtemelen ALI için de geçerli olmaktadır.

ARDS ile ilgili, 1992 yılından bu yana güncel bir tanımlama yapılamamıştır. Ancak, 2011 yılı Kasım ayında Berlin/Almanya’ da ‘European Society of Intensive Care Medicine’ (ESICM) 24. Kongresinde ARDS’ nin yeni tanımıyla ilgili ATS (*American Thoracic Society*) ile birlikte yaptığı çalışmalar ve önerilen tanımlama, Marco Ranieri tarafından sunulmuştur (18) (Tablo 2).

Tablo 2: ARDS sınıflaması (2011)

Kriter	Hafif	Orta	Ağır
Zamanlama	Akut başlangıç, bir hafta içinde başlayan klinik veya yeni/kötüleşen solunum semptomları		
Hipoksemi	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 = 201-300$ ve $\text{PEEP}/\text{CPAP} \geq 5$	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ ve $\text{PEEP} \geq 5$	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100$ ve $\text{PEEP} \geq 10$
Ödem nedeni	Kalp yetmezliği veya sıvı yüklenmesi ile tamamen açıklanamayan solunum yetmezliği**		
Radyolojik anormallikler	Bilateral opasiteler*	Bilateral opasiteler*	En az üç kadranı kaplayan opasiteler*
Ek fizyolojik düzensizlikler	N/A	N/A	$\text{CRS} < 40 \text{ mL/cmH}_2\text{O}$ veya $\text{VEcorr} > 10\text{L/dakika}$
* Efüzyon, nodul, kitle veya lobar/akciğer kollapsı ile tamamen açıklanamayan. ** Hiçbir risk faktörü yoksa objektif değerlendirmeye ihtiyaç vardır. $\text{VEcorr} = \text{VE} \times \text{PaCO}_2/40$ (vücut yüzey alanı ile düzeltilmiş dakika ventilasyonu), CRS: İstirahatte akciğer kompliyansı, CPAP: Devamlı pozitif hava yolu basıncı, N/A: Uygulanabilir değil, kullanılamaz.			

A2. Epidemiyoloji:

ALI ve ARDS' nin insidansının tam olarak belirlenmesi, tanımlamalardaki farklılıklar, etyolojik faktörlerin farklılık arz edebilmesi, coğrafik farklılıklar ve yetersiz veriler gibi nedenlerle zordur (19).

1994 yılında yayınlanan konsensus raporuna göre, İskandinav ülkelerinde yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalara göre akut akciğer hasarı insidansı; 17,9/100.000, ARDS insidansı ise 13,5/100.000 olarak bulunmuştur (20). ALI ve ARDS'nin insidansı 1998'de ABD'de yıllık 50.000-190.000 vaka olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmada ALI insidansı 22-86/100.000 vaka olarak ve bunların %40-43'ünün ARDS olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada asıl olarak erişkin vakaları içermektedir. ALI/ARDS insidansı pediatrik grupta ise 2-8/100000 vaka olarak belirtilmiştir (21).

2003 yılında Goss ve ark. 1996-1999 yılları arasındaki ALI hastalarını saptamak amacı ile ARDS network bilgi bankasını kullanmışlar ve 64,2/100.000 vakalık bir insidans saptamışlardır (22). 2005 yılında Rubenfeld ve ark. (Amerika'da) *King County Lung Injury*

Project ile ALI/ARDS insidansının 78.9/100.000 vaka olarak hesaplamıştır. 2001-2008 yılları arasında Li ve ark. *Mayo Clinic* 'te yoğun bakım hastalarından 8 yıllık bir retrospektif kohort çalışması yayınlamış olup insidans oranının yılda 81/100.000 vakadan 38/100.000 vakaya düştüğünü saptamışlardır (23).

ARDS insidansı en son olarak 2011 yılında 7.2/100.000 olarak saptanmıştır (24). İnsidansda meydana gelen bu azalmanın, hastaların tedavi, takip ve destek tedavilerindeki ilerleme / gelişmelere bağlı olduğu düşünülmektedir.

A3. Etiyoloji:

ALI/ARDS, primer olarak pnömoni, aspirasyon ve travma gibi faktörlere bağlı olarak akciğer dokusunda gelişen hasarlanma sonrası ortaya çıkabileceği gibi; sepsis ve pankreatitte gelişen sistemik olaylara sekonder olarak da ortaya çıkabilir (7,25-27) (Sekil-1). ALI ve ARDS en sık pnömoni, sepsis, aspirasyon, travma ve tekrarlayan kan transfüzyonlarına bağlı olarak gelişmektedir (7). Günümüzde ALI ve ARDS' ye neden olan faktörler iki gruba ayrılmıştır (7,26).

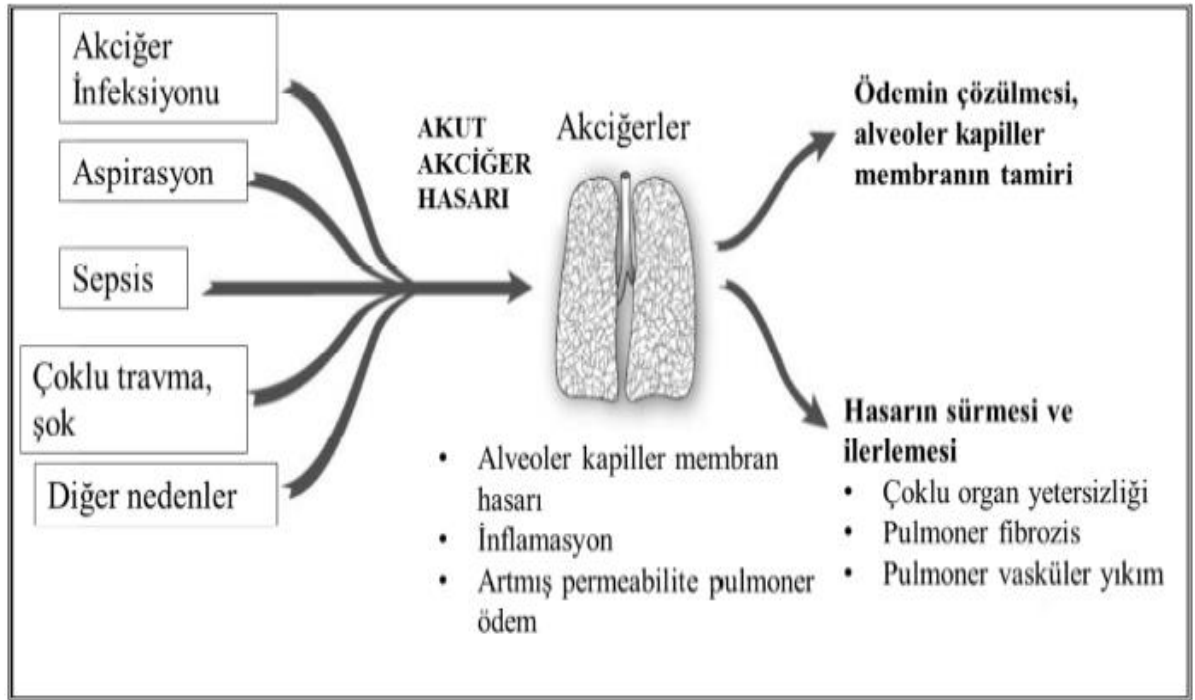
Primer ALI/ARDS (Direkt Akciğer Hasarı):

- Pnömoni (bakteriyel, fungal veya viral)
- Mide içeriği veya asit aspirasyonu
- Hava veya yağ embolisi
- İnhalasyon hasarı
- Akciğer kontüzyonu
- Suda boğulma
- Reperfüzyon hasarı sonucu gelişen akciğer ödemi (akciğer embolektomisi veya transplantasyonu sonrası)
- Ciddi akut solunum sendromu (SARS)

Sekonder ALI/ARDS (İndirekt Akciğer Hasarı):

- Sepsis ve septik şok
- Multitravma
- Akut pankreatit
- Kardiyopulmoner bypass
- Transfüzyon ilişkili akciğer hasarı
- İlaçlar, zehirlenmeler
- Nörojenik pulmoner ödem

Şekil 1-ALI/ARDS etyolojisi



Direkt pulmoner hasar, alveoler makrofajların aktivasyonu ile pulmoner epitelde oluşan hasarlanma ile karakterize olup alveoler epitelyum hasarı, alveol içi ödem, kollajen, fibrin, nötrofil agregatları ve hemoraji meydana gelmektedir. Akciğer radyografisinde yama tarzı konsolidasyonlar bulunmaktadır. Kompliyans daha düşüktür ve akciğerlerdeki kapalı alanlar, indirekt pulmoner hasara göre daha zor açılmaktadır (28,29).

İndirekt ekstrapulmoner hasar; pankreatit, peritonit ve değişik abdominal hastalıklar gibi farklı odaklardan salınan medyatörlerin kan yoluyla akciğer hasarı oluşturmalarıdır. Pulmoner endotel hücreleri birincil hedeftir. İnflamatuar kaskad aktive olur ve endotel bariyer permeabilitesi artar. Alveol içi alanlar daha az tutulurken, mikrovasküler konjesyon ve interstisyel ödem ön plandadır. Akciğer radyografisinde konsolidasyonlar yaygın ve simetriktir. Kapalı akciğer alanları daha kolay açılabilir (3,28,29).

A4. Patofizyoloji:

Akut akciğer hasarının erken dönemlerindeki en önemli patolojik bulgular; alveolar epitelyal ve kapiller endotelyal bariyer geçirgenliğinde artış olmasından dolayı meydana gelen proteinden zengin yoğun pulmoner ödemdir (30,31). Ayrıca pulmoner ödemi artıran vazokonstriksiyon ve tromboemboliden dolayı pulmoner vasküler dirençte artış söz konusu olmaktadır (32).

İnflamasyon, koagülasyon, immün sistem modülasyonu, hipotalamo-hipofizer yolun aktivasyonu başlamaktadır. Aslında doku hasarını önlemeye, iyileştirmeye ve organizmayı korumaya yönelik olan bu mekanizmaların oto-kontrolü, nedeni tam olarak bilinmeyen sebepler ile bozulmaktadır. Bu kompleks olaylarda tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökinler (IL), diğer sitokinler, kinin, arasıdonik asit metabolitleri, kompleman, endotelin, serbest oksijen radikalleri, nitrik oksit gibi medyatörler rol oynamaktadır (31,33).

Direkt hasarda primer hedef alveoller iken, indirekt hasarda ise pulmoner endoteldir (28,29). Morfolojik yapıyı diffüz alveoler hasar meydana getirir ki, hücrel nekroz, inflamasyon ve fibrozisi içermektedir. Bu süreç birbirini izleyen eksudatif faz, proliferatif ve fibrotik faz olmak üzere üç fazdan oluşmaktadır (32) (Tablo 3).

Tablo 3: Diffüz alveoler hasarın fazları

	Eksudatif	Proliferatif	Fibrozis
Hasar oluşum zamanı	1-7 gün	1-3 hafta	Haftalar-aylar
Major özellikler	Ödem Hemoraji Nötrofiller Hyalin membranlar	Tip-2 pnömosit hiperplazisi Mononükleer hücre baskınlığı Alveolar eksuda oluşumu Myofibroblast infiltrasyonu Epitelyal apopitoz	İnterstisyel fibrozis Kronik inflamasyon Tip-2 pnömosit hiperplazisi Amfizematöz değişiklikler
Vasküler yapı	Lokal trombüs	Kapiller kaybı Pulmoner hipertansiyon	Myointimal kalınlaşma Damarlarda şekil bozukluğu

Eksudatif faz;

Alveoler kapiller membran, mikrovasküler endotel, intertisyum ve alveoler epitelyumdan meydana gelmektedir (23). İlk bariyer olan endotelyal hücreler, sıkıca birbirine bağlanmıştır ve vasküler alandan sıvı sızmasını önlemektedir. Bu fazda endotelyal hücreler şişer ve sıkı bağlantılar açılır, genişler. İkinci bariyer olan alveoler epitelyal hücreler de intraalveoler alana sıvı kaçağını önlemektedir (32).

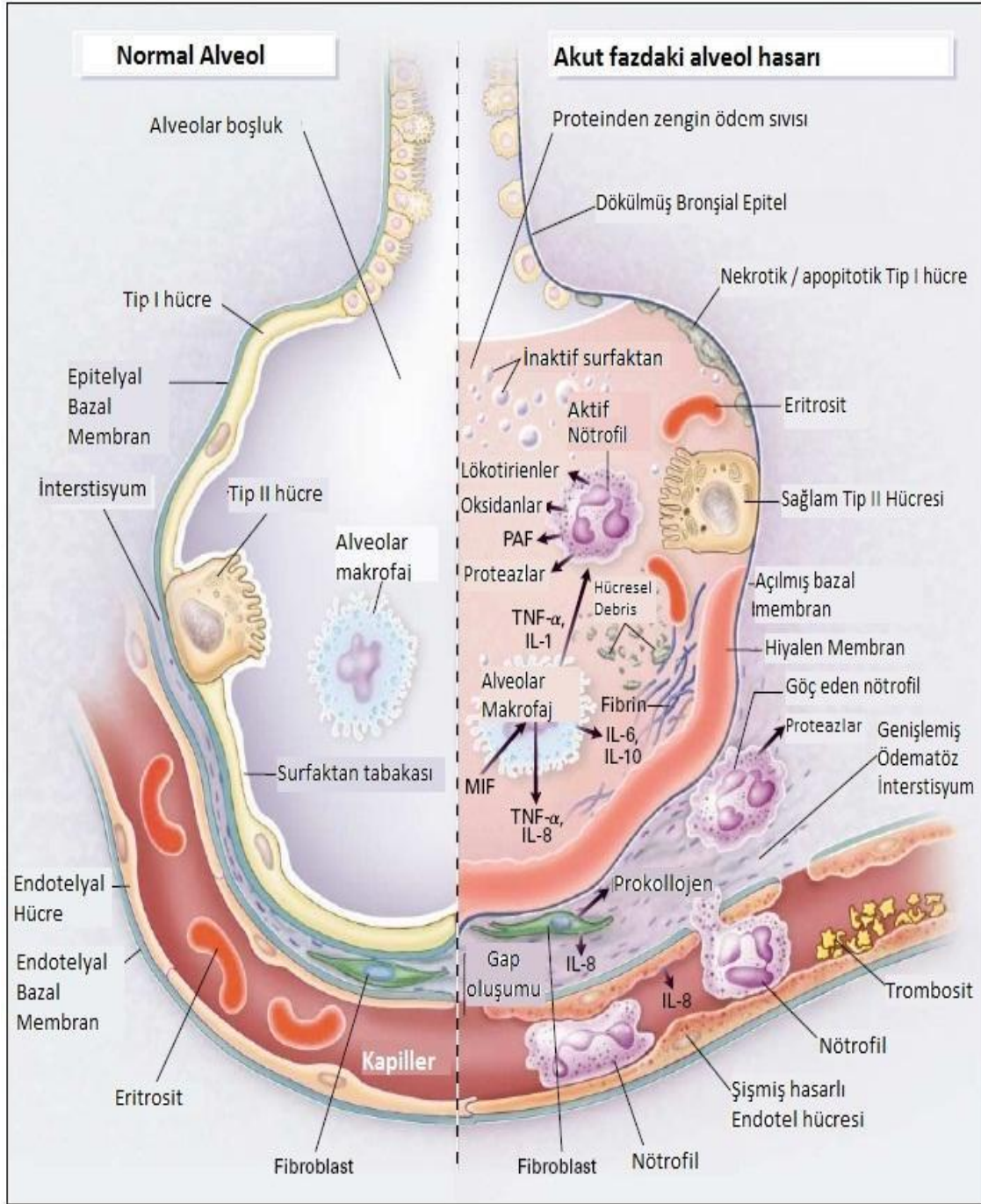
Alveoler kapiller membran bütünlüğünün bozulması, fazla miktarda transepitelyal nötrofil göçü ve proinflamatuvar, sitotoksik mediatörler (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 gibi), anti inflamatuvar sitokinler (IL-10 ve 11 gibi), proteazlar ve oksidanların salınımı akut akciğer hasarının hücresel karakteristiğidir. Ayrıca alveoler makrofajlar da aktive olmaktadır (3,34,35). Ekstresek doku faktörünün aktivasyonu ve plazminojen aktivatör inhibitörüyle gerçekleşen fibrinolizisin inhibisyonu, fibrinden zengin hyalen membran oluşumuyla sonuçlanmaktadır.

Surfaktan inaktivasyonun gerçekleşmesi de alveoler kollapsa katkıda bulunur. Böylece akciğerler ağırlaşır ve kompliyansı azalır. Bu alveoler değişikliklerle eş zamanlı olarak trombosit ve fibrinden zengin mikrotrombüsler küçük damarları tıkar ve arastidonik asit gibi vazoaktif maddeler salarlar. Sonuçta pulmoner vasküler rezistansın artmasıyla pulmoner hipertansiyon gelişir (3,36,37).

Aktif hale gelen nötrofiller, oksidan ve proteolitik enzimleri serbestleştirir. Bunlar da bazal membran ve epitelyum hücrelerini hasara uğratırlar (38,39). Mikrovasküler endotelyal hasarın yol açtığı kapiller permeabiledaki artış, proteinden zengin sıvının peribronkovasküler intertisyuma ve oradan da epitelyal bariyeri geçerek akciğer distal boşluğuna girişine izin verir. Endotelyal hasarı takiben lökositlerden salınan ve adezyon molekülü olan Beta-2 integrin ile intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), nötrofillerin endotele daha sıkı yapışmasını sağlar (30,23).

Sonuçta alveoller hyalen membran, inflamatuvar hücreler ve proteinden zengin ödem ile dolar. Hyalen membranlar fibrin, fibronektin ve hücrel artıkların bir karışımıdır. Bazı olgularda epitelyal nekroz ve surfaktan kaybı nedeniyle kollaps gelişebilmektedir (32). Histolojik olarak, ARDS epitelyal ve endotelyal hücre hasarı, nötrofil istilasısı, hyalen membran oluşumu, alveoler ödem ve hemoraji ile karakterizedir (3) (Şekil 2).

Şekil 2: Normal alveol ve ARDS'nin akut fazındaki hasarlı alveol



*L.B. Ware, M.A. Matthay, *The acute respiratory distress syndrome*, *N. Engl. J. Med.* 342.2000 1334–1349.'den uyarlanmıştır

Proliferatif faz;

Tipik olarak ikinci ve üçüncü haftalarda gelişir. Alveoler lümenin lökosit, eritrosit ve fibrin ile dolmasına yol açar. Tip-1 pnömosit nekrozuyla karakterizedir. Tip-2 pnömositler çoğalır ve Tip-1 pnömositlere dönüşerek alveol epitelyum yüzeyini onarmaya çalışırlar (12,36,37). Çoğalan Tip-2 pnömositler; büyük nükleuslu, belirgin nükleoluslu ve sık mitotik özelliği olan rejeneratif atipik hücrelerdir (40). Alveoler epitelyum skuamoz metaplaziye uğrayabilir. Bu durum intraalveoler fibrozis ile ilişkili olarak sık görülür (41). Fibroblastlar alveol duvarına ve intertisyuma geçerler. Nötrofiller akciğer intertisyumuna yerleşir ve kemotaksise neden olan mediyatörleri salarlar (32).

Bu fazda trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörü, fibronektin, transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü gibi mediyatörler önemli rol oynamaktadır. Epitelin yenilenmesinde rol oynayan diğer mediyatörler epidermal büyüme faktörü, insüline benzer büyüme faktörü, TGF- α , keratinosit büyüme faktörüdür (42,43).

Tüm bunların sonucunda akciğer dokusu çok hücreli bir hal alır ve gelişen intraalveoler fibrozis, alveoler boşluklarda tıkanıklığa yol açar. Hyalen membranlar, intraalveoler makrofajlar tarafından fagosit edilebilir ya da çoğalan fibroblastlarla kaplanıp hızlıca intertisyuma da ilerleyebilirler (44,45). Epitelyal hücreler intraalveoler fibrotik dokuya göç ederler ve hava yollarında reepitelizasyon gelişir. Bu alanlarda skuamoz metaplazi daha belirgin gözlenir (44). Alveoler havayollarının kollapsı ile birlikte alveoler yüzeyin reepitelizasyonu intertisyumun genişlemesine katkıda bulunur (32).

Hyalen membran ve alveoler septum yüzeyindeki değişiklikler fibrozis başlangıcı olarak değerlendirilir (41). Geç eksudatif ve erken proliferatif fazda hyalen membranlar fibronektinleri toplar ve retikülin fiberleri de alveoler septumu geçerek hyalen membranlara ulaşır (46). Bu olaylarla birlikte miyofibroblastlar / fibroblastlar interstisyel kompartmanda epitelyal bazal membran ve alveoler boşluklara göç ederler (41,44). Miyofibroblastların infiltrasyonu, matriks metalloproteinazları ve doku inhibitörlerinin salınımını düzenleyerek akciğer ekstraselüler matriksin yenilenmesini sağlar (47).

Fibrotik faz;

Nazokomial pnömoniye sekonder olarak gelişen sepsis ve pulmoner fibrozis, ARDS tanımlı hastalarda ölümün en sık nedeni olan durumlardır. Fibrozis; fibroblast, diğer parankim hücreleri ve makrofajlar arasındaki karmaşık ilişkinin sonucudur (42,43). Akciğerler yine

oldukça ağırlaşmıştır ve kaya taşı gibi bir görünüme sahiptirler (32). Mikrositik değişikliklerle birlikte alveoler kanallar dilatedir. Fibroblastlar kollojen depolayarak alveol duvarını kalınlaştırır (41,48). Hızla ilerleyen fibrozis irreversibl değişikliklere yol açar. Pulmoner vasküler değişiklikler de gözlenir (32). Kapiller trombüsler gelişir. Histolojik olarak, intraasiner arter ile venlerde intimal fibrozis ve medial kalınlaşma gözlenir (49,50).

Sonuçta gerçekleşen fibrozis kompliyansı azaltır, solunum işini artırır. Alveoler tıkanıklığa, interstisyel kalınlaşma eklenir (3,36,37). Apoptozis ve anjiyogenezis bu fazın diğer önemli komponentleridir. İnsanlarda ARDS patogeneğinde apoptozla ilgili iki önemli teori üzerinde durulur: Bunlar, epitelyal hücre apoptozu ve nötrofil kümelenmesidir (51).

A5. Klinik Seyir:

ALI ve ARDS gelişimi hastaların yaklaşık % 50 sinde tetikleyici olaydan sonraki 24 saat içinde oluşmaktadır. 72 saat için de hastaların % 85 inde klinik olarak ALI ve ARDS ortaya çıkmaktadır. ALI ve ARDS' li olguların klinik seyirleri farklı olabilmektedir. Erişkinlerde en sık görülen semptom dispnedir, ayrıca öksürük, balgam, wheezing de görülmektedir. Klinik üç faza ayrılabilir;

- 1- Akut faz: İlk 3-5 gün içinde gelişir. İlk 12-24 saat içinde taşikardi, takipne ve solunumsal alkaloz olabilir. Hasardan 12-24 saat sonra hiperventilasyon ve hipokapni devam ederken, solunum işi biraz daha artar ve hasta halen klinik olarak stabildir. Akciğer radyografilerinde anormallikler görülmeye başlanır, solunum yetersizliği artar, hızlı ve yüzeysel solunum gözlenir, oksijen desteğine rağmen hipoksi vardır.
- 2- Subakut faz: Olayın başlamasından sonraki ilk 5-7 gün içinde gelişir. Alveoler ve interstisyel ödem artmış, radyolojik olarak bilateral infiltrasyonlar yerleşmiş olup ciddi solunum yetersizliği devam eder. Alveoler ölü boşluk artmış, kompliyans düşmüştür. Ventilasyon için yüksek basınç, yeterli oksijenasyon için yüksek inspirasyon oksijen yüzdesi ve eksternal ekspirasyon sonu pozitif basınç (PEEP) gereklidir. Kan gazlarında ağır hipoksemi ve hiperkapni görülür.
- 3- Kronik faz: 2 haftadan sonra gelişir. Hipoksi büyük oranda düzelmiştir ancak akciğer kompliyansı düşük ve ölü boşluk oranı hala yüksektir. Fibrozis gelişmeye başlamış,

direkt akciğer radyografisinde veya bilgisayarlı tomografide amfizem ve bül oluşumu görülebilir (52-55).

A6. Tanı:

2011 yılı Kasım ayında Berlin/Almanya’da “European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)” 24. Kongresinde ARDS’ nin yeni tanımıyla ilgili ATS ile birlikte yaptığı çalışmalar ve önerilen tanımlama sunulmuştur (18). ARDS’ de akciğer hasarının ağırlık derecesini ortaya koyabilmek için akciğer hasarı skoru (Lung injury score- LIS) geliştirilmiştir (Tablo 4). Bu sisteme göre alınan puanlar toplandığında; 0 puan: normal, 0.1-2.5 puan: hafif veya orta ARDS, LIS > 2.5 ise ağır ARDS olarak kabul edilmektedir (56).

Tablo 4: Akciğer Hasarı Skorlama (LIS) Sistemi

Skor	0	1	2	3	4
Hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)	≥ 300	225-299	175-224	100-174	≤ 100
Akciğer radyografisinde Alveoler konsolidasyon	yok	1 kadran	2 kadran	3 kadran	4 kadran
PEEP (Hasta ventile edilirken) (cmH_2O)	≤ 5	6-8	9-11	12-14	≥ 15
Kompliyans (Hasta ventile edilirken) ($\text{mL}/\text{cmH}_2\text{O}$)	≥ 80	60-79	40-59	20-39	≤ 19

ARDS’ nin erken dönemlerinde akciğer radyografisinde hiluslardan uzanan lineer opasiteler, interstisyuma sıvı kaçığını gösteren yaygın, buzlu cam gibi bilateral diffüz infiltrasyonlar görülür (43,57).

Pulmoner sebeplere bağlı gelişen ALI/ARDS' de daha çok yama tarzı konsolidasyonlar varken, ekstrapulmoner sebeplere bağlı gelişen ALI/ARDS' de konsolidasyonlar daha yaygın ve simetriktir (52,58).

Bronkoalveoler lavaj sıvısı, alveoler boşluktaki sıvı ve hücresel bileşenleri tanımlamada yaygın olarak kullanılmaktadır. ARDS tanılı hastaların bronkoalveoler lavaj

sıvılarında önemli bir proinflatuar sitokin olan IL-8 düzeyleri belirgin derecede yükselmiştir ve bu ARDS' li hastalarda yüksek mortalite ile birlikte (59). Ayrıca tanıda pulmoner arter kateterizasyonu, ekokardiyografi, akciğer biyopsisi, genetik analizler, fizyolojik ölçümler ve üriner bazı markerler faydalı olabilir.

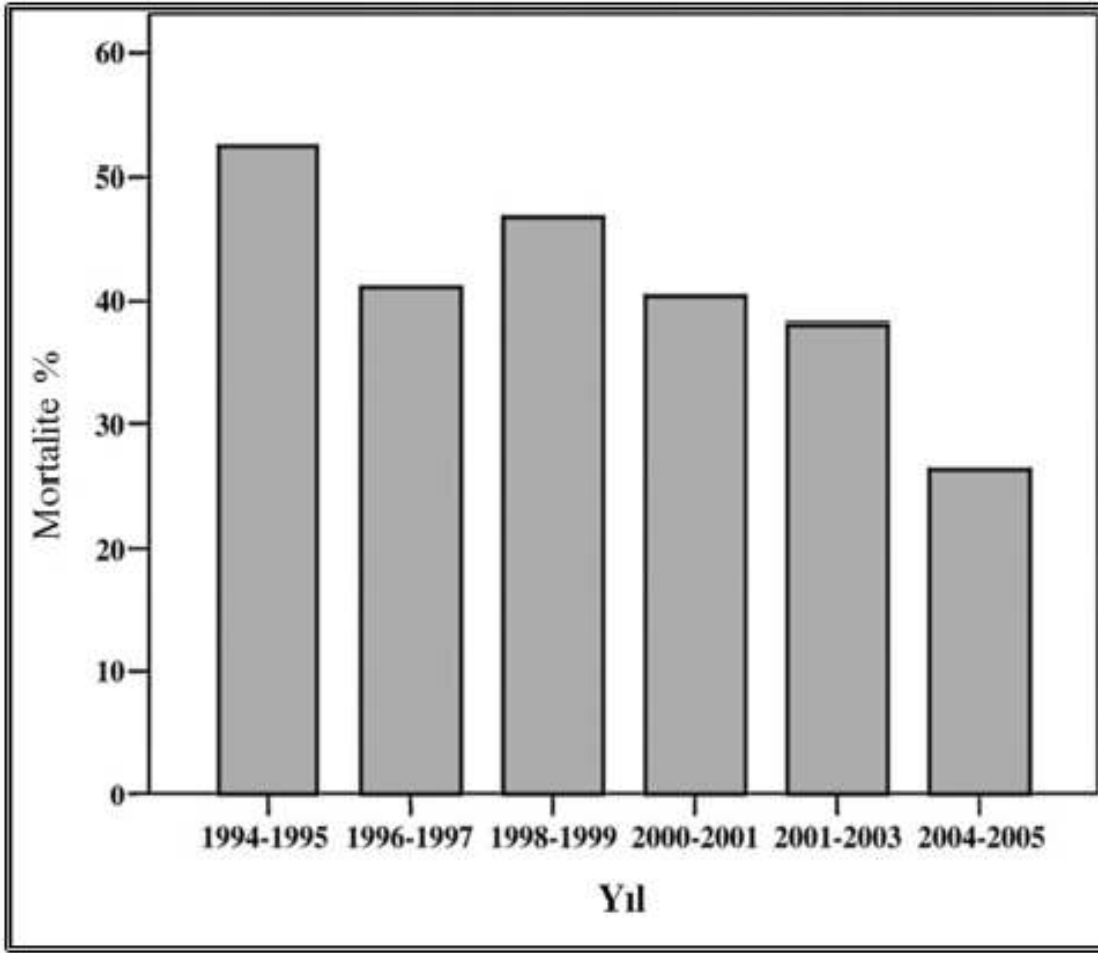
A7. Prognoz, Mortalite:

ALI ve ARDS' nin mortalitesindeki artış ile ilişkili klinik değişkenler; ileri yaş, düşük PaO₂/FiO₂ oranı, yüksek plato basıncı (düşük kompliyans), ölü boşluk oranının büyüklüğü, pulmoner infiltratların yaygınlığı, kronik karaciğer hastalığı, akciğer dışı organ işlev bozukluğu, hastalığın şiddeti, hipoproteinemi, ARDS öncesi hastanede kalış süresi gibi faktörleri içerir (60).

ALI/ARDS' nin farklı etyolojik sebeplerinin, farklı prognozları vardır. Travma ile ilişkili ALI/ARDS daha iyi bir prognoza sahip iken, sepsis zemininde gelişen ALI/ARDS' nin prognozu daha kötüdür ve daha yüksek mortalite oranlarına sahiptir (61). Rubenfeld ve arkadaşları 15-19 yaş grubundaki hastalarda mortalitenin 85 yaş ve daha büyük hastalara göre daha düşük (%24-%60) olduğunu ortaya koymuştur (5) .

ALI/ARDS' deki mortalite oranları 1980 tarihli kaynaklarda % 67-70 olarak bildirilmiştir (62-64). Bu veriler uzlaşlı ölçütleri tanımlanmadan öncesine ait veriler olup, bu tarihten sonra yapılan çalışmalarda ise mortalite oranları %29-42 olarak bildirilmektedir (5,65-67) (Grafik-1).

Grafik-1: Mortalite oranlarının zaman içinde değişimi



A8. Tedavi:

ALI/ARDS tedavisini spesifik ve destek tedavisi olarak sınıflayabiliriz.

Spesifik tedavi;

Öncelikle altta yatan neden bulunmalı ve ona yönelik tedavi yapılmalıdır. ALI/ARDS sebepleri arasında pnömonideki antibiyotik tedavisi dışında başka spesifik tedaviler de denenmektedir. Bunlar; ARDS' nin başlangıcı inflamasyon olduğu için, akciğerde var olan inflamasyon ve fibroze yönelik tedavilerdir. Kortikosteroidler, pentoksifilin, lisofilin, sürfaktan, anti IL-8, alveoler epitelyum bariyer onarıcılar (hepatosit growth faktör, keratosit growth faktör), prostoglandin agonist ve inhibitörleri (tromboksan inhibitörleri, ketokonazol ve PGE1 gibi), hidralazin, nitroprussid, inhale pulmoner vazodilatatörler (PGE1 ve PGE2 gibi), immünoterapi, siklooksijenaz inhibitörleri, antioksidanlar (N-asetil sistein, prosistein,

vitamin E, vitamin C, beta karoten, ürik asit, glutatyon), antiproteazlar, lipid medyatörler (PGE1 ve PGE2), NO vs. ARDS tedavisinde denenmektedir (27,68,69).

Destek tedavisi;

Mekanik ventilasyon, hemodinami ve sıvı balansının düzenlenmesi ile beslenme tedavisini içerir. ARDS' de hipoksiyi önlemek, hiperkarbiyi ortadan kaldırmak ve pH' ı normal düzeye getirebilmek için destek tedavisinin esasını mekanik ventilasyon oluşturur. Fakat mekanik ventilasyonun kendisi de akciğerlerde hasara sebep olabilir ki, buna ventilatör ilişkili akciğer hasarı (VALI) denmektedir.

VALI sebepleri olan barotravma, volütravma, atelektotravma ve biyotravmadan korunmak için akciğeri koruyucu mekanik ventilasyon stratejileri geliştirilmiştir. İdeal yaklaşım plato basıncını 35 cmH₂O düşük tutacak şekilde düşük tidal volum (4-6 ml/kg) ve 5-10 cmH₂O PEEP eklemek yoluyla zararlı olmayacak şekilde yeterli oksijenasyonu sağlamaktır (70,71).

Geleneksel mekanik ventilasyonda rutin geleneksel anestezi uygulandığında, atelektaziyi önlemek için tidal hacim genellikle geniş bir aralıkta (10-15 ml/kg) tutulur. PEEP düzeyleri oksijenasyonu sağlayacak düzeyde ayarlanır. İntratorasik basıncı artırarak kardiyovasküler dengesizliğe yol açtığı için yüksek PEEP düzeylerinden kaçınılır. PaCO₂ normal sınırlarda tutulmaya çalışılır. Ventilatörün indüklediği akciğer zedelenmesinin bu geleneksel mekanik ventilasyon ile yüksek tidal hacim ve düşük PEEP kullanılarak arttığı düşünülmektedir. Geniş çok merkezli ARDS Net Çalışması'nda düşük tidal hacim (6ml/kg), tepe inspirasyon basınçlarının (PIP) 30-35 cmH₂O' da sınırlandırılması ve kabul edilebilir hiperkarbi ile akciğer koruyucu ventilasyon, oksijenasyonda, respiratuar asidozda, ventilatörden ayrılma sürecinde düzelmeye neden olmuştur (71,72) (Tablo 5).

Tablo 5: ARDS Net çalışmasında koruyucu akciğer ventilasyon protokolü

Ventilator modu	Hacim- kontrol
Vt (ml/kg)	6 (plato basıncına göre ayarlanmış)
Pplat (cmH ₂ O)	< 30
Solunum sayısı/dakika	6-35
İ/E oranı	1:1- 1:3
PaO ₂ (kPa)	7,3- 10,7
O2 satürasyonu	%88- 95
PEEP (cmH ₂ O)	5-24

PEEP uygulaması, akciğerlerdeki sıvının alveollerden intertisyel bölgeye hareketine, küçük hava yollarında ve kollabe olmuş alveollerde düzelmeye ve fonksiyonel rezidüel kapasitede artışa yol açarak oksijenasyonu düzeltir. Ek olarak alveollerde ekspiryumda oluşan kollaps önlenir (73). ARDS Net Çalışması, optimal PEEP düzeyi üzerine yoğunlaşmaktadır (71). PEEP değerinin ARDS iyileşmesi üzerindeki etkisinin konsolidasyonun bölgesel dağılımına göre farklılık gösterdiği düşünülmektedir (74).

Ventilatörün neden olduğu akciğer zedelenmesini önlemek amacıyla tidal hacmin ve tepe basınçlarının kısıtlanması önerilmektedir. Ancak bu durum hiperkarbiye neden olabilmektedir. 1990' da karbondioksit (CO₂) düzeyinin yükselmesine izin verilerek (permissive hiperkapni) ve düşük tidal hacim ile hava yolu basıncı sınırlı tutularak daha düşük mortalite oranları bildirilmiştir (72).

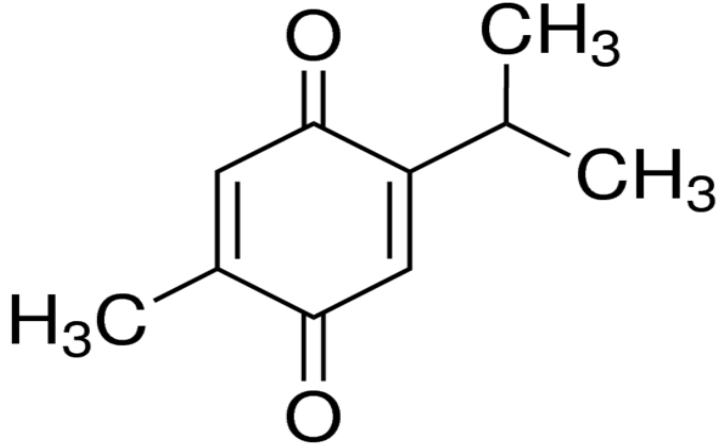
Diğer akciğer koruyucu mekanik ventilasyon stratejileri ise; ekstrakorporal membran oksijenasyonu (ECMO), ekstrakorporal karbondioksit uzaklaştırılması (ECCO₂R), ters oran ventilasyon (*inverse ratio ventilation*-IRV) ve likid ventilasyondur. Yeni ventilasyon stratejileri arasında ise yüksek frekanslı ventilasyon (HFV), hava yolu basıncı serbestleştirme ventilasyon (*airway pressure release ventilation*- APRV) da denenmektedir. Ayrıca *prone* pozisyonun da ventilasyon / perfüzyon uyumunu artırdığı ve ventilasyonda rejyonel değişiklikler sağlayarak oksijenasyonu iyileştirdiği kanıtlanmıştır (75).

Hipovolemi ve doku perfüzyon bozukluğu yapmayacak ve hastanın sıvı yüklenmesini de engelleyecek en düşük sıvı volümü verilmelidir. Böylece pulmoner kapiller basıncı azaltarak, zaten zedelenmiş olan alveoler kapiller membrandan dışarı sıvı kaçıışı önlenmeye çalışılır.

Solunum yetersizliklerinde lipidden zengin (total kalorinin %50' si), karbonhidrattan fakir (total kalorinin %30' u) bir diyet önerilmektedir. Erken enteral beslenme, hem barsaklarda villus atrofisini önlemede hem de bakteri ve toksik maddelerin translokasyonunu azaltmada son derece önemlidir. Ayrıca hastalara emosyonel destek sağlanmalı ve fizyoterapi uygulamak gereklidir (76,77).

B. THYMOQUINONE

Kimyasal yapısı $C_{10}H_{12}O_2$ olup, nigella yağından elde edilen biyoaktif bileşendir (Şekil 3). Birçok yazar tarafından *thymoquinone*' un kardiyovasküler, pulmoner ve anti-inflamatuar etkileri incelenmiştir (8,13-16,78).



Şekil 3: *Thymoquinone* (2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone)

Thymoquinone, araşidonat metabolizmasında siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yollarını inhibe eder (14). Tromboksan B2 ve lökotrien B4 oluşumunu doza bağlı inhibe ederek etki ettiği gösterilmiştir. Gilani ve arkadaşları bronkodilatör etkisini göstermişlerdir (9).

Siklooksijenaz (COX), araşidonik asitten tromboksan ve prostaglandin yapımında görev alan, birçok inflammatuar hastalıkla özellikle de akciğer hasarıyla ilişkili olan prostoglandin H sentaz enzimidir (79). COX-2, COX' ın indüklenebilir bir izoformudur ve inflamasyon süresince artan düzeylerde olduğu bulunmuştur (10). COX-2' nin akciğer hasarında inflammatuar immun cevapta artış yaptığı gösterilmiştir (11). COX-2' nin farmakolojik inhibisyonu proinflammatuar sitokin ve kemokinlerde azalma yaparak ARDS' ye karşı koruyucu etkinliği kanıtlanmıştır (12).

Türkdoğan ve arkadaşları karbon tetraklorüre (CCl_4) bağlı hepatotoksistide *thymoquinone*' un etkinliğini incelemiş ve önemli ölçüde CCl_4 ' un zararlı etkilerinden karaciğeri koruduğu ve sıçanlarda karaciğer fibrozunu önlediğini bulmuşlardır (78).

Lipopolisakkarit (LPS) bakteri dış membranı içinde yer almaktadır. LPS' nin lipid A kısmı bakteri duvarına ağırlıklı olarak lipofilik lipid A bölgesi ile kovalent bağlı hidrofilik poli ve oligosakkarit kısımdan tutunmayı sağlamakta olup, bütün Gram negatif bakterilerde ortaktır. Lipopolisakkaritler, oluşan oldukça ısıya dayanıklı amfilik moleküllerdir (80).Yapısındaki endotoksinin lipid A bölümü, lipopolisakkaritin toksisitesinden sorumludur.

Çalışmamızda lipopolisakkarit ile indüklemek koşuluyla ALI/ARDS modeli oluşturuldu ve bu modelde *thymoquinone*' un etkinliği araştırıldı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM:

3.1. MATERYAL ve METOD:

Çalışma DEÜTF Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra DEÜ Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı' nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 6-8 haftalık 20-32 gr ağırlığındaki, 28 adet BALB/C türü erkek fareler kullanıldı (Resim 1). Fareler araştırma başlangıcına kadar oda sıcaklığında (21-22°C), % 40-60 nisbi nemde, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutulup, standart pellet yem ve su ile beslendi. Herhangi bir yem ve su kısıtlamasına gidilmedi. Fareler, her grupta 7' şer adet olmak üzere toplamda dört gruba ayrıldı.

Resim 1: BALB/C türü erkek fareler



Çalışmamızda akut akciğer hasarı oluşturmak için Shirley ve arkadaşları tarafından kullanılan Murine modeli uygulandı. Lipopolisakkarit ile indüklenerek ALI/ARDS modeli oluşturuldu (81).

Tüm gruplardaki farelerde anestezi intraperitoneal (ip) 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile sağlandı. Gerektiğinde farelerin anestezi derinliğini sabit tutmak için idame ketamin (yarı dozda, 25 mg/kg) refleks yanıtla (pensetle ayağa ağırlı uyaran verilmesi-pedal refleks, palpebral ve korneal refleksler) bakılarak tekrarlandı.

Tüm fareler anestezi uygulamasından sonra supin pozisyonda operasyon masasına sabitlendi (Resim 2). Trakeaları diseke edildi. Fareleri hipotermiden korumak için çalışma süresince operasyon masası ısıtıcı bir lamba ile ısıtıldı. Bekleme süreleri boyunca trakea sütüre edilerek kapatıldı (Resim 3).

Resim 2: Supin pozisyonda operasyon masasına sabitleme



Resim 3: Disseke edilen trakeaların bekleme süresinde sütürasyonu



Grup I (n=7); İntratrakeal ve intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı.

Grup II (n=7); İntraperitoneal 3 mg/kg *thymoquinone*, intratrakeal serum fizyolojik uygulandı.

Grup III (n=7); İntratrakeal 5 mg/kg lipopolisakkarit ve intraperitoneal serum fizyolojik uygulandı.

Grup IV (n=7); İntratrakeal 5 mg/kg lipopolisakkarit ve intraperitoneal 3 mg/kg *thymoquinone* uygulandı.

Thymoquinone' un intraperitoneal injeksiyonu, lipopolisakkarit uygulamasından 1 saat önce yapıldı. Lipopolisakkarit uygulamasından 6 saat sonra doku örnekleri alındı (82). Akciğerler çıkarıldıktan sonra fareler sakrifiye edildi.

Doku örnekleri %4' lük nötral tamponlu formalinde 24 saat fiks edildi. Rutin doku takip işlemi sonrası hazırlanan parafin bloklardan 4µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen- Eozin ile boyandı.

Işık mikroskobu ile incelenen örneklerde “**İNTRAARTERİYEL TROMBÜS, NÖTROFİL, İNTRAALVEOLER HEMORAJİ, ALVEOLER YIKIM, İNTERSTİSYEL ÖDEM ve HYALEN MEMBRAN**” yönünden değerlendirme yapıldı. Değerlendirmede bulgu yok ise (-), bulgu var ise kendi içinde hafif (+), orta (++), şiddetli (+++) olarak derecelendirildi. Derecelendirme Shields tarafından açıklandığı gibi akciğer hasarı semi-kantitatif skorlama sistemi ile yapılmıştır (83). Bu semi-kantitatif skorlama sisteminde 0, değişiklik yok; 1+, fokal hafif değişiklikler; 2+, multifokal ılımlı değişiklikler; 3+, yaygın ciddi değişiklikler olarak düzenlenmiştir. Değerlendirmeyi yapan patolog, çalışma grupları hakkında bilgilendirildi.

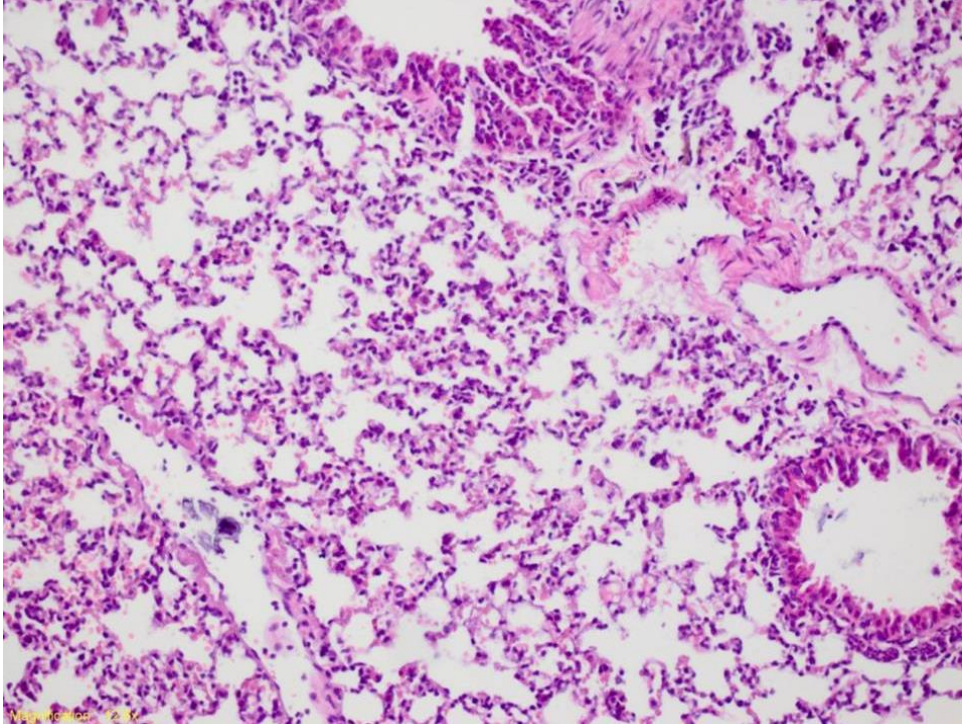
3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ:

Çalışma sürecinde elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin analizinde ortalama, ortanca, standart deviasyon ve minimum maksimum değerler uygun olduğu ölçüde kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanılarak, tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma (ort $\pm$ ss) olarak gösterilmiştir. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

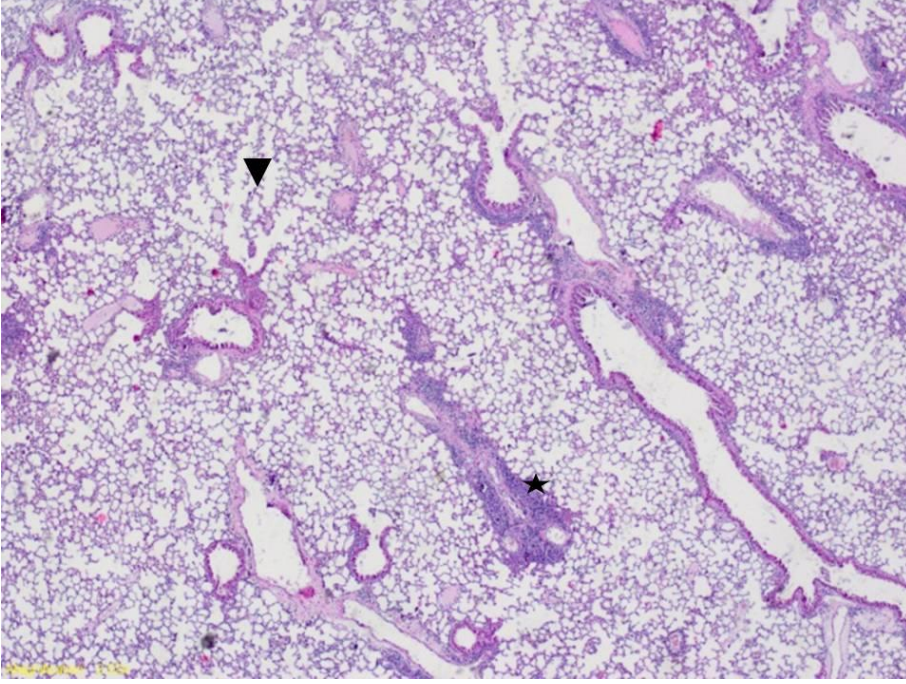
4. BULGULAR:

Her grupta yedişer tane olmak üzere toplamda 28 farenin akciğer doku kesitleri intraarteriyel trombüs, nötrofil göçü, intraalveoler hemoraji, alveoler yıkım, interstisyel ödem ve hyalen membran bulguları açısından değerlendirildi (Resim 4-5-6-7).

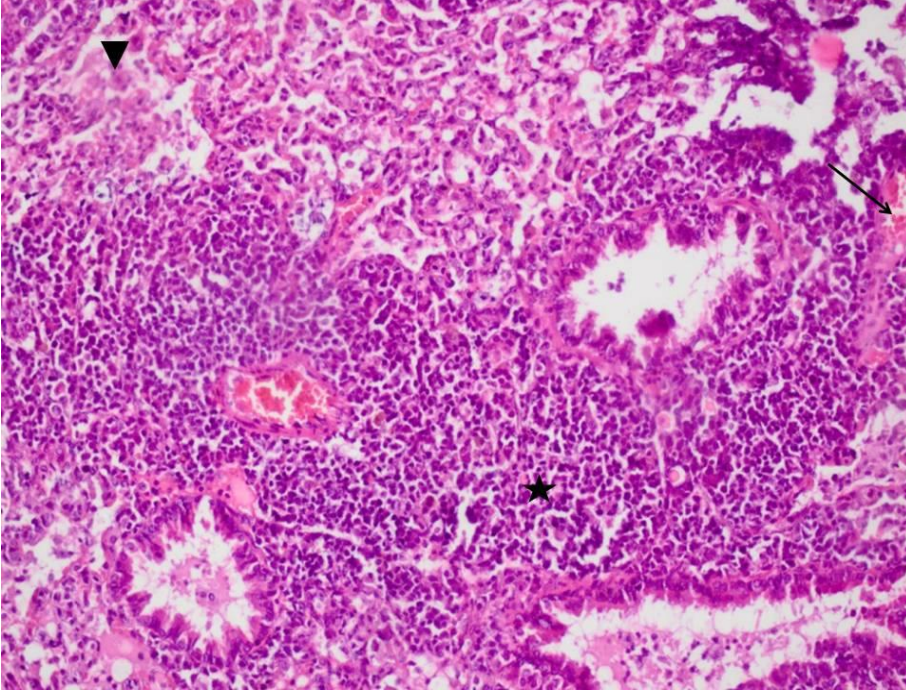
Resim 4: Grup I normal akciğer dokusu (HE, x100)



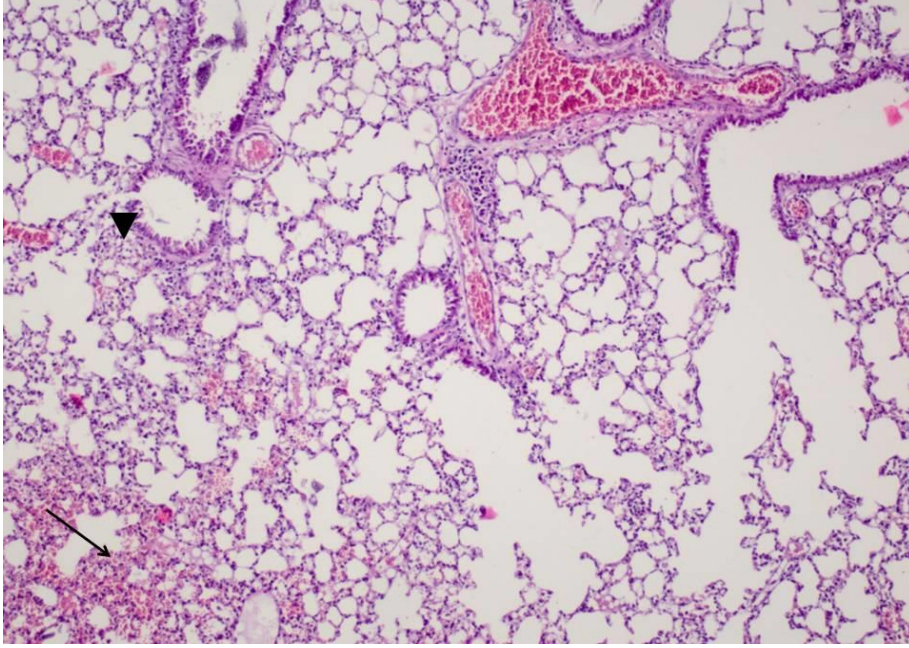
Resim 5: Grup II akciğer alveoler dokuda hafif hasarlanma (okbaşı), peribronşial alanda BALT doku artışı (yıldız), fokal nötrofilik infiltrasyon bulguları (HE, x40)



Resim 6: Grup III nötrofilleri de içeren çok yoğun miks inflamasyon (yıldız), intraalveoler hemoraji (ok), alveoler yıkım ve ödem bulguları (okbaşı) (HE, x200)



Resim 7: Grup IV fokal alveoler hemoraji (ok), fokal hafif ödem bulguları (okbaşı) (HE, x100)



Tüm gruplar histopatolojik açıdan değerlendirildi (Tablo 6).

Hiçbir grupta hyalen membran oluşumu görülmedi.

Tablo 6: Tüm çalışma gruplarında saptanan patoloji sonuçları

	İntrarteryel trombus n (%)	Nötrofil göçü n (%)	İntraalveoler hemoraji n (%)	Alveoler yıkım n (%)	İnterstisyel ödem n(%)	Hyalin membranlar n(%)
Grup 1	0 (0)	3 (42)	3 (42)	3 (42)	0 (0)	0 (0)
Grup 2	0 (0)	7 (100)	4 (57)	7 (100)	1 (14)	0 (0)
Grup 3	1 (14)	6 (85)	7 (100)	7 (100)	2 (28)	0 (0)
Grup 4	0 (0)	6 (85)	2 (28)	3 (42)	1 (14)	0 (0)

Tüm grupların histopatolojik incelemeleri derecelendirildi (Tablo 7).

Tablo 7: Histopatolojik incelemelerin derecelendirilmesi

	Nötrofil göçü n (%)	İntraalveoler hemoraji n (%)	Alveoler yıkım n(%)
Grup 1	3 (42)	3 (42)	3 (42)
Hafif	3 (42)	3 (42)	3 (42)
Orta	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Şiddetli	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Grup 2	7 (100)	4 (57)	7 (100)
Hafif	7 (100)	3 (42)	6 (85)
Orta	0 (0)	1 (15)	1 (15)
Şiddetli	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Grup 3	6 (85)	7 (100)	7 (100)
Hafif	3 (42)	2 (71)	0 (0)
Orta	2 (28)	5 (29)	4 (57)
Şiddetli	1 (14)	0 (0)	3 (43)
Grup 4	6 (85)	2 (28)	3 (42)
Hafif	6 (85)	2 (28)	3 (42)
Orta	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Şiddetli	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Grup I' de; intraarteryel trombüs, interstisyel ödem ve hyalen membran oluşumu saptanmazken, diğer bakılan tüm parametreler hafif derecede saptandı. Ortalama dereceleri nötrofil göçünde 0.43, intraalveoler hemorajide 0.43, alveoler yıkımda 0.43 olarak saptandı.

Grup II' de nötrofil göçü tüm vakalarda hafif derecede saptandı. İntraalveoler hemoraji vakaların yarıya yakınında hafif derecede saptandı. Alveoler yıkım vakaların tama yakınında hafif derecede saptandı. İntraarteryel trombüs ve hyalen membran oluşumu hiç bir vakada

saptanmadı. Ortalama dereceleri nötrofil göçünde 1, intraalveoler hemorajide 0.71, alveoler yıkımda 1.14, intersitisyel ödemde 0.14 olarak saptandı.

Grup III' de; nötrofil göçü, intraalveoler hemoraji, alveoler yıkım derecelerinde Grup I ve Grup 2' ye göre artış saptandı. Hyalen membran oluşumu hiç bir vakada saptanmadı. Ortalama dereceleri nötrofil göçünde 1.43, intraalveoler hemorajide 1.71, alveoler yıkımda 1.71, interstisyel ödem 0.29 olarak saptandı.

Grup IV' de; nötrofil göçü, intraalveoler hemoraji, alveoler yıkım derecelerinde Grup III' e göre azalma saptandı. Hyalen membran oluşumu ve intraarteriyel trombüs hiç bir vakada saptanmadı. Ortalama dereceleri nötrofil göçünde 0.86, intraalveoler hemorajide 0.29, alveoler yıkımda 0.43, intersitisyel ödem 0.14 olarak saptandı.

Çalışmamızın tüm grupları karşılaştırıldığında; nötrofil göçü derecesi ($p=0.042$), intraalveoler hemoraji derecesi ($p=0.004$) ve alveoler yıkım derecesi ($p=0.000$) açısından gruplar arasında anlamlı fark bulundu.

5. TARTIŞMA

Asbaugh ve arkadaşları 1967' de ilk kez, ARDS' yi akut başlayan, klinik olarak takipne, dispne, oksijen tedavisine dirençli hipoksi ve sol kalp yetersizliği bulguları olmayan, akciğer kompliyansında azalma, akciğer radyografisinde diffüz bilateral infiltrasyonlar ile karakterize bir sendrom olarak tanımladılar. Histopatolojik olarak ise akciğerlerde ödem, atelektazi, inflamasyon, vasküler konjesyon ve kanamalar, hyalen membranlar ile fibrozis olduğu belirtilmiştir (1). ALI, vasküler geçirgenlik artışıyla seyreden akut ve yaygın akciğer inflamasyonu olmakla birlikte, her zaman ARDS'ye dönüşmesi beklenemez. Sözü edilen bulgular ile birlikte oksijenizasyon oranının (PaO_2/FiO_2) ≤ 300 olan durumlar ALI, $PaO_2/FiO_2 \leq 200$ ARDS olarak tanımlandı (2).

Biz de çalışmamızda örneklerde intraarteriyel trombüs, nötrofil, intraalveoler hemoraji, alveoler yıkım, interstisyel ödem ve hyalen membran yönünden değerlendirme yaptık.

Alveoler kapiller membran bütünlüğünün bozulması, fazla miktarda transepitelyal nötrofil göçü ve proinflatuar, sitotoksik medyatörler, anti inflamatuvar sitokinler, proteazlar ve oksidanların salınımı akut akciğer hasarının hücresel karakteristiğidir (3,34,35). Aktif hale gelen nötrofiller, oksidan ve proteolitik enzimleri serbestleştirir. Bunlar da bazal membran ve epitelyum hücrelerini hasara uğrattır (38,39). Proliferatif fazda nötrofiller akciğer intertisyumuna yerleşir ve kemotaksise neden olan mediyatörleri salarlar (32). Bizim çalışmamızda da LPS ile indüklenerek ARDS oluşturulan grupta nötrofil göçünde artış gözlemlendi.

Yaygın alveoler hasarın eksudatif fazında endotelyal hücrelerin şişmesi, endotel arası bağlantılarda genişleme gibi endotelyal hasarın bulguları vardır. Ciddi endotelyal hasar bulguları hücresel nekroz ve bozulma, kapiller bazal membranın soyulması ve intravasküler fibrin depolanmasıdır (84). Proliferatif faz alveol yapısının progressif obliterasyonuna neden olur ve alveol yüzeyini granülasyon dokusu ile doldurur. Efektif gaz değişimi önlenir, alveolo-kapiller membranın fibrotik yapılanması meydana gelir (85). Bizim çalışmamızda da ARDS oluşturulan grupta alveoler yıkım ve hemoraji gözlemlendi.

Thymoquinone, araşidonat metabolizmasında siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yollarını inhibe eder. Tromboksan B2 ve lökotrien B4 oluşumunu doza bağlı inhibe ederek etki ettiği gösterilmiştir (14). Siklooksijenaz-2, COX' ın indüklenebilir bir izoformudur ve inflamasyon süresince artan düzeylerde olduğu bulunmuştur (10). COX-2' nin akciğer hasarında inflamatuvar immun cevapta artış yaptığı gösterilmiştir (11). COX-2' nin farmakolojik inhibisyonu proinflatuar sitokin ve kemokinlerde azalma yaparak ARDS' ye karşı koruyucu etkinliği kanıtlanmıştır (12). *Thymoquinone*' un da COX inhibisyonu yaparak ALI/ARDS tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda LPS ile indüklenerek oluşturulan ALI/ARDS modelinde *thymoquinone*' un etkili olabileceğini düşündük. *Thymoquinone* uygulanan grupta akut akciğer hasarının histopatolojik olarak gerilediğini gösterdik.

Işık ve arkadaşları ratlarda insan mide suyu kullanımı ile deneysel ALI/ARDS modeli oluşturmuş ve bu modelde *thymoquinone*' un etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada elde edilen akciğer dokuları histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Histopatolojik bulgular ALI/ARDS oluşturulan ve *thymoquinone* uygulanan grupta anlamlı derecede farklı saptanmış. *Thymoquinone* ile tedavi edilen grupta alveol içi kanama, nötrofil göçü ve interstisyel ödem daha az düzeyde izlenmiş (86).

Kanter ratlarda kronik tolüen maruziyeti ile deneysel akciğer hasarı oluşturmuş ve bu modelde *thymoquinone*' un etkilerini incelemiştir. Çalışmada elde edilen akciğer dokuları histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Histopatolojik bulgular akciğer hasarı oluşturulan ve *thymoquinone* uygulanan grupta anlamlı derecede farklı saptanmıştır. Çalışmada *thymoquinone* ile tedavi edilen grupta peribronşiyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler septal infiltrasyon, alveoler ödem, alveoler eksüda, interstisyel fibrozis ve nekroz oluşumunun azaldığı, inflamatuvar akciğer yanıtlarının inhibe olduğu gösterilmiştir (87).

Suddek ve arkadaşları ratlarda siklofosfamid ile deneysel akciğer hasarı oluşturmuş ve bu modelde *thymoquinone*' un etkilerini incelemişler. Çalışmada elde edilen akciğer dokuları histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Histopatolojik bulgular akciğer hasarı oluşturulan ve *thymoquinone* uygulanan grupta anlamlı derecede farklı saptanmıştır. Çalışmada *thymoquinone* ile tedavi edilen grupta intralobuler nekrozun ve akciğer inflamatuvar infiltrasyonunun minimal düzeyde olduğu akciğer hasarı gözlenmiştir (88).

Bizim çalışmamızda ise lipopolisakkarit ile indüklemek koşuluyla ALI/ARDS modeli oluşturuldu. Yaptığımız çalışmada histopatolojik bulgular akut akciğer hasarı oluşturulan ve *thymoquinone* uygulanan grupta anlamlı derecede farklı saptandı. *Thymoquinone* uygulanan grupta intraalveoler hemoraji, alveoler yıkım ve nötrofil göçü daha az düzeyde izlendi.

Biz, deneysel olarak yapılan akut akciğer hasarında *thymoquinone* uygulamasının iyileşmeyi sağlayabileceği sonucuna vardık. Bu etkisini antiinflamatuvar özellikleri sayesinde yaptığını düşünmekteyiz. Çalışmamız antiinflamatuvar etkisini destekler niteliktedir. Araşidonat metabolizmasında siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yollarının inhibe olması ile lökotrien, tromboksan ve prostaglandinlerin oluşumu inhibe olmaktadır. Lökotrien oluşumunun azalması ile nötrofil kemotaksisi, vazokonstriksiyon, bronkospazm ve vasküler permeabilitede azalma sağlanmaktadır. Nötrofil kemotaksinin azalması ile inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma olmaktadır. Bununla birlikte nötrofillerden salgılanan serin proteazlar, oksidanlar ve matriks metalloproteinazlar azalma göstermektedir ki, böylelikle doku hasarının oluşumu engellenmektedir.

Tromboksan oluşumunun azalması ile vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonunda azalma sağlanmaktadır. Bu etkiler sonucunda perfüzyon bozukluğu ve prokoagulan etkilerin gerilediğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda daha az olmakla birlikte Grup I ve II' de de alveoler yıkım, nötrofil göçü ve intraalveoler hemoraji görülmüş olup bunun intratrakeal enjeksiyon uygulamasının oluşturduğu travmaya bağlı olduğunu öngörmekteyiz.

Sonuç olarak, çalışmamızda akut akciğer hasarında *thymoquinone*' un nötrofil göçü, intraalveoler hemoraji ve alveoler yıkımı azalttığını gösterdik. Bu sayede akciğer hasarının azaltılabileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışma, *thymoquinone*' un lipopolisakkarit ile indüklenmiş akut akciğer hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Gelecekte insan çalışmaları açısından da bu ajanın kullanımının değerlendirilmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 1967;2:319-23.
2. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, ve ark. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818-24.
3. L.B. Ware, M.A. Matthay. The acute respiratory distress syndrome, *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1334–1349
4. Shapiro BA, Peruzzi WT. Changing practices in ventilator management: A review of literature and suggested clinical correlations. *Surgery* 1995; 117: 121- 33.
5. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, ve ark. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005;353:1685-93.
6. Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, ve ark. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:293-301. [CrossRef]
7. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, ve ark. Report of the American-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination. The Consensus Committee. *Intensive Care Med.* 1994;20(3):225-32.
8. Agarwal S, Reddy GV, Reddanna P. Eicosanoids in inflammation and cancer: the role of COX-2. *Expert Rev Clin Immunol.* 2009;5:145–65.
9. Gilani A, Aziz N, Khurram I, Chaudhary K, ve ark. Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J Pak Med Assoc* 2001;51:115–20.
10. Zhang LN, Zheng JJ, Zhang L, ve ark. Protective effects of asiaticoside on septic lung injury in mice. *Exp Toxicol Pathol* 2011;63:519.

11. Jakubowski A, Maksimovich N, Olszanecki R, ve ark. S-nitroso human serum albumin given after LPS challenge reduces acute lung injury and prolongs survival in a rat model of endotoxemia. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2009;379:281.
12. Sio SW, Ang SF, Lu J, Moolchala S, ve ark. Substance P upregulates cyclooxygenase-2 and prostaglandin E metabolite by activating ERK1/2 and NF-kappaB in a mouse model of burn-induced remote acute lung injury. *J Immunol* 2010;185:6265.
13. El Thair KEH, Ashour MMS, Al-Harbi MM. The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *Gen Pharmacol* 1993;24:1115–22.
14. Al-Gahmadi MS. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J Ethnopharmacol* 2001;76:45–8.
15. El Tahir KEH, Ashour MMS, Al-Harbi MM. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elucidation of the mechanism of action. *Gen Pharmacol* 1993;24:1123–31.
16. Aboul-Ela EI. Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat Res* 2002;516:11–17.
17. Ferguson ND, Frutos-Vivar F, Esteban A, Fernandez-Segoviano P, ve ark. Acute respiratory distress syndrome: underrecognition by clinicians and diagnostic accuracy of three clinical definitions. *Crit Care Med* 2005;33:2228-34.
18. http://www.esicm.org/07-congresses/0A-annual-congress/web_Tv_ranieri.asp
19. Phua J, Badia JR, Adhikari NK, Friedrich JO, ve ark. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time?: A systematic review. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009; 179(3): 220-7. Epub 2008 Nov 14.

20. Flick MR. Pulmonary edema and acute lung injury. In: Murray JF, Nadel JA (eds). Textbook of Respiratory Medicine. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:1725-1777.
21. Raghavendran K, Pryhuber GS, Chess PR, Davidson BA, Knight PR, Noter RH. Pharmacotherapy of Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome. Curr Med Chem. 2008; 15(19):1911–1924.
22. Johnson ER, Matthay MA. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. Journal Of Aerosol Medicine And Pulmonary Drug Delivery 2010; 23(4):243-252.
23. Raghavendran K, Napolitano LM. ALI and ARDS: Challenges and Advances. Crit Care Clin 2011; 27. doi:10.1016/j.ccc.2011.05.012.
24. Villar J, Blanco J, Anon JM, Santos-Bouza A, ve ark; ALIEN Network. The ALIEN study: incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in the era of lung protective ventilation. Intensive Care Med 2011;37:1932-41.
25. Gursel G: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu. Yoğun Bakım Dergisi 2002; 2(2): 96 107
26. Gullo A. Anesthesia, Pain, Intensive Care and Emergency, New York: Springer Verlag. 2008 Sayfa: 29
27. Johnson ER, Matthay MA: Acute lung injury: epidemiology, pathogenesis, and treatment. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv. 2010; 23(4): 243-52.
28. Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, ve ark. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrapulmonary disease. Different syndromes? Am J Respir Crit Care Med 1998;158:3–11.
29. Pelosi P, D'Onofrio D, Chiumello D, ve ark. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome are different. Eur Respir J Suppl 2003; 42:48S–56S.

30. J. Pugin, G. Verghese, M.C. Widmer, ve ark. The alveolar space is the site of intense inflammatory and profibrotic reactions in the early phase of acute respiratory distress syndrome, *Crit. Care Med.* 1999; 27:304–312.
31. Rocco PR, Dos Santos C, Pelosi P. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome. *Minerva Anesthesiol.* 2009;75(12):730-40.
32. Tomashefski JF Jr. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 2000; 21(3):435–466
33. Jain R, DalNogare A. Pharmacological therapy for acute respiratory distress syndrome. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(2):205-12.
34. Ichikado K, Suga M, GushimaY, ve ark. Hyperoxia-induced diffuse alveolar damage in pigs: correlationbetween thin-section CT and histopathologic findings. *Radiology* 2000; 216(2):531–538.
35. Matthay MA, Zimmerman GA. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: four decades of inquiry into pathogenesis and rational management. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005;33(4):319-27.
36. Weinacker AB, Vaszar LT. Acute respiratory distress syndrome: physiology and new management strategies. *Annu Rev Med.* 2001;52:221-37.
37. Bellingan GJ. The pulmonary physician in critical care 6: The pathogenesis of ALI/ARDS. *Thorax.* 2002;57(6):540-6.
38. Ginzberg HH, Cherapanov V, Dong Q, Cantin A, ve ark. Neutrophil-mediated epithelial injury during transmigration: role of elastase. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281(3):G705-17.
39. Matute-Bello G, Martin TR. Science review: apoptosis in acute lung injury. *Crit Care.* 2003;7(5):355-8.

40. Stanley MW, Henry-Stanley MJ, Gajl-Peczalska KJ, ve ark. Hyperplasia of type II pneumocytes in acute lung injury. Cytologic findings of sequential bronchoalveolar lavage. *Am J Clin Pathol* 1992; 97(5):669–677.
41. Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y, ve ark. The role of intraalveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodeling in patients with diffuse alveolar damage. *Am J Pathol* 1987; 126(1):171–182.
42. Henke C, Marineili W, Jessurun J, Fox J ve ark. Macrophage production of basic fibroblast growth factor in the fibroproliferative disorder of alveolar fibrosis after lung injury. *Am J Pathol.* 1993;143(4):1189-99.
43. Madtes DK, Rubenfeld G, Klima LD, Milberg JA ve ark. Elevated transforming growth factor-alpha levels in bronchoalveolar lavage fluid of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158(2):424-30.
44. Fukuda Y, Ferrans VJ, Schoenberger CI, ve ark. Patterns of pulmonary structural remodeling after experimental paraquat toxicity. The morphogenesis of intraalveolar fibrosis. *Am J Pathol* 1985; 118(3):452–475.
45. Takahashi T, Takahashi Y and Nio M. Remodeling of the alveolar structure in the paraquat lung of humans: a morphometric study. *Hum Pathol* 1994; 25(7):702–708.
46. Kobashi Y, Manabe T. The fibrosing process in so-called organized diffuse alveolar damage. An immunohistochemical study of the change from hyaline membrane to membranous fibrosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1993; 422(1):47-52.
47. Hayashi T, Stetler-Stevenson WG, Fleming MV, ve ark. Immunohistochemical study of metalloproteinases and their tissue inhibitors in the lungs of patients with diffuse alveolar damage and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 1996; 149(4):1241–1256.

48. Rozin GF, Gomes MM, Parra ER, ve ark. Collagen and elastic system in the remodelling process of major types of idiopathic interstitial pneumonias (IIP). *Histopathology* 2005; 46(4):413–421.
49. Homma S, Jones R, Qvist J, ve ark. Pulmonary vascular lesions in the adult respiratory distress syndrome caused by inhalation of zinc chloride smoke: a morphometric study. *Hum Pathol* 1992; 23(1):45–50.
50. Tomashefski JF Jr, Davies P, Boggis C, ve ark. The pulmonary vascular lesions of the adult respiratory distress syndrome. *Am J Pathol* 1983; 112(1):112–126.
51. Galani V, Tatsaki E, Bai M, Kitsoulis P, ve ark. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): An up-to-date cell-specific review. *Pathol Res Pract.* 2010;206(3):145-50.
52. Foner BJ, Norwood SH, Taylor RW. The acute respiratory distress syndrome. Eds: Civetta JM, Taylor RW, Kirby ER. *Critical Care. Third Edition*, Lippincott-Raven, Philadelphia-New York, USA, 1997; 1825- 39.
53. Redding GJ. ARDS in pediatric patient In: Chernick V. Boat TF, Kendig EL (eds) *Disorders of the Respiratory Tract in Children* (6th ed). Philadelphia: WB Saunders, 1998: 641-653
54. Dakin J, Griffiths M. The pulmonary physician in critical care 1: Pulmonary investigations for acute respiratory failure. *Thorax* 2002; 57: 79-85
55. Tagliabu M, Casella TC, Zincone GE, Fimagalli R, ve ark. CT and chest radiography in the evaluation of adult respiratory distress syndrome. *Acta Radiol* 1994; 35: 230-234.
56. Artigas A, Bernard GR, Carlet J, Dreyfuss D, ve ark. American-European Consensus Conference on ARDS, part 2: Ventilatory, pharmacologic, supportive therapy, study design strategies and issues related to recovery and remodelling. *Acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1332- 47.

57. Tana Aslan A, Doğru D, Özçelik U, Akut respiratuar distress sendromu. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.2004; 47:209-221
58. Vieira SR, Puybasset L, Lu Q, ve ark. A scanographic assesment of pulmonary morphology in acute lung injury. Significance of the lower inflection point detected on the lung pressure-volume curve. Am J Respir Crit Care Med 1999; 159: 1613- 23.
59. Harper's Biochemistry, published by Appleton and Lange, 21'th edition,1998: 540- 47.
60. Hall JB, Schmidt GA, Wood LDH. Principles of Critical Care. 3. Baskı, USA: McGraw-Hill Companies, 2005. Sayfa: 518,
61. Blank R, Napolitano LM: Epidemiology of ARDS and ALI. Crit Care Clin. 2011;27(3):439-58.
62. Villar J, and Slutsky AS: The incidence of the adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis. 1989;140(3): 814–816.
63. Fowler AA, Hamman RF, Good JT, Benson KN, ve ark. Adult respiratory distress syndrome: risk with common predispositions. Ann Intern Med. 1983; 98 (5 part 1): 593–597.
64. Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP, Hudson LD: Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983–1993. JAMA. 1995; 273(4): 306–309.
65. Erickson SE, Martin GS, Davis JL, Matthay MA, ve ark: Recent trends in acute lung injury mortality: 1996–2005. Crit Care Med. 2009; 37(5): 1574–1579.
66. Seeley E, McAuley DF, Eisner M, Miletin M, ve ark: Predictors of mortality in acute lung injury during the era of lung protective ventilation. Thorax. 2008; 63(11): 994–998.
67. Zambon M, ve Vincent JL: Mortality rates for patients with acute lung injury=ARDS have decreased over time. Chest. 2008; 133(5): 1120–1127.

68. Randolph AG, Forbes PW, Gedeit RG, ve ark. Cumulative fluid intake minus output is not associated with ventilator weaning duration or extubation outcomes in children. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6:642–7.
69. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, ve ark. Canadian Critical Care Clinical Practice Guidelines Committee. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2003;27:355–73.
70. Stewart TE, Meade MO, Cook DJ, ve ark. Evaluation of a ventilation strategy to prevent barotrauma in patients at high risk for acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998, 338(6):355-3561
71. Acute Respiratory Distress Syndrome Network (ARDSNet). Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342(18):1301-1308
72. Cordingley JJ, Keogh BF. The pulmonary physician in critical care8: Ventilatory managment of ALI/ARDS. *Thorax* 2002; 57: 729-734.
73. Ranieri VM, Eissa NT, Corbeil C, ve ark. Effects of positive end-expiratory pressure on alveoler recruitment and gas Exchange in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 544-551.
74. Puybasset L, Gusman P, Muller JC, Cluzel P, ve ark. Regional distribution of gas and tissue in acute respiratory distress syndrome III. Consequences fort he effects of positive end-expiratory pressure. CT Scan ARDS Study Group. *Adult Respiratory Distress Syndrome. Intensive Care Med* 2000; 26: 1215-1227.
75. Saharan S, Lodha R, Kumar Kabra S. Management of Acute Lung Injury/ARDS Indian J *Pediatr* (2010) 77:1296–1302

75. Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, ve ark. Comparison of two fluidmanagement strategies in acute lung injury. *N Engl J Med* 2006; 354: 2564-75.
77. Altıntaş ND, Topeli Aİ. Akut solunum sıkıntısı sendromu tanısı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2009; 57(2): 228-236
78. Türkdoğan MK,Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, ve ark. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride- induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* 2003;17:942–6.
79. Fukunaga K, Kohli P, Bonnans C, Fredenburgh LE, ve ark. Cyclooxygenase plays a pivotal role in the resolution of acute lung injury. *J Immunol* 2005;174:5033.
80. Alexander C., Rietschel E.T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity, *J Endotoxin Res*, 2001, 7, 3, 167-202 p.
81. Shirley H. J. Mei, Sarah D. McCarter, ve ark. Prevention of LPS-Induced Acute Lung Injuryin Mice by Mesenchymal Stem Cells Overexpressing Angiopoietin 1. *PLoS Med.* 2007;4:e-269
82. Kalemci S, Zeybek A, Intepe YS, Uner AG ve ark. Methyl palmitate attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Clin Ter.* 2013;164(6):e453-9
83. Shields CJ, Winter DC, Manning BJ, et al. Hypertonic saline perfusion for pulmonary injury due to ischemia-reperfusion. *Arch Surg* 2003;138:9.
84. Tomashefski JF. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 2000; 21:435- 66.
85. Foner BJ, Norwood SH, Taylor RW. The acute respiratory distress syndrome.Eds: Civetta JM, Taylor RW, Kirby ER. *Critical Care. Third Edition*, Lippincott-Raven, Philadelphia-New York, USA, 1997; 1825- 39.

86. Işık AF, Kati I, Bayram I. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005 Aug;28(2):301-5.
87. Kanter M. Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health*. 2011 Jun;27(5):387-95.
88. Ghada M. Suddek, Nora A. Ashry, Nariman M. Gameil. Thymoquinone attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury in rats. *Inflammopharmacol* (2013) 21:427–435