



**PİNEALEKTOMİ VE EKSOJEN MELATONİNİN
SIÇANLARDA α -NAFTİLTİYOÜRE TARAFINDAN
İNDÜKLENEN PULMONER ÖDEM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI

**2022
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA**

**Tez Danışmanı
DR. Öğr. Üyesi MEHMET DEMİR**

**PİNEALEKTOMİ VE EKSOJEN MELATONİNİN SIÇANLARDA α -
NAFTİLTİYÖRE TARAFINDAN İNDÜKLENEN PULMONER ÖDEM
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI

**T.C.
Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR**

**KARABÜK
Ocak 2022**

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI tarafından hazırlanan “PİNEALEKTOMİ VE EKSOJEN MELATONİNİN SIÇANLARDA α -NAFTİLTİYOÜRE TARAFINDAN İNDÜKLENEN PULMONER ÖDEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR

.....

Tez Danışmanı, Fizyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 26/ 01 /2022

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Prof. Dr. Ramazan AMANVERMEZ (OMÜ)

.....

Üye : Prof. Dr. Eyüp ALTINÖZ (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR (KBÜ)

.....

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Hasan SOLMAZ

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PİNEALEKTOMİ VE EKSOJEN MELATONİNİN SIÇANLARDA α - NAFTİLTİYOÖRE TARAFINDAN İNDÜKLENEN PULMONER ÖDEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI

Karabük Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Dr. Öğretim Üyesi Mehmet DEMİR

Ocak 2022, 82 sayfa

Akciğer ödemi, sıklıkla akut solunum yetmezliğine yol açan, yaygın klinik bir durumdur. Bu durum genellikle artmış sempatik sinir sistemi aktivitesi sonucu görülen pulmoner vazokonstriksiyon ile ilişkilidir. Pulmoner vasküler basınçlardaki ve pulmoner kan hacmindeki belirgin artışlar, artan pulmoner kapiller basıncın hidrostatik etkisi nedeniyle pulmoner ödem üretir. Fizyolojik olarak alveolar-kapiller membran, optimum gaz değişimi sağlarken, alveolar boşlukta sıvı birikimini önleyerek ve çözünen büyük maddelerin difüzyonunu sınırlandırarak bir bariyer görevi görmektedir. Alveolar sıvı absorpsiyonu ve sekresyonu arasındaki denge, alveolar boşlukta optimal gaz değişimini sürdürmek için kritik bir öneme sahiptir. Akciğer ödeminde alveolar-kapiller bariyerin geçirgenliğindeki artmanın sonucu protein bakımından zengin sıvının interstisyum ve alveolar boşluklara geçişi söz konusudur.

Plevral boşlukta anormal miktarda plevral sıvı birikmesi plevral efüzyon, olarak tanımlanmaktadır ve bu durum çeşitli mekanizma ve hastalıkların neden olduğu yaygın bir sorundur. Hemen hemen her akciğer hastalığı ve akciğer dışı hastalıkların çoğu plevral efüzyonla ilişkili olabilir. Plevral efüzyon, özellikle solunum sistemini tehlikeye atan yaşa bağlı normal değişiklikler göz önüne alındığında, solunum sistemi üzerinde önemli etkiler yaratır. Özellikle pulmoner gaz değişimini yetersiz hale getirir, ancak sıvı hacmiyle orantılı olarak pulmoner fonksiyonda kısıtlayıcı değişikliklere neden olur ve akciğer kompliyansını azaltır.

Alfa-naftiltiyöre (ANTU), rodendisit olarak geliştirilmiş kimyasal bir ajan olup doza bağlı bir şekilde özellikle kapiller endotel hücreleri hedef almaktadır. Yapılan çalışmalarda ANTU' nun yetişkin sıçanlarda pulmoner vasküler geçirgenliği arttırdığı bunun yanında akut pulmoner ödem ve plevral efüzyona neden olduğu gösterilmiştir. ANTU' nun pulmoner toksisitesi ve pulmoner vasküler geçirgenlik artışına yol açması ANTU' yu sıçanlarda birçok morfolojik çalışmada kullanılmak için akciğer ödeminin yaygın bir modeli haline getirmektedir. Standart deney modelinde sıçanlara intraperitoneal olarak ANTU uygulandığında 4 saat içinde akciğer ödemi ve plevral efüzyon ciddi düzeylere ulaşmaktadır. Oluşan ödem 24-48 saat içinde ya tamamen iyileşebilmektedir ya da durum giderek kötüleşerek ölüm ile sonuçlanabilmektedir.

ANTU pnömotoksitesinde, reaktif oksijen radikallerinin rol oynadığı gösterilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS), endojen kaynaklı normal oksijen metabolizmasının doğal bir yan ürünü olarak oluşabildiği gibi eksojen bir uyarana bağlı olarak da ortaya çıkan son derece reaktif moleküllerdir. Endojen olarak oluşan ROS (hidrojen peroksit, süperoksit anyon, hidroksil radikali), hücre homeostazında önemli rollere sahiptir. Aşırı üretildiğinde veya antioksidan seviyeleri ciddi şekilde tükendiğinde bu reaktif türler hücrenin lipid, protein ve DNA' sına saldırarak oksidatif hasara sebep olurlar. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve ferrokسيداز gibi endojen antioksidan enzimler, ROS aktivitelerini sonlandırabilmektedirler. Oksidatif stres kronik inflamasyona yol açabilir ve bu da kanser, diabetes mellitus, kardiyovasküler, nörolojik ve pulmoner hastalıklar gibi birçok hastalığın

patogenezinde rol oynamaktadır. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri, akciğerlerdeki patolojik inflamatuvar sürecin oluşumunda aracılık etmektedir ve akciğer epitelinin hasar görmesine neden olmaktadır. Akciğerdeki inflamatuvar yanıt sırasında, makrofajlar, nötrofiller ve lenfositler dahil olmak üzere bağışıklık hücreleri aktive olur ve interleukin-1 beta (IL-1 β), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) ve benzerlerini serbest bırakır. IL-1 β ve TNF- α , güçlü proinflamatuvar aktivitelere sahip oldukları ve çeşitli proinflamatuvar mediatörlerin salgılanmasını destekleyebildikleri için en önemli proinflamatuvar sitokinlerdir.

Başlıca pineal bezden sentezlenen melatonin (MLT), nöroendokrin bir hormondur. MLT, beyin-omurilik sıvısı, tükürük, safra, eklem sıvısı, amniyotik sıvı ve anne sütü de dahil olmak üzere tüm biyolojik sıvılar içinde mevcut bulunmaktadır. MLT, hidrofobik olması nedeniyle pasif difüzyonla membranları ve kan-beyin bariyerini geçme yeteneğine sahiptir. Pineal bezden ritmik MLT salgılanması, hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeğindeki sirkadiyen saat tarafından yönlendirilir. Bu saat, retinal ışığa maruz kalma yoluyla aydınlık/karanlık döngüsü ile senkronize edilmektedir. Sirkadiyen ritimler, bireylerin yaşadıkları çevredeki günlük değişikliklere göre fizyolojik ve patolojik yanıtların oluşturulmasında önemli rol oynamaktadırlar. Sirkadiyen ritmi düzenlemek için salgılanan MLT, reaktif türleri doğrudan süpürme ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırarak antioksidan savunma sistemini modüle etme kapasitesi sayesinde oksidatif stresi azaltan güçlü bir antioksidandır. Birçok çalışmada MLT'in oksidatif/nitrozatif strese karşı korumada etkili olduğu gösterilmiştir. MLT'in oksidatif stres üzerine etkisini, reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin detoksifikasyonu şeklinde gösterdiği ileri sürülmektedir. Dolaylı etkisini ise pro-oksidan enzimlerin aktivitesini bastırırken antioksidan enzimleri uyarak göstermektedir. MLT ve metabolitleri bu etkileri sayesinde çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etkilere sahiptirler. MLT'in pulmoner düzeyde de antioksidan ve vazodilatör özelliklere sahip olduğu ileri sürülmektedir.

Bu çalışmanın amacı, ratlarda MLT yoksunluğunun (pinealektomi) ve eksojen MLT uygulamasının ANTU ile oluşturulmuş pulmoner ödem üzerine etkilerini gözlemlemektir.

Bunun için akciğer dokularında malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), toplam antioksidan durumu (TAS), toplam oksidan durumu (TOS), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri olmak üzere oksidatif stres belirteçleri belirlendi. IL-1 β ve TNF- α çok sayıda inflamatuvar akciğer hastalığının gelişimine aracılık etmektedir. Bu yüzden çalışmamızda akciğer dokusunda IL-1 β ve TNF- α seviyeleri araştırıldı. Akciğer dokusunda histopatolojik inceleme yapıldı.

Melatonin ve metabolitleri, hem serbest radikalleri temizleme yetenekleri hem de doku antioksidan kapasitesini artırma potansiyelleri sayesinde geniş spektrumlu antioksidanlardır. Melatonin'in farelerde siklofosamid kaynaklı oksidatif akciğer toksisitesine karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada GSH seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde düzelttiği ayrıca fare akciğer dokularında oksidatif toksisiteyi önlemeye yardımcı olduğu ortaya konmuştur. Yetişkin C57BL/6J farelerde akciğer iskemi-reperfüzyon hasarında melatoninin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, bu hasar neticesinde dolaşımdaki TNF- α ve IL-1 β seviyelerinde artış bildirilmiştir. Melatoninin, oksidatif stres ve inflamasyonun inhibisyonu yoluyla akciğer iskemi-reperfüzyon hasarını hafiflettiği ortaya konmuştur. Bizim çalışmamızda ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması melatonin tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) akciğer IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ciddi düşüşe sebep olmuştur. İlave olarak pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması, pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması yapılmasına kıyasla IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ciddi artış gözlenmesine neden olmuştur. Çalışmamızda histopatolojik olarak ANTU grubunda konjesyon, yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve interstisyel pulmoner ödem tespit edildi. ANTU+PINX grubunda hasarın şiddeti artmıştı. Melatonin injeksiyonu yapılan ANTU+MLT ve ANTU+PINX+MLT gruplarında hasarın ve histopatolojik değişikliklerin belirgin olarak azaldığı tespit edildi. Melatonin tedavisi akciğer efüzyon ve ödeminin gerilemesini ve akciğer mimarisinin iyileşmesini destekledi.

Bu sonuçlar, kronik melatonin tedavisinin doğrudan süpürücü etkilerinin yanı sıra, nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek, oksidan-antioksidan durumunu dengeleyerek ve inflamatuvar mediatörlerin oluşumunu düzenleyerek melatoninin akciğer hasarına karşı antioksidan ve antiinflamatuvar bir etki sağladığını göstermektedir. Toplu olarak bu sonuçlar; melatoninin inflamasyonu baskıladığını ve melatoninin inflamatuvar bozuklukların tedavisi için potansiyel bir aday ajan olabileceğini desteklemektedir

Anahtar Sözcükler : Alfa-naftiltiyöüre (ANTU), pinealektomi, melatonin, pulmoner ödem, oksidatif stress, sıçan

Bilim Kodu : 1090

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PINEALECTOMY AND EXOGENOUS MELATONIN ON PULMONARY EDEMA INDUCED BY α - NAPHTHYLTHIOUREA IN RATS

Mohammed Raed Abdullah AL GBURI

Karabük University

Institute of Graduate Programs

Department of Medical Biochemistry

Thesis Advisor:

Assist. Prof. Mehmet DEMİR

January 2022, 82 pages

Pulmonary edema is a common clinical condition and often leads to acute respiratory failure. This condition is generally associated with pulmonary venoconstriction, which is seen as a consequence of overactivity of the sympathetic nervous system. Significant increases in pulmonary vascular pressure and pulmonary blood volume lead to pulmonary edema due to the hydrostatic effect of increased pulmonary capillary pressure. Physiologically, the capillary-alveolar membrane provides optimal gas exchange, and acts as a barrier by preventing fluid accumulation in the alveolar space and limiting the diffusion of large solutes. The balance between alveolar fluid uptake and secretion is critical to maintaining optimal gas exchange in the alveolar space. As a result of the increase in the permeability of the alveolar-capillary septum in pulmonary edema, the protein-rich fluid passages into the interstitial and alveolar spaces.

The abnormal accumulation of pleural fluid in the pleural space is defined as pleural effusion, this leads to a common problem caused by various mechanisms and diseases. Almost every pulmonary disease and most non-pulmonary diseases may be associated with pleural effusion. Pleural effusion has significant effects on the respiratory system, especially the normal age-related changes that compromise the respiratory system. especially, it makes pulmonary gas exchange insufficient, however causes restrictive changes in lung function proportional to the fluid volume and reduces lung compliance.

Alpha-naphthylthiourea (ANTU) is a chemical agent developed as a rodenticide that specifically targets capillary endothelial cells in a dose-dependent manner. Studies have shown that ANTU increases pulmonary vascular permeability in adult rats, as well as causes acute pulmonary edema and pleural effusion. The pulmonary toxicity and increased pulmonary vascular permeability of ANTU make ANTU a popular model for pulmonary edema that uses in several morphological studies in rats. In the standard experimental model, when ANTU is administered intraperitoneally to rats, pulmonary edema and pleural effusion reach dangerous levels within 4 hours. Edema that occurs can completely heal within 24-48 hours or the condition may gradually worsen and lead to death.

Reactive oxygen radicals have been shown a role in ANTU pneumotoxicity. Reactive oxygen species (ROS) are highly reactive molecules that can occur as a natural by-product of endogenous normal oxygen metabolism, or as a result of an exogenous stimulus. Endogenously formed ROS (hydrogen peroxide, superoxide anion, hydroxyl radical) has important roles in cell homeostasis. When ROS overproduced or when antioxidant levels are severely depleted, these reactive species cause oxidative damage by attacking cell lipids, protein, and DNA. Endogenous antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and peroxidase can terminate the activities of ROS. ROS Oxidative stress can lead to chronic inflammation that plays a role in the pathogenesis of many diseases such as cancer, diabetes and cardiovascular, neurological, and pulmonary diseases. Reactive oxygen and nitrogen species mediate the pathological inflammatory process in the lungs and cause damage to the lung epithelium.

During the inflammatory response in the lung, released immune cells including macrophages, neutrophils, lymphocytes are activated and release interleukin-1-beta (IL-1 β), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). IL-1 β and TNF- α are the most important proinflammatory cytokines for having strong stimulatory activities, also they can support the secretion of many inflammatory mediators.

Melatonin (MLT), is a neuroendocrine hormone, which is primarily made by the pineal gland MLT is found in all biological fluids, including cerebrospinal fluid, saliva, bile, joint fluid, amniotic fluid, and breast milk. Being hydrophobic, MLT has the ability to pass through membranes and the blood-brain barrier by passive diffusion. Rhythmic MLT secretion from the pineal gland is driven by the circadian clock in the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. This clock is synchronized with the light/dark cycle by exposure to light in the retina. Circadian rhythms play an important role in the formation of physiological and pathological responses according to daily changes in the environment of individuals live. MLT Secreted to regulate circadian rhythm, MLT is a powerful antioxidant that reduces oxidative stress, its ability to directly seek reactive species and modulate the antioxidant defense system by increasing the activities of antioxidant enzymes. Several studies have shown that MLT is effective in protecting against oxidative/nitrous stress. It is suggested that MLT effect on oxidative stress by detoxification of reactive oxygen and reactive nitrogen species. Its indirect effect is shown by suppressing the activity of pro-oxidant enzymes while stimulating antioxidant enzymes. for these effects, MLT and its metabolites have protective effects against various diseases. MLT also have antioxidant and vasodilator properties at the pulmonary level.

The aim of this study was to observe the effects of lack of MLT (pinealectomy) and the addition of exogenous MLT on ANTU-induced pulmonary edema in rats. For this purpose, markers of oxidative stress were determined, including malondialdehyde (MDA) levels, low glutathione (GSH), total antioxidant status (TAS), total redox status (TOS), catalase (CAT), and superoxide dismutase levels (SOD). IL-1 β and TNF- α mediate the development of several inflammatory lung diseases. Therefore, in our study, the levels of IL-1 β and TNF- α in lung tissues were examined. Histological examination was performed on lung tissue.

Melatonin and its metabolites are broad spectrum antioxidants due to their ability to scavenge free radicals and their ability to increase tissue antioxidant capacity. In a study investigating the effects of melatonin against cyclophosphamide-induced oxidative lung toxicity in mice, it was revealed that it significantly improved GSH levels and SOD and CAT activities, and also helped prevent oxidative toxicity in mouse lung tissue. In a study investigating the effect of melatonin on lung ischemia-reperfusion injury in adult C57BL/6J mice, an increase in circulating TNF- α and IL-1 β levels was reported as a result of this damage. Melatonin has been shown to alleviate lung ischemia-reperfusion injury through inhibition of oxidative stress and inflammation. In our study, supplying melatonin for 30 days before ANTU administration caused a serious decrease in lung IL-1 β and TNF- α levels compared to the untreated group. In addition, supplying the ANTU after pinealectomy caused a significant increase in IL-1 β and TNF- α levels compared to supplying the ANTU with melatonin supplementation without pinealectomy. In our study, histopathologically, congestion, diffuse inflammatory cell infiltration, and interstitial pulmonary edema were detected in the ANTU group. The severity of the injury increased in the ANTU+PINX group. It was determined that damage and histopathological changes were significantly reduced in ANTU+MLT and ANTU+PINX+MLT groups that received melatonin injection. Melatonin treatment promoted regression of pulmonary effusion and edema and improvement of lung architecture.

These results show that, in addition to the direct scavenging effects of chronic melatonin therapy, melatonin provides an antioxidant and anti-inflammatory effect against lung injury by inhibiting neutrophil infiltration, balancing oxidative antioxidant status, and regulating the formation of inflammatory mediators. Collectively, these results support that melatonin suppresses pro-inflammatory mediators and that melatonin may be a potential candidate agent for the treatment of proinflammatory disorders.

Key Word : Alpha-naphthyl thiourea (ANTU), pinealectomy, melatonin, pulmonary edema, oxidative stress, rat

Science Code : 1090

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğretim Üyesi Mehmet DEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyimiz esnasında pinealektomi modeli oluşturulmasında katkı sağlayan Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziyojji Anabilim Dalı üyesi Dr. Öğretim Üyesi Mehmet DEMİR'e, histoloji incelemeleri yaparak tezimin tamamlanmasında yardımcı olan Muğla Sıtkı KOÇMAN Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hülya ELBE' ye teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmalarım esnasında maddi destek sağlayan Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: KBÜBAP-21-YL-043) teşekkür ederim.

Sevgili aileme manevi hiçbir yardımı esirgmeden yanımda oldukları için tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xiv
İÇİNDEKİLER	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xviii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
2.1. SIVI KOMPARTMANLARI.....	4
2.1.1. İntrasellüler Sıvı.....	4
2.1.2. Ekstrasellüler Sıvı.....	5
2.1.3. İnterstisyel Sıvı	5
2.1.4. Plazma (İntravasküler Sıvı)	6
2.1.5. Transsellüler Sıvı.....	9
2.1.6. Ekstrasellüler Akciğer Sıvı.....	9
2.2. Starling Denklemi.....	10
2.2.1. Filtasyon Katsayısı	12
2.2.2. Yansıma Katsayısı	12
2.3. LENF SİSTEMİ	13
2.3.1. Lenfatik Sistem İşlevi	13
2.4. MİKRODOLAŞIM	15
2.5. PULMONER DOLAŞIM.....	16
2.5.1. Pulmoner Dolaşım Fonksiyonları	17
2.5.2. Pulmoner Kan Akışı	18

	<u>Sayfa</u>
2.6. PULMONER ÖDEM	19
2.6.1. Pulmoner Ödem Sınıflandırması	19
2.6.2. Hidrostatik Ödem (Kardiyojenik Ödem)	20
2.6.3. Geçirgenlik Ödem (Kardiyojen Olmayan Ödem).....	20
2.6.4. Teşhis	23
2.6.4.1. Fiziksel Muayene.....	23
2.6.4.2. Akciğer Ödemi Laboratuvar Testi:	23
2.6.5. Tedavi	24
BÖLÜM 3	26
α -NAFTİLTİYOÜRE (ANTU).....	26
BÖLÜM 4	30
MELATONİN	30
4.1.MELATONİN BİYOSENTEZİ	32
BÖLÜM 5	35
OKSİDATİF STRES.....	35
5.1. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	36
5.2. ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	37
5.3.ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR.....	38
BÖLÜM 6	39
6.1. DENEY HAYVANLARI.....	39
6.2. ÇALIŞMA TASARIMI.....	39
6.3. MELATONİN (MLT) ÇÖZELTİSİNİN HAZIRLANMASI VE ENJEKSİYONU.....	40
6.4. ALFA-NAFTİLTİYOÜRE (ANTU) İLE AKCİĞER ÖDEMİ MODELİNİN OLUŞTURULMASI	40
6.5. PİNEALEKTOMİ (PINX) İŞLEMİ.....	41
6.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	41
6.6.1. Numunelerin Hazırlanması.....	41
6.6.2. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Analizi.....	42

	<u>Sayfa</u>
6.7. HİSTOPATOLOJİK ANALİZ.....	44
6.8. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ANALİZ	46
BÖLÜM 7	48
DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	48
7.1. EFÜZYON SIVISİNİN MİKTARI (PE, ML), AKCİĞER AĞIRLIĞI/VÜCUT AĞIRLIĞI (LW/BW) VE PLEVRAL EFÜZYON/VÜCUT AĞIRLIĞI (PE/BW) ORANLARINA AİT BULGULAR	48
7.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR	50
7.2.1. Melatoninin ANTU kaynaklı Akciğer dokusu Okidatif stres belirteçleri ve Antioksidan parametreler üzerine etkisi	50
7.2.2. Melatoninin ANTU kaynaklı Akciğer inflamasyon belirteçleri (IL-1 β ve TNF- α) üzerine etkisi	54
7.2.3. Pinealektominin Ratların Serum Melatonin Seviyeleri Üzerine Etkisi ..	55
7.2.4. İstatistiksel analiz.....	56
7.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	56
7.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	58
7.5. TARTIŞMA.....	60
KAYNAKLAR	65
EK AÇIKLAMALAR ETİK KURUL İZİNİ	80
ÖZGEÇMİŞ	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Vücut sıvısının bölümleri.....	5
Şekil 2.2. Kılcal membran boyunca ultrafiltratın dağılımı	9
Şekil 2.3. Kılcal damarlardaki hidrostatik ve onkotik basınç gradyanları arasındaki hareket	11
Şekil 2.4. Kılcal akışkanlar dinamiğinin klasik Starling ilkesi.....	12
Şekil 2.5. Lenfatik damarlar boyunca lenf taşınması.....	14
Şekil 2.6. İnterstisyel sıvı, makromoleküller ve kan damarlarından ekstravaze olan immün hücreler lenfatik kılcal damarlar tarafından toplanmaktadır.....	15
Şekil 2.7. Mikro dolaşım bileşenleri	16
Şekil 2.8. Sistemik ve pulmoner dolaşım ile çeşitli seviyelerde basınç ölçümleri numaralandırılmıştır	18
Şekil 2.9. Normal akciğer ve ödemli akciğerlerin görüntüsü.....	22
Şekil 2.10. Pulmoner ödemi gösteren göğüs BT taraması.....	24
Şekil 3.1. α -naftiltiyürenin kimyasal yapısı.....	26
Şekil 4.1. Pineal bez	30
Şekil 4.2. Retinohipotalamik yol ve melatonin sentezi döngüsü.....	31
Şekil 4.3. Melatonin plazma konsantrasyonu (gri alan gece vaktini gösterir).....	31
Şekil 4.4. Melatoninin kimyasal yapısı.....	32
Şekil 4.5. Melatoninin sentez basamakları.....	33
Şekil 4.6. Melatoninin antioksidan mekanizması	34
Şekil 5.1. ROS oluşumunun temelleri	36
Şekil 5.2. Antioksidan savunma sisteminin katıldığı tepkimeler ve eksikliklerinde oluşan oksidatif stres.....	37
Şekil 7.1. Efüzyon sıvısının miktarı (PE, ml), akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (LW/BW) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/BW) oranları.....	50
Şekil 7.2. Akciğer dokusunun histopatolojik görüntüsü.....	58

Sayfa

Şekil 7.3. Akciğer dokusunun kaspaz-3 antikoruna ile immünöhistokimyasal boyaması
..... 59

Şekil 7.4. Akciğer dokusunun kaspaz-3 antikoruna ile immünöhistokimyasal boyaması.
..... 60

ÇİZELGE DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Vücut sıvılarının kimyasal bileşimi	7
Çizelge 3.1. ANTU için öldürücü dozlar	27
Çizelge 7.1. Plevral efüzyon (PE) ve PE/BW ile LW/BW oranları..	49
Çizelge 7.2. Ortalama doku MDA ve GSH düzeylerinin karşılaştırılması.	51
Çizelge 7.3. Ortalama doku SOD ve CAT aktivitelerinin karşılaştırılması	52
Çizelge 7.4. Doku TAS, TOS düzeyleri ve OSI değeri.....	53
Çizelge 7.5. Serum IL-1 β düzeyleri (ng/ml).....	54
Çizelge 7.6. Serum TNF- α düzeyleri (ng/L).	55
Çizelge 7.7. Serum melatonin düzeyleri (ng/L).	56
Çizelge 7.8. Ortalama histopatolojik hasar skoru.....	57
Çizelge 7.9. Kaspaz-3 immünreaktivitesi için ortalama H-skoru.	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ANTU : Alfa-naftiltiyöüre
ROS : Reaktif oksijen türleri
IL-1 β : Interlökin-1 beta
TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör-alfa
MLT : Melatonin
MDA : Malondialdehit
GSH : İndirgenmiş glutatyon
TAS : Toplam antioksidan durumu
CAT : Katalaz
SOD : Süperoksit dismutaz
ICF : Hücre içi sıvı
ECF : Hücre dışı sıvı
Pc : Kapiler hidrostatik basınç
 Π_p : Kolloid ozmotik basıncı
Qf : Akciğer mikrovaskülatüründen interstisyuma sıvının Net Filtrasyonu
Kf : Filtrasyon Katsayısı
 σ : Protein Yansıma katsayısı
Pi : Interstisyel Hidrostatik Basınç
 π_c : Plazma Onkotik Basıncı
SA : Filtrasyon yüzey alanı
Kf : Filtrasyon katsayısı
Pcp : Pulmoner kılcal basınca
Ppac : Pulmoner alveolar hava basıncı
NCPE : Kardiyojenik olmayan pulmoner ödem
ARDS : Akut solunum sıkıntısı sendromu
TRALI: Transfüzyona bağlı akut akciğer hasarı
BNP : Beyin natriüretik peptide
CVO : Sirkumventriküler organ
HCO₃⁻: Bikarbonat

Cl- : Klorür

DTNB : 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit

H-E : Hematoksilen-Eozin

PE : Plevral efüzyon

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Akciğer interstisyumuna sıvı akışı, lenfatikler tarafından uzaklaştırılma hızını aştığı zaman akciğer ödemi oluşmaktadır. Ekstravasküler akciğer sıvısı biriktikçe, alveolar taşma meydana gelmekte ve bu da gaz değişiminde bozulmaya neden olmaktadır. Bozulmanın büyüklüğü ile birlikte hipoksi oluşabilir ve sonuçta solunum yetmezliği ve hatta ölümlerle sonuçlanabilir. Birçok farklı hastalık ve bozukluğun sonucu olarak gelişen pulmoner ödemin [1], artan basınç veya artan geçirgenlikten kaynaklandığı düşünülmektedir [2]. Artan basınçlı akciğer ödemi, hücresel hasarın olmaması, düşük proteinli ödem sıvısı ve uzun süreli gelişim süreci ile karakterizedir. Buna karşılık, geçirgenliği artırılmış akciğer ödemi, hücresel hasar, proteinden zengin ödem sıvısı ve hızlı başlangıç ile karakterizedir. Analjezikler, antiaritmik ajanlar ve opiyatlar dahil olmak üzere bir dizi ilacın, doğrudan toksisite veya bir inflamatuvar reaksiyonun dolaylı olarak artması gibi kardiyojenik olmayan faktörler yoluyla akciğer hasara neden olduğu bildirilmiştir [3].

Tiyüreden türetilen bir kimyasal bileşik olan alfa-naftil-tioüre (ANTU) ilk kez bir rodentisit olarak kullanılmıştır [4]. ANTU, sıçanlarda masif pulmoner ödem ve plevral efüzyona neden olmaktadır [5]. ANTU gibi toksik maddeler, sitokrom P-450 tarafından üretilen reaktif türler yoluyla akciğer hasarına neden olur ve bu da pulmoner ödeme yol açan endotel hasarına neden olmaktadır. Bu ajanların pulmoner toksisite mekanizması iyi anlaşılmamıştır ve lökositler, oksijen radikalleri, araşidonik asit metabolitleri ve sitokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin bir şekilde pulmoner ödem etiolojisinde rol oynaması mümkündür [6].

Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif, kısmen indirgenmiş moleküler oksijen (O_2) türevleridir. Biyolojik sistemlerdeki önemli ROS arasında süperoksit radikal anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali bulunur. Üretilen oksitleyici ajanlar,

proteinler, DNA ve lipidler dahil olmak üzere çok sayıda hücrenel bileşenle etkileşime girebilir [7]. Akciğer ödemi sırasında üretilen ROS, hücrenel proteinlere, lipidlere, nükleik asitlere ve hücre dışı matris elemanlarına kolayca zarar verir [8]. ROS, endotelin düzenlenmesinde ikili bir rol oynamaktadır. Fizyolojik seviyelerde, ROS ile indüklenen sinyal ekseni, endotel tarafından vasküler tonusu korumak için gereklidir ve ayrıca istilacı patojenlere karşı anjiyogenez ve akut inflamatuvar yanıtları kolaylaştırır. Buna karşılık, patolojik ortamlarda aşırı ROS üretimi, yani hiperoksi, iltihaplanma, çevre kirliliği, endotelial bariyer disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. ROS, hem in vitro hem de in vivo endotel geçirgenliğini artırır. Zararlı uyarılara yanıt olarak endotelial hücre ve nötrofiller, doğrudan geçirgenliği ve inflamatuvar yanıtı tetikleyen ROS üretebilmektedir [9]. Oksidatif stresin sonuçlarından biri, ara metabolizmada yer alan anahtar enzimlerin inaktivasyonunu içerebilir. Oksidatif stres kendi başına miyokard hasarı, sepsis, pulmoner ödem, böbrek ve karaciğer yetmezliği ve artmış mortalite gibi komplikasyonlarla ilişkili olabilir [10].

Epifiz bezinin ana ürünü olan melatonin, diğer vücut sıvılarında ve dokularında yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir [11]. Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), memelilerde epifiz bezi tarafından ve ayrıca Harder bezi, deri, bağırsak ve bağışıklık sistemi gibi endokrin olmayan diğer organlar tarafından da sentezlenir [12]. Son kanıtlar, melatoninin in vivo hem oksijen hem de nitrojen bazlı reaktif moleküllerin temel temizleyicisi olduğunu göstermektedir. Hem fizyolojik hem de farmakolojik konsantrasyonlarda etkileri vardır. Melatonin ve metabolitleri, serbest radikalleri ve türevlerini detoksifiye edebilir. Melatonin ayrıca diğer hücre içi antioksidan enzimlerin aktivitesini de geliştirir, glutatyon gibi diğer antioksidanların oluşumunu uyarır ve mitokondriyal solunum fonksiyonunu ve ATP sentezini geliştirir [13]. Melatonin ve metabolitleri, yüksek dozlarda toksisite olmaksızın tolere edilen güçlü antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Çok sayıda çalışma ayrıca melatoninin anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkilerle ilişkilendirmiştir. Çeşitli çalışmalar melatoninin lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış inflamatuvar sitokinleri/kemokinleri hafiflettiğini göstermiştir. Yakın zamanda, melatoninin sıçanlarda pulmoner ödem oluşumunu azalttığı bildirilmiştir [14].

Tüm bu etkileri göz önüne alındığında melatoninin, ANTU aracılı pulmoner ödem ve efüzyona karşı protektif etki göstereceği düşünülmektedir. Ancak, melatonin yoksunluğunun (pinealektomi) ve eksojen melatonin uygulamasının ANTU kaynaklı pulmoner ödem üzerine etkileri henüz araştırılmamıştır.

Bu çalışmada, ratlarda MLT yoksunluğunun (pinealektomi) ve eksojen MLT uygulamasının ANTU ile oluşturulmuş pulmoner ödem üzerine etkilerini gözlemlendi. Bunun için akciğer dokularında malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), toplam antioksidan durumu (TAS), toplam oksidan durumu (TOS), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri olmak üzere oksidatif stres belirteçleri belirlendi. IL-1 β ve TNF- α çok sayıda inflamatuvar akciğer hastalığının gelişimine aracılık etmektedir. Bu yüzden çalışmamızda akciğer dokusunda IL-1 β ve TNF- α seviyeleri araştırıldı. Akciğer dokusunda histopatolojik inceleme yapıldı.

BÖLÜM 2

2.1. SIVI KOMPARTMANLARI

Çoğunluğu sudan oluşan vücut sıvıları çok sayıda madde içermektedir. Vücuttaki sıvıların dağılımı, vücut sağlığının ve fonksiyonunun korunması ve yaşamın devam ettirilmesi için önemlidir [15]. Deri, kas, iç organlar ve beyin gibi dokular %70-80 sudan oluşurken yağ dokusu ve kemik %10-20 oranında sudan oluşmaktadır. Erkeklerde vücut ağırlığının %60'ı sudan oluşurken kadınlarda ise vücut ağırlığının %50'sinin sudan oluştuğu tahmin edilmektedir [16].

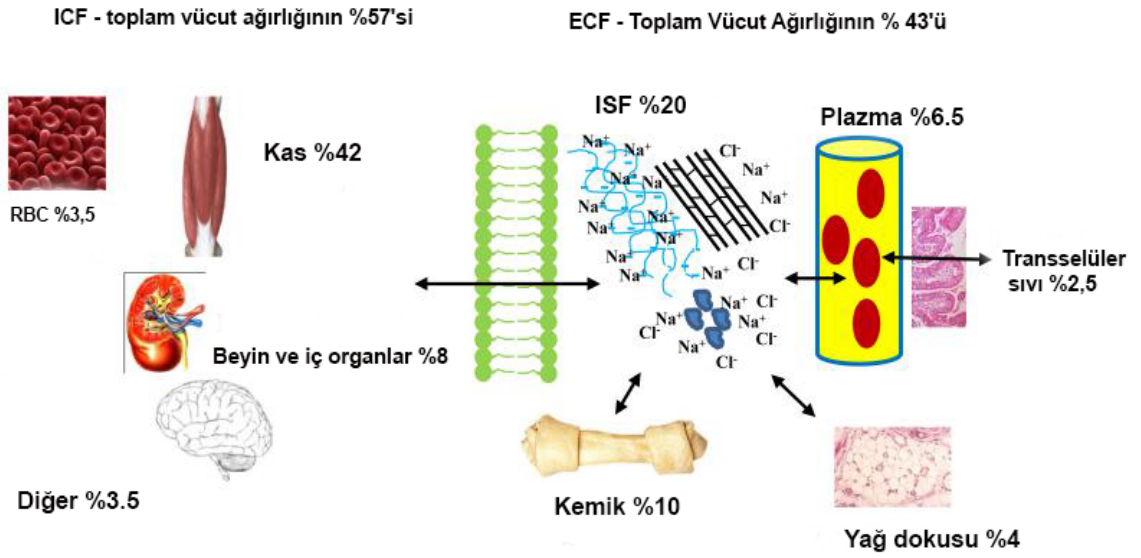
Toplam vücut suyu iki sıvı kompartmanı arasında dağılmaktadır. Vücut suyunun üçte ikisi hücre içi sıvı bölmesinde (ICF), üçte biri hücre dışı sıvı bölmesinde (ECF) yer almaktadır [17].

2.1.1. İntrasellüler Sıvı

Hücrede sitozol, organeller ve çekirdeğin bulunduğu iç ortama hücre içi sıvı (ICF) denilmektedir [18]. ICF hacmi, vücut hücreleri içerisindeki sıvıyı temsil etmektedir [19]. Hücre içi sıvı toplam vücut ağırlığının yaklaşık %57'sini oluşturmaktadır (Çizelge 2.1). Hücreler içindeki toplam boşluk hücre sitoplazması olarak tanımlanmaktadır [20]. Sitozolün bileşimi plazma ve interstisyel sıvılardan farklıdır. Hücrenin pH'ı, Na^+/H^+ ve $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ gibi değiştiricilerle, çeşitli fosfat ve protein tamponları ile ve arteriyel CO_2 basıncının ayarlanması gibi çeşitli membran taşıma mekanizmaları sayesinde 6.9-7.0 civarında tutulmaktadır. Sodyum, kalsiyum, klorür ve bikarbonat hücre içi sıvılarda daha düşük konsantrasyonlarda bulunurken, potasyum, magnezyum, sülfat, inorganik, organik fosfatları, proteinleri ve diğer organik türleri hücre içi sıvılarda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Şekil – 2.2) [21].

2.1.2. Ekstrasellüler Sıvı

Ekstrasellüler sıvı, hücre dışındaki tüm vücut sıvılarını kapsamaktadır. ECF, tüm vücut hücrelerini çevreler, korur ve aynı zamanda immünoaktif olarak yıkama işlemi yapar [22]. Hücre dışı sıvı, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %43'ünü oluşturmaktadır (Şekil 2.1). Hücre dışı sıvı kan plazması, interstisyel sıvı, lenf ve beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı, lseröz sıvı, bağırsak sıvısı gibi transsellüler sıvıları kapsamaktadır [23].



Şekil 2.1. Vücut sıvısının bölümleri [2].

2.1.3. İnterstisyel Sıvı

İnterstisyel sıvı, hücreleri çevreleyen interstisyumun sıvı fazını oluşturur. Transkılcal filtrasyon ile üretilmektedir. Esas olarak lenfatik damarlar tarafından temizlenmektedir. İnterstisyel sıvının kılcal damarlardan lenf damarlarına yavaş akışı, besinlerin dokulardaki hücrelere taşınmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda hücrelerden gelen atık ürünlerin de lenf damarlarına taşınmasını sağlamaktadır. İnterstisyel sıvının oluşumu ve temizlenmesi arasındaki denge nedeniyle sıvı birikimi olmamaktadır. Basınç sürekli düşük tutulmaktadır (yaklaşık olarak 0 mmHg) [24].

İnterstisyel sıvının akış yönünü hidrostatik basınç, onkotik basınç, endotelial bütünlük ve lenfatik sistemler gibi faktörler kontrol etmektedir. Bu faktörlerin Starling yasası tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir [25]. Konsantrasyon gradyanı veya basınç gradyanı mevcut olduğunda interstisyel sıvı, dokulardaki hücresel ortamı modüle etmek için kılcal damarlar ile lenfatik damarlar arasındaki yakın mesafeli bir boşlukta suyu ve çözünenleri rastgele taşımaktadır [26]. İnterstisyel sıvı basıncı dokuların yoğunluğuna bağlı olarak değişmektedir. Yoğun bağ dokusunda daha yüksek basınca sahiptir. İnterstisyel sıvı basıncının değeri pozitif veya negatif olabilir. Pozitif değerler kılcal damara zorlanan sıvıdan kaynaklanmaktadır, negatif değerler ise interstisyuma zorlanan sıvıdan kaynaklanmaktadır [25].

2.1.4. Plazma (İntravasküler Sıvı)

Plazma, tümü tek bir yerde gerçek sıvı koleksiyonu olarak var olan büyük bir sıvı bölmesidir [27]. Vücutta malzeme taşınmasında, pH düzenlenmesinde ve diğer metabolik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır [21]. Plazmanın %91-92' si su ve %8-9' u katı madde içermektedir [28]. Kan plazması birçok küçük organik molekül içerir, daha büyük moleküller için ise bir taşıma sistemi görevi görür. Kendisi plazma proteinlerinin içeriği ile karakterize edilmektedir [29].

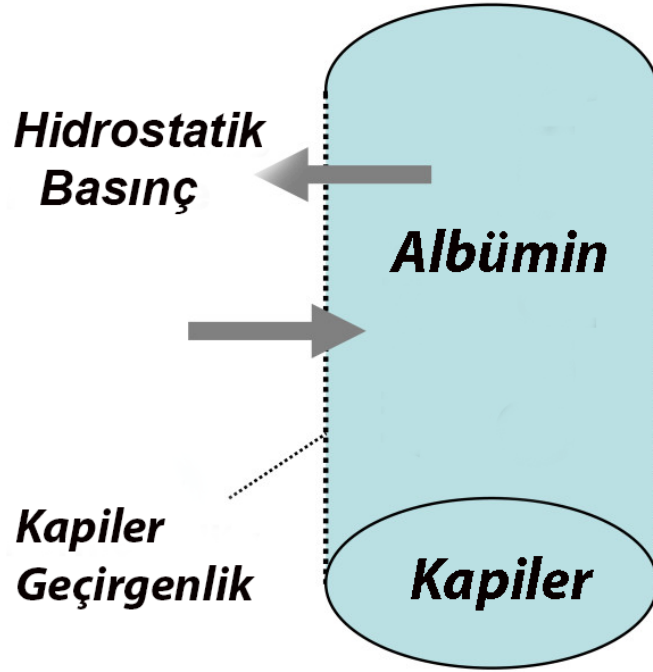
İnorganik elektrolitler, plazmanın önemli kimyasal bileşenleridir. Jeokimyasal açıdan daha az miktarda kalsiyum, potasyum, magnezyum, sülfat ve fosfat içeren nötr pH'ya yakın bir sodyum klorür bikarbonat elektrolit çözeltisinden oluşmaktadır. İçeriğinde çok çeşitli eser metaller de bulundurmaktadır. Bu metaller arasında silikon, demir, manganez, kobalt, çinko, bakır, krom ve selenyum bulunur. Albümin, globulinler ve fibrinojen gibi yüksek moleküler ağırlıklı proteinler plazmanın %7'sini oluşturur. Kandaki plazma proteinleri plazmanın yüksek ozmotik basıncının korumasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca plazmada laktat, sitrat ve tartrat gibi organik asitler; glisin, alanin, histidin, sistein ve sistin gibi amino asitler; ve peptitler (yani glutasyon), şekerler (glikoz ve diğerleri) ve yağ asitleri gibi diğer birçok organik türler de bulunmaktadır (Çizelge 2.1) [21].

Çizelge 2.1. Vücut sıvılarının kimyasal bileşimi [21].

BİLEŞENLER	PLAZMA	İNERSTİSYEL SIVI	İNTRASELLÜLER SIVI
pH	7.33–7.45	7.33–7.45	7
Kalsiyum (mg l ⁻¹)	100	100	40-60
Sodyum (mg l ⁻¹)	3,265	3,333	160–230
Potasyum (mg l ⁻¹)	156	156	6,060–6,256
Magnezyum (mg l ⁻¹)	24	24	316–365
Klorür (mg l ⁻¹)	3,580	4,041	106–248
Sülfat (mg l ⁻¹)	48	48–192	961
Bikarbonat (mg l ⁻¹)	1,647	1,709–1,892	1,709
Fosfat (inorg, HPO ²⁻ ₄ (mg l ⁻¹)	63–123	63	3,200–5,800
Demir (mg l ⁻¹)	1		
Manganez (mg l ⁻¹)	0.0006–0.08		
Bakır (mg l ⁻¹)	0.6–1.4		
Kobalt (mg l ⁻¹)	0.001–0.01		
Albümin (mg l ⁻¹)	48,000		
Globulin (mg l ⁻¹)	23,000		
Fibrinojen (mg l ⁻¹)	2,800		
Bilirubin (mg l ⁻¹)	4		

Arjinat (mg l ⁻¹)	16		
Sisteinat (mg l ⁻¹)	3		
Histidinat (mg l ⁻¹)	13		
Sitrat (mg l ⁻¹)	22		
Laktat (mg l ⁻¹)	164		

İntravasküler boşluktaki hidrostatik basınç, suyu ve elektrolitleri kılcal damardan interstisyel boşluğa iten kuvvettir [30]. Kılcal duvar bu iki bölme arasında bariyer oluşturmaktadır. Sıvının bu bariyer boyunca hareketi fizyolog Starling tarafından formüle edilmiştir (Şekil 2.2). Bu durum, suyun hücre zarı boyunca hareketinden farklıdır. Kılcal damarda su ve çözünmüş maddeler kılcal duvar boyunca eşit derecede hareket etmektedir. Çözünenler su ile birlikte bariyer boyunca aktığı için herhangi bir ozmotik basınç oluşturmaz. Plazma proteinleri ve özellikle albümin kılcal duvar boyunca kolay hareket edemez. Plazma proteinleri onkotik basınç adı verilen bir kuvvet uygulamaktadır [28, 31].



Şekil 2.2. Kılcal membran boyunca ultrafiltratın dağılımı [32].

2.1.5. Transsellüler Sıvı

Transsellüler sıvı, hücrelerin içinde bulunmamaktadır. Bu sıvı, yüksek geçirgen kılcal zarlardan difüzyon yoluyla ekstrasellüler sıvı ile serbestçe değiş tokuş edemeyen daha küçük sıvı koleksiyonlarıdır. Gözün odacıklarındaki camsı ve sulu humörler, beyin omurilik sıvısı ve eklem kapsüllerindeki sinovyal sıvı, transsellüler sıvıya örnek verilebilir. Bu sıvılar onları çevreleyen koroid pleksus, sinovyal membranlar gibi özel hücre katmanları tarafından salgılanmaktadır. Bu özel sıvılar, göz küresinin boyutunu ve şeklini korur, beyni ani hareketlerden kaynaklanan travmalardan korur ve eklemleri yağlamaya hizmet etmektedir [33].

2.1.6. Ekstrasellüler Akciğer Sıvı

Çeşitli bileşenleri içeren kompleks, dinamik bir karışımdır. Akciğerlerin derin kısımlarını kaplamaktadır. Sürfaktanlar çoğunlukla dipalmitoil fosfatidilkolin gibi fosfolipid-protein materyalinden oluşmaktadır. Akciğerlerin yüzey gerilimini düşürmesine, gaz alışverişi için ıslak bir yüzey oluşturmaya ve akciğerleri

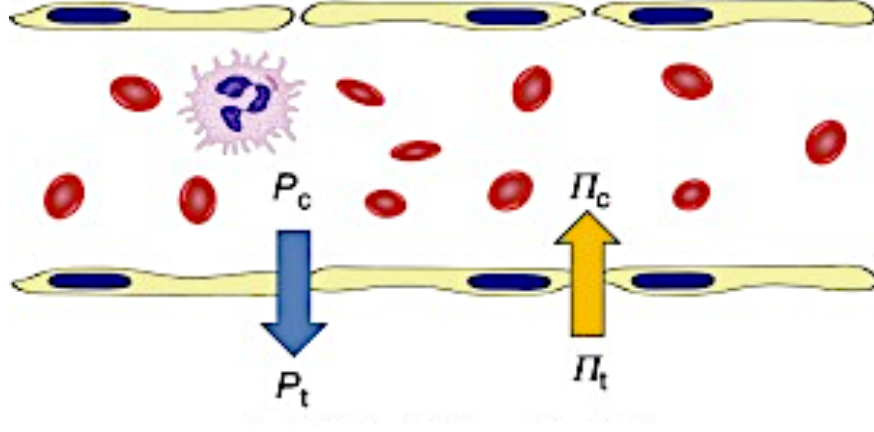
genişletmek için gereken kas eforunun azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Glikomukoproteinlerden oluşan "mukus" yabancı partiküllerin yakalanmasına ve temizlenmesine yardımcı olmaktadır. Çeşitli literatür kaynakları akciğer sıvısının, genelde pH'ı 7.4 civarında olan interstisyel sıvıya benzer bir elektrolit sıvısı olduğunu ileri sürmektedirler [21].

2.2. Starling Denklemi

Starling kuvvetleri, dolaşımdaki kan ve doku boşlukları arasında sıvı geçişlerinin üretilmesinden sorumlu temel kuvvetlerdir. Starling, kılcal basıncın dokulara geçişi nasıl belirlediğini ve proteinlerin ozmotik basıncının dokulardan emilimi nasıl sağladığını açıklamıştır. Starling ayrıca dolaşımdan sürekli olarak az miktarda sıvının kaybolduğunu (kılcal duvarın sürtünme direnci) ve lenf oluşturduğunu fark etmiştir. Starling, kılcal basıncın yükselmesinden sonra doku kolloidal ozmotik basıncının azaldığını ve sıvının interstisyel boşluklara transüdayonunu sınırlamak için karşıt kuvvetler oluşturduğunu öne sürmüştür [34]. Kılcal damarlardan sıvı filtrasyonunu sınırlayan ana kuvvetin kılcal hidrostatik basınç (Pc) ile plazma kolloid ozmotik basıncı (π_p) arasındaki fark olduğunu bulmuştur [35]. Böylece Starling, mikrosirkülasyon ve interstitium arasındaki sıvı dengesinin korunmasından sorumlu temel kuvvetleri tanımlamıştır. Bu fiziksel kuvvetlere Starling kuvvetleri denir:

- **Kapiler Hidrostatik Basınç (PC):** Su ve elektrolitleri kılcal damardan interstisyel boşluğa iten temel kuvvettir [30].
- **İnterstisyel Hidrostatik Basınç (Pi):** Tüm dokularda mikrovasküler hidrostatik basınca karşı bir yönde hareket eden bir hidrostatik basınç da bulunmaktadır. Dokuların hidrostatik basıncı, Pif pozitif olduğunda sıvıyı kılcal membranların içinde tutar, Pif negatif olduğunda ise dışarı itmektir.
- **Plazma Onkotik Basıncı (IIC):** Starling mikrovasküler duvarlara etki eden filtrasyon basınç gradyanını dengelemek için yeterli bir ozmotik basınç uygulandığını belirlemiştir. Plazmadaki tüm proteinler birleştirildiğinde ozmotik basınç veya 25-30 mmHg plazma onkotik basınç üretirler. Plazma onkotik basıncı, 25-30 mmHg'lik bir hidrostatik filtrasyon basıncına karşı koymak için yeterli büyüklüktedir.

- **İnterstisyel Onkotik Basınç (Π_i):** Plazma proteinleri çoğu organın dokularına girdiğinden doku sıvılarında bir protein ozmotik basıncı üretirler. Bu ozmotik basınç, plazmanın onkotik basıncından çıkarıldığı için dokulara filtrasyonu teşvik edecek bir yönde etki etmektedirler [36].



Şekil 2.3. Kılcal damarlardaki hidrostatik ve onkotik basınç gradyanları arasındaki hareket [37].

Denklemler şu şekildedir [38]:

$$Q_f = K_f (P_c - P_i) - \sigma (\pi_c - \pi_i)$$

Q_f : Akciğer mikrovaskülatüründen interstisyuma sıvının Net Filtrasyonu

K_f : Filtrasyon Katsayısı

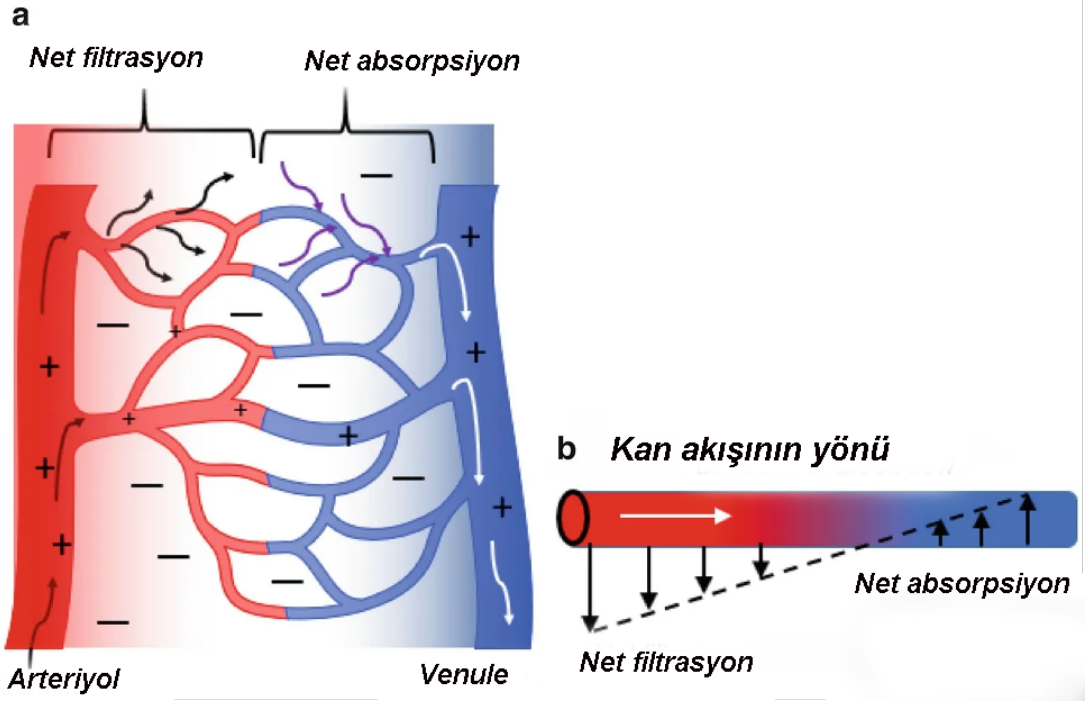
σ : Protein Yansıma katsayısı

P_c : Kapiler Hidrostatik Basınç

P_i : İnterstiyel Hidrostatik Basınç

π_c : Plazma Onkotik Basıncı

π_i : İnterstiyel Onkotik Basınç; Starling ilişkisini tanımlamak için kullanılan iki katsayı vardır: Filtrasyon Katsayısı (K_f) ve Yansıma Katsayısı (σ) [34].



Şekil 2.4. Kılcal akışkanlar dinamiğinin klasik Starling ilkesi [39].

2.2.1. Filtrasyon Katsayısı

Filtrasyon katsayısı, hidrolik iletkenliğin (L_p) ve filtrasyon yüzey alanının (SA) ürünü olarak tanımlanmaktadır. Esas olarak konvektif su taşınımına karşı endotel bariyer geçirgenliğini ölçmektedir. Vasküler geçirgenliğin bir ölçüsüdür. Doğası gereği protein akışından daha hassastır [40]. Bir organın filtrasyon özelliği, kılcal damardan ne kadar sıvının filtreleneceğini belirleyen filtrasyon katsayısı (K_f) cinsinden tanımlanabilmektedir. Starling kuvvetlerinde belirli bir dengesizlik bir kılcal yatak boyunca ne kadar sıvının filtreleneceğini belirlemektedir [41].

2.2.2. Yansıma Katsayısı

Bir maddenin yansıma katsayısı, kılcal zardan geçirgenliğini tanımlamaktadır ve kılcal duvar boyunca ölçülen onkotik basınç gradyanına uygulanan bir düzeltme faktörüdür. Plazma proteinlerinin yansıma katsayısı, mikrovasküler duvar plazma proteinlerine geçirgen olmadığına eşit olmaktadır. Mikrovasküler duvar,

plazma proteinlerine geçirgen olduğunda bu katsayı sifira eşittir. Mikrovasküler bariyer plazma proteinlerine geçirgen olmadığında tam onkotik basınç mikrovasküler duvar boyunca uygulanır. Fakat mikrovasküler duvar proteinlere karşı geçirgense daha az basınç uygulanır [36]. Albümin için normal yansıma katsayısının yaklaşık 0,9 (0,80–0,98) olduğu söylenmektedir. Albümin için yansıma katsayısındaki azalma, intravaskülerden interstisyel boşluğa albümin sızıntısına neden olmaktadır. Sonuçta transkapiller kolloid ozmotik basınçta azalma meydana gelmektedir [42].

2.3. LENF SİSTEMİ

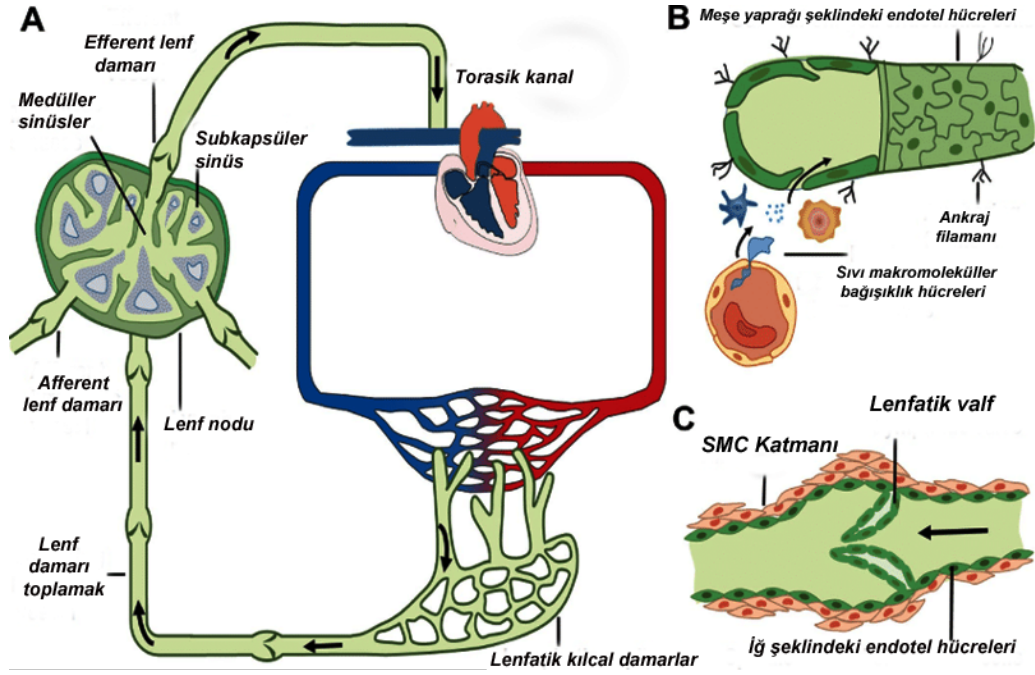
Lenfatik sistem, lenfoid doku, doku sıvısı/lenf ve lenfoid hücrelerinin taşıma yollarından oluşan bir ağıdır. Ana bileşenleri şu şekildedir:

1. Göç eden dendritik hücreler (makrofajlar ve lenfositler, lenf düğümleri, timus, dalak, kemik iliği, bağırsak ve akciğerlerdeki lenfoid doku, karaciğer lenfoid hücreleri ve lenfoid olmayan organların dendritik hücreleri)
2. Damarlar (hücreler arası boşluk, lenfatikler ve perivasküler boşluklar).
3. Sıvılar (doku sıvısı ve lenf).

Lenfatik sistemin en aktif koluna sahip organ ve dokular deri, bağırsak ve akciğerlerdir. Bunlar dış çevreye maruz kalan vücut yapılarıdır. Diğer tüm lenfoid olmayan vücut dokuları da doku sıvısı/lenf tarafından süzülmemektedir ve bir dendritik hücre ve makrofaj ağı içermektedir [43].

2.3.1. Lenfatik Sistem İşlevi

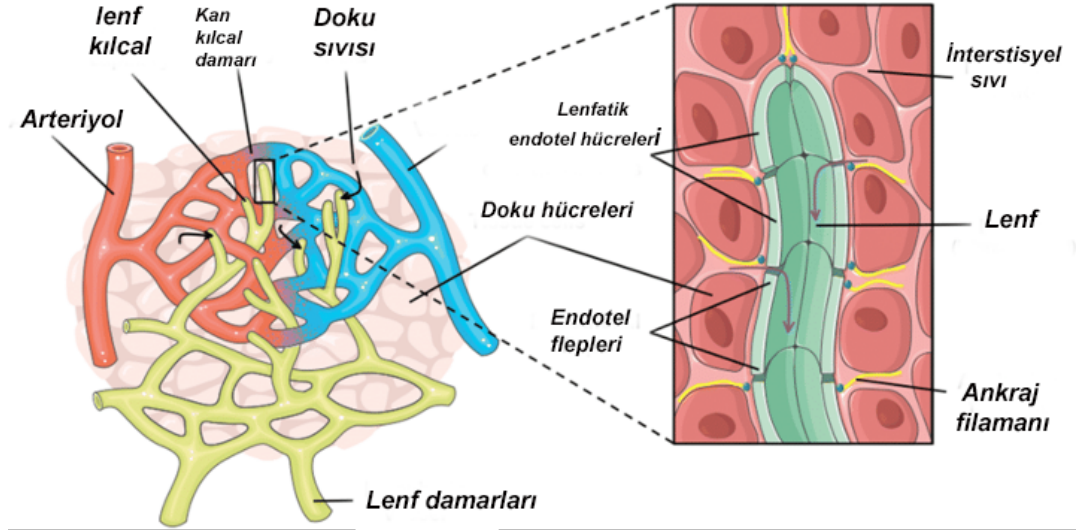
Lenfatik sistemin üç ana işlevi bulunmaktadır. Birincisi sıvı dengesinin korunması, ikincisi bağırsak lenfatikleri yağ emiliminden sorumlu olduğu için beslenme işlevi, üçüncüsü ise konak savunmasıdır (Şekil 2.5) [44].



Şekil 2.5. Lenfatik damarlar boyunca lenf taşınması [45].

Lenfatikler, sıvı ve proteinleri interstiyel boşluktan toplayıp kan dolaşımına geri döndürerek tek yönlü bir taşıma sistemi oluşturmaktadır (Şekil 2.6) [46]. Lenf damarları, kılcal ultra filtratı ve dokudan kaçan plazma proteinlerini kan dolaşımına geri döndürmektedir. Kardiyovasküler sistemle ortaklaşa çalışan lenfatikler, doku ve plazma homeostazını sürdürmekten sorumludur. Doku boşluklarında kılcal süzüntü birikmesi yeniden emilim yoluyla değil, esas olarak lenf drenajı yoluyla önlenmektedir. Ölçümler doğrudan P_i ve n_i 'den yapıldığında, tüm Starling kuvvetlerinin toplamı venöz kılcal damarlarda emici bir kuvvet değil, hafif bir filtrasyon kuvveti oluşturmaktadır [44].

Lenfatik sistem, kalan fazla sıvıyı ve proteinleri interstiyel boşluklardan çekip kana geri döndürerek sistemin dengelenmesinden sorumludur. Lenfatik sistem dengeye gelene kadar bu proteinleri ve diğer büyük molekülleri venöz sisteme geri döndürmekten sorumludur. Fazla sıvı, ozmotik ve hidrostatik basınçların korunmasında birincil rol oynayan başlangıç lenfatiklerine taşınmaktadır. Bu yüzden lenfin net akış hızı, kanın akış hızından yaklaşık 100-500 kat daha azdır [47].



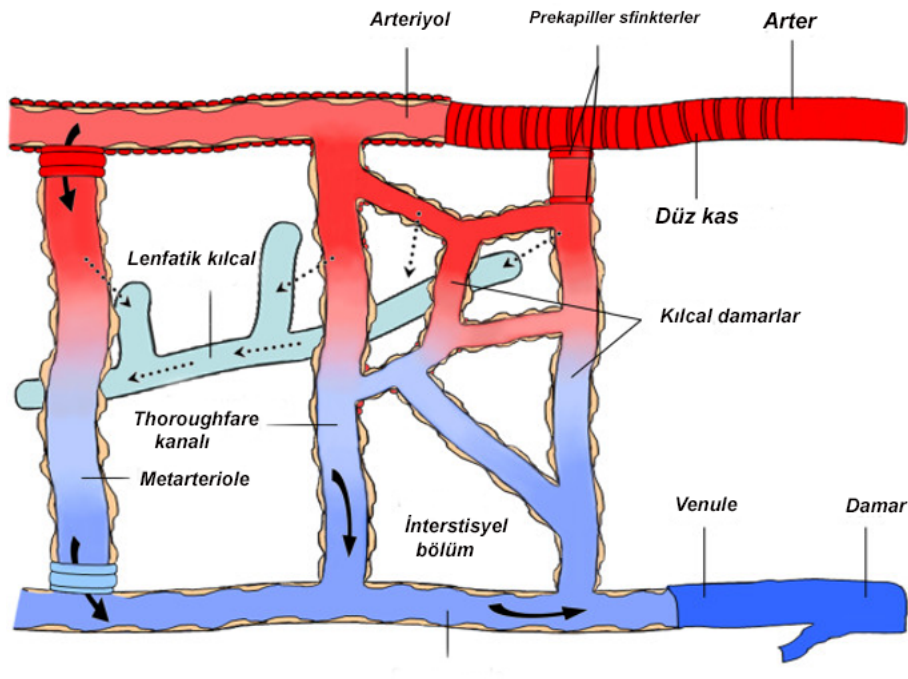
Şekil 2.6. İnterstisyel sıvı, makromoleküller ve kan damarlarından ekstravaze olan immün hücreler lenfatik kılcal damarlar tarafından toplanmaktadır [48].

Akciğer kan damarlarının mikrosirkülasyonu, dolaşımdaki kandan akciğerin perimikrovasküler dokusuna az miktarda sıvı sızmasına izin verme eğilimindedir. Normalde, bu sıvı pulmoner lenfatik sistem tarafından etkin bir şekilde uzaklaştırılır, böylece sıvı alveol duvarlarında birikmez veya hava boşluklarını dolduramaz [49]. Venöz basınçtaki bir artış, kandan sıvı transüstasyon hızını arttırmaktadır ve sonuçta lenfatik sistemin sıvıyı uzaklaştırma yeteneğini aşmakta ve ödem ile sonuçlanmaktadır [50]. Lenfatik sistem, alveollerde sıvı birikmeden önce akışta %300'lük bir artışa neden olabilmektedir [51].

2.4. MİKRODOLAŞIM

Mikrosirkülasyon, kan damarlarının çapının yaklaşık 5 ila 100 μm arasında değiştiği mikro damarlardan oluşan sistemik dolaşımın terminal vasküler ağıdır. Bu mikro damarlar arteriyoller, postkapiller venüller, kılcal damarlar ve bunların (alt) hücresel bileşenlerinden oluşmaktadır [52, 53]. Bir ila üç kat düz kas hücreleri ile sarılmış endotel tüpleridir (Şekil 2.7) [54]. Kan ve vücut dokuları arasında ısı, solunum gazları, besinler, atık ürünler, su ve hormonların taşınması ve değişimi bu mikrodamar ağında gerçekleşmektedir. Mikrovaskülatürde akan kan aynı zamanda lökositleri ve lenfositleri doku hedeflerine taşır ve enflamatuvar ve bağışıklık hücrelerinin alışverişi burada kan ve doku arasında gerçekleşmektedir.

Mikrodamarlar ayrıca periferik vasküler direnç, vasküler kapasitans ve kan basıncının düzenlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadırlar. Vücudun doku ve organlarına kan akışının kontrolünden sorumlu efektörlerdir [55].



Şekil 2.7. Mikro dolaşım bileşenleri [56]

Birim zaman başına mikrovasküler kan akışının amacı, doku ve kan bölmeleri arasında gerekli madde alışverişini sağlamaktır. Bunu gerçekleştirmenin iki temel yolu da difüzyon ve filtrasyondur. Basit difüzyon, solunum gazları için kantitatif olarak en önemli kılcal değişim aktivitesidir [57].

2.5. PULMONER DOLAŞIM

Pulmoner dolaşım, kalp, akciğerler ve sırt arasında kan ve diğer doku sıvılarını değiştirme işlevi gören geniş bir atardamar, damar ve lenfatik ağ içermektedir [58].

Sistem Aşağıdaki Bileşenlere Ayrılabilir:

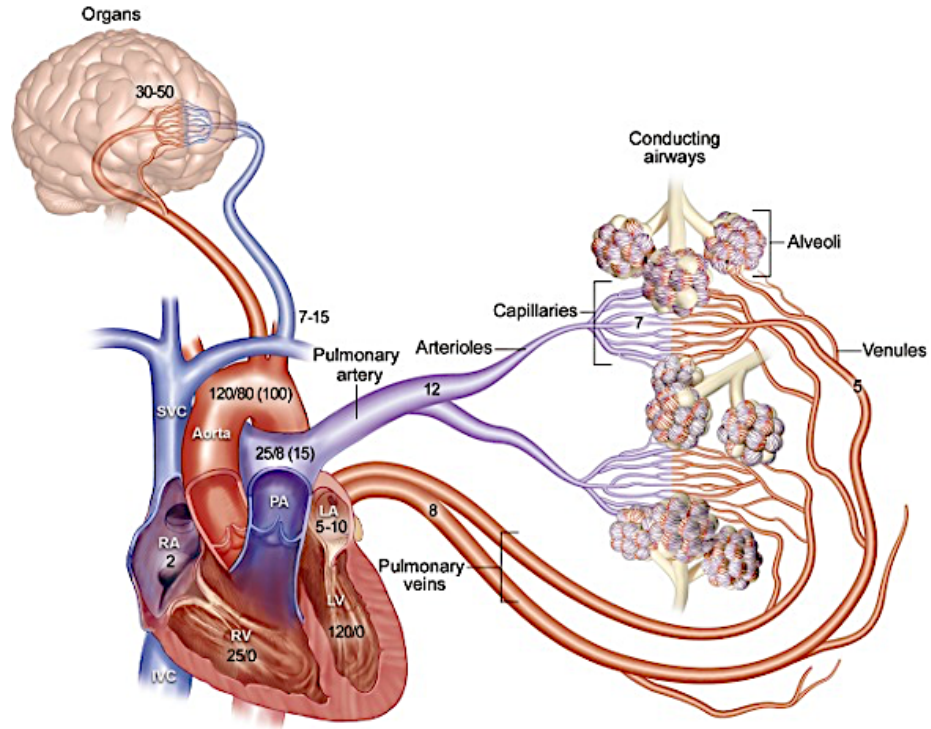
- Arter devresi, sağ ventrikülde ana pulmoner arterden kaynaklanmaktadır. Arter, arteriyol ve kılcal damar ağı oluşturmak için sağ, sol ana dallara ve diğer dallara ayrılmadan önce sadece 5 cm'lik bir kısmı vardır.
- Venöz devre, kılcal damarları boşaltan venler ile başlamaktadır. Daha küçük damarlar oluşturmak ve sol atriyuma akan ana pulmoner damarları oluşturmak için birleşmektedirler.
- Lenfatikler, kuru alveolar membranın korunmasında ve pulmoner dolaşımında doku sıvısının birikmesini önlemede önemli bir rol oynamaktadır [58].

2.5.1. Pulmoner Dolaşım Fonksiyonları

1. Pulmoner arterler karışık venöz kan taşımaktadır. Pulmoner arterlerden, oksijensiz kan, büyük bir gaz değişiminin meydana geldiği alveolar / kılcal ünitelerden kanalize edilmektedir. Sistemik dolaşıma dağıtım için pulmoner venler tarafından sol kalbe geri dönmektedir.
2. Pulmoner vaskülatür ayrıca kanı filtrelemeye, mikroembolileri gidermeye yardımcı olmaktadır. Çeşitli vazoaktif hormonların metabolik düzenlenmesine katılmaktadır.
3. Endotel, interstisyel sıvı homeostazını sağlamak için proteinlerin, çözünenlerin ve sıvıların hücre dışı ekstrasvazyonunu aktif olarak düzenleyen sıkı bir bariyer oluşturmaktadır [59].

Pulmoner dolaşım, düşük basınçlı, yüksek akışlı bir devredir [51]. Sistemik dolaşımdan farklı olarak pulmoner dolaşım, pulmoner arter (ortalama basınç 12 ila 20 mm Hg) ve sol atriyum (7–12 mm Hg) arasında yalnızca küçük bir basınç farkı olan düşük basınçlı bir sistemdir (Şekil 2.8) [58]. Bu yapıda sıvının pulmoner damarlardan interstisyel boşluğa geçmesi engellenmiştir. Sağ ventrikül düşük gaz değişimine uyarlanmıştır [60]. Pulmoner ve sistemik damar sistemi arasındaki önemli bir fark, hipoksiye verilen yanıt olmaktadır. Pulmoner sistemde hipoksi, kanın daha iyi ventilasyon bölgelerine ulaşmasını sağlar. Bu mekanizma alveolar-arteriyel dengeyi korur ve böylece bölgesel hastalık durumlarında ventilasyon-perfüzyon farklılıklarını en aza indirerek akciğerin en verimli şekilde

oksijenlenmesini sağlayarak bölgelere kan akışını sağlamaktadır [61]. Düşük basınç nedeniyle, pulmoner dolaşım mekanik etkilere karşı hassas bir yapıdır [60, 62].



Şekil 2.8. Sistemik ve pulmoner dolaşım ile çeşitli seviyelerde basınç ölçümleri numaralandırılmıştır. SVC, superior ven içi boş; PA, pulmoner arter; RA, sağ atriyum; LA, sol atriyum; LV, sol ventrikül; RV, sağ ventrikül; IVC, inferior ven [63].

2.5.2. Pulmoner Kan Akışı

Alveol duvarlarındaki kılcal damarlar, içlerindeki kan basıncı ile şişmektedir, aynı zamanda dış taraftaki alveolar hava basıncı ile sıkıştırılmaktadır. Akciğer alveollerinde hava basıncı, kılcal damar kan basıncından daha büyük olduğunda, kılcal damarlar kapanmakta ve kan akışı olmamaktadır. Yerçekimi sayesinde akciğerin tepesinden tabana kadar hidrostatik bir basınç gradyanı vardır. Bu durum akciğerin tabanından akciğerin tepesine kıyasla 5 kat daha fazla kan akışını

sağlamaktadır. Pulmoner kılcal basınca (Pcp) ve pulmoner alveolar hava basıncına (Ppac) bağlı olarak üç pulmoner kan akımı bölgesi tanımlanabilmektedir [58, 64].

2.6. PULMONER ÖDEM

Pulmoner ödem, akciğer dokusu sıvısının oluşumu ve geri akışı arasında, akciğer lenf ve ven damarları yetmezliği tarafından masif doku sıvısının emilmesine yol açan dengesizliktir [65]. Pulmoner ödem, akciğerin ekstravasküler bölümlerinde anormal sıvı birikmesi olarak da tanımlanabilir [66]. Akciğerdeki nispi intravasküler ve ekstravasküler sıvı miktarları, çoğunlukla kapiller membranın geçirgenliği ve ayrıca onkotik basınç tarafından kontrol edilir. Sıvı, akciğerlerin interstisyumuna ve son olarak luang kılcal damarından alveollere geçer ve burada birikir, bu da ciddi pulmoner ventilasyon ve gaz değişimi bozukluğuna yol açar [65]. Pulmoner ödem, akut hava yolu obstrüksiyonunun potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir komplikasyonudur [67].

Pulmoner ödem, sıvı filtrasyonu, süzölmüş sıvıyı interstisyel boşluktan temizlemek için lenfatik sistemin kapasitesini aştığında (= artan hidrostatik basınçlardan kaynaklanan kardiyojenik ödem) ve/veya alveolar endotel ve epitel boyunca sıvı taşınması düzensiz hale geldiğinde ortaya çıkar) [68].

2.6.1. Pulmoner Ödem Sınıflandırması

Pulmoner ödem, kardiyojenik ve nonkardiyojenik olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Her ikisi de değişen derecelerde oksijen desatürasyonu ve solunum sıkıntısı ile sonuçlanan alveollerde akut sıvı birikiminden kaynaklanır. Farklı nedenleri olmasına rağmen, kardiyojenik ve nonkardiyojenik pulmoner ödemi benzer klinik görünümleri nedeniyle ayırt etmek zor olabilir. Kardiyojenik ve nonkardiyojenik pulmoner ödem arasındaki farkları anlamak, etkili terapötik müdahalenin gerçekleşmesi için gereklidir [66].

2.6.2. Hidrostatik Ödem (Kardiyojenik Ödem)

Kardiyojenik pulmoner ödem, artan hidrostatik basınca ikincil olarak akciğerde sıvı birikmesidir. Hastalıklı veya aşırı çalışan bir sol ventrikül akciğerlerden aldığı kanı yeterince pompalayamadığında, kalpteki basınç yükselir. Artan basınç, sıvıyı kan damarı duvarlarından hava keselerine doğru iter [69]. Bu, pulmoner ödemin en yaygın şeklidir. Sol taraftaki basıncın artmasına ve kalbin sol tarafında kan birikmesine katkıda bulunan tüm faktörler (miyokard enfarktüsü, sistemik hipertansiyon veya sol taraflı kapak lezyonu) kardiyojenik pulmoner ödeme neden olabilir [70, 71].

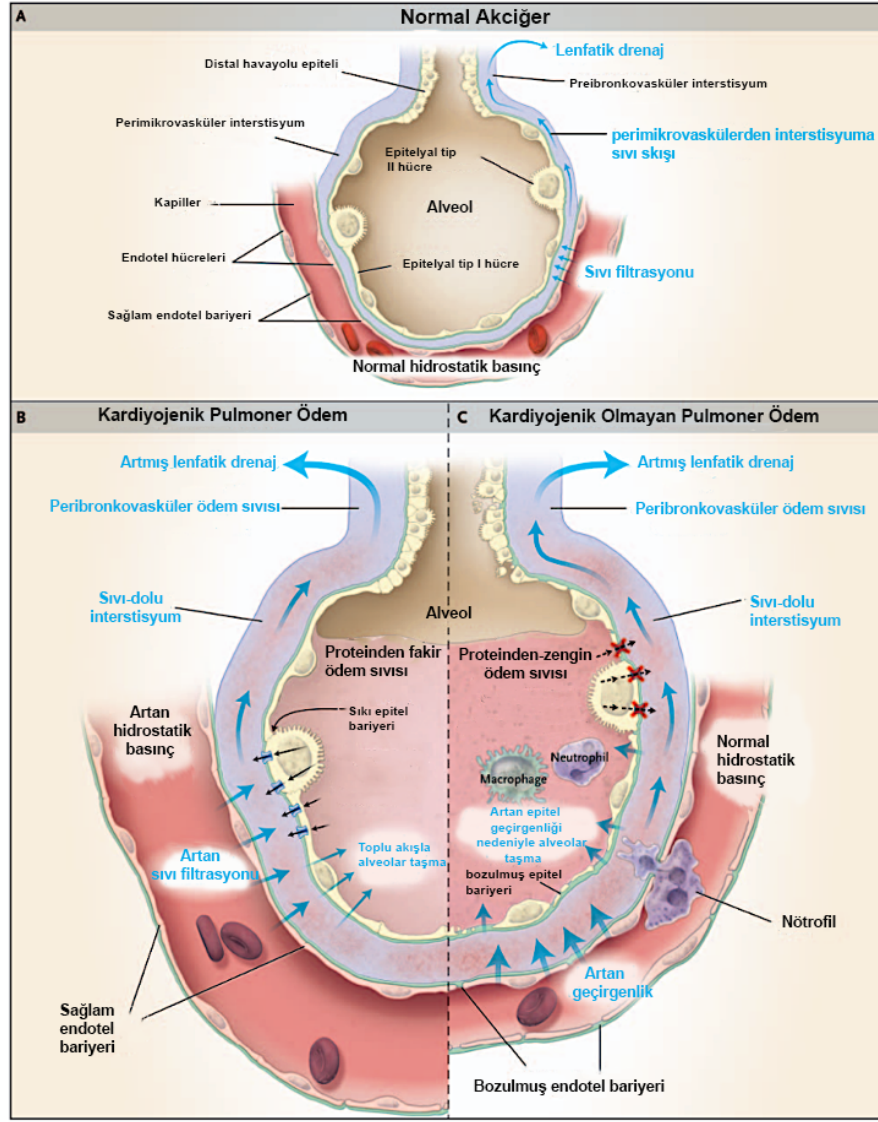
Akciğer mikro sirkülasyonu boyunca sıvı filtrasyonu için hidrostatik kuvvet, pulmoner kılcal damarlardaki hidrostatik basınca yaklaşık olarak eşittir ve bu protein ozmotik basınç gradyanı ile kısmen dengelenir. Pulmoner kapillerlerdeki hidrostatik basınçtaki hızlı artış, transvasküler sıvı filtrasyonunun artmasına neden olur (Şekil 2.9B). Pulmoner kılcal damarlarda artan hidrostatik basınç, genellikle artan sol ventrikül diyastol basıncı ve sol atriyal basınçtan kaynaklanan pulmoner venöz basıncın yükselmesinden kaynaklanır. Sol atriyal basıncın hafif yükselmeleri (18 -25 mm Hg), perimikrovasküler ve peribronkovasküler interstisyel boşluklarda ödeme neden olur. Sol atriyal basınç daha da yükseldikçe (>25 mm Hg), ödem sıvısı akciğer epitelini geçerek alveolleri proteinden fakir sıvıyla doldurur [72].

2.6.3. Geçirgenlik Ödem (Kardiyojen Olmayan Ödem)

Kardiyojenik olmayan pulmoner ödem, akciğerin damar geçirgenliğindeki artıştan kaynaklanır, bu da akciğer interstisyumuna ve hava boşluklarına sıvı ve protein akışının artmasına neden olur (Şekil 2.9C) [72]. Kardiyojenik olmayan pulmoner ödem, doğrudan veya dolaylı bir patolojik hasarın sonucu olarak ortaya çıkar [71]. Kardiyojenik olmayan pulmoner ödem (NCPE), patolojik kalp hastalığı ve sol atriyal basınçta yükselme olmaksızın ortaya çıkabilir [73]. NCPE' nin tartışmasız en bilinen şekli akut solunum sıkıntısı sendromudur (ARDS). NCPE'nin kapsamı ARDS'den çok daha geniştir. Yüksek irtifa pulmoner ödemi, nörojenik pulmoner ödem, opioid doz aşımı, salisilat toksisitesi, pulmoner emboli ve reekspansiyon pulmoner ödemi,

reperfüzyon pulmoner ödemi ve transfüzyona bağı akut akciğer hasarı (TRALI) gibi diğer etiyolojileri içerir [74].

Artan geçirgenlik pulmoner ödemi (IPPE) kardiyak kaynaklı değildir ve hidrostatik veya onkotik basınç gradyanında herhangi bir primer değişiklik olmaksızın alveolar-kapiller endotelial membranın geçirgenliğinin artmasına neden olur. Endotel zarının artan geçirgenliği, sıvı ve proteinin interstisyel boşluğa ve alveollere süzülmesine izin verir. NCPE, yüksek bir protein içeriğine sahiptir, çünkü vasküler membran, plazma proteinlerinin dışı doğru hareketine karşı daha geçirgendir. İnterstisyumda ve intra-alveolar boşlukta biriken proteince zengin sıvının protein/plazma oranı 0,85'ten fazladır. Birikmiş pulmoner ödemin net miktarı, sıvının akciğere filtrelenme hızı ile sıvının hava boşluklarından ve akciğer interstisyumundan uzaklaştırılma hızı arasındaki denge ile belirlenir [75].



(Şekil 2.9) Normal akciğer ve ödemli akciğerlerin görüntüsü, Normal akciğer (A) Normal akciğerde sıvı, hidrostatik ve protein ozmotik basınçları arasındaki net farkın yanı sıra kılcal membranın geçirgenliğine göre vaskülerden interstisyel boşluğa sürekli olarak dışarı doğru hareket eder. kardiyojenik ödem (B) Akciğer interstisyel basıncı plevral basıncı aştığında, sıvı visseral plevra boyunca hareket ederek plevral efüzyonlar oluşturur. Kapiller endotelin geçirgenliği normal kaldığından, dolaşımdan süzülen ödem sıvısı düşük protein içeriğine sahiptir. kardiyojenik olmayan ödem (C), doğrudan veya dolaylı akciğer hasarı (akut respiratuar distress sendromu dahil) nedeniyle mikrovasküler membranın geçirgenliği arttığında ortaya çıkar ve vasküler boşluktan ayrılan sıvı ve protein miktarında belirgin bir artışa neden olur [72].

2.6.4. Teşhis

2.6.4.1. Fiziksel Muayene

Kardiyojenik pulmoner ödem fizik muayenesi, muayenede, ilişkili hipoksi ile birlikte giderek kötüleşen dispne, takipne ve raller (veya raller) hem kardiyojenik hem de kardiyojenik olmayan pulmoner ödem için ortak klinik özelliklerdir. Benzer şekilde üfürüm, juguler venöz basınç artışı, periferik ödem varlığı kardiyak etiyoolojiye işaret edebilir. Kardiyojenik pulmoner ödemde ince raller duyulur. Ekspirasyon sırasında kapanan küçük hava yollarının aniden açıldığı inspirasyon fazında duyulurlar. Kardiyojenik olmayan akciğer ödemi fizik muayenesin de ise kardiyojenik olmayan akciğer ödemi olan hastalarda ateş, balgamlı öksürük, olası pnömoniye işaret eden nefes darlığı, yakın zamanda geçirilmiş travma, kan transfüzyonu gibi enfeksiyon semptomları, bu hastalar akut solunum yolu hastalığına ilerleyebileceğinden dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir [76, 77].

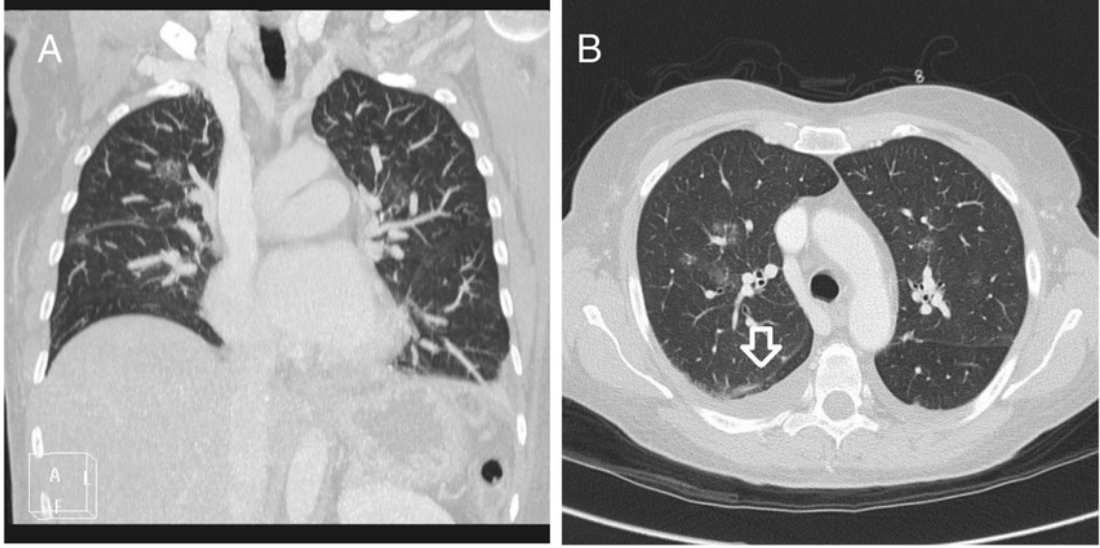
2.6.4.2. Akciğer Ödemi Laboratuvar Testi:

Elektrokardiyografi ve troponin seviyeleri ile başlayan laboratuvar incelemeleri, akut miyokard enfarktüsünün göstergesiye faydalıdır. Beyin natriüretik peptidi (BNP) veya öncüsü proBNP'nin aminoterminal parçasının seviyesi, N-terminal proBNP, özellikle klinik olarak varlığı için yüksek bir negatif prediktif değeri olan 100 pg/ml'den düşükse tanısız olarak yardımcı olabilir [78].

Göğüs röntgeni (CXR), pulmoner ödemini doğrulamak veya ekarte etmek için en sık kullanılan invaziv olmayan tanı testlerinden biridir. Pulmoner ödemin CXR değerlendirmesinin hacim durumu, toplam kan hacmi ve diğer kalp yetmezliği göstergeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [78].

Göğüs bilgisayar tomografisinde (BT) ayrıca pulmoner ödemin non-invaziv değerlendirmesinde kullanılmıştır ve akciğer sıvı içeriğindeki değişiklikler için eşdeğer değerlendirme de akciğer yoğunluğunun kantitatif değerlendirmesine izin verir. Asiner gölgeleri ve hava bronkogramlarını geleneksel radyografiden daha net bir şekilde saptayabilir. Yapıların üst üste binmesinin ortadan kaldırılması nedeniyle,

ödemin özel dağılım modeli enine kesitte görüntülenebilir. BT akciğer yoğunluğu ölçümlerinin, kötüleşen pulmoner ödem ile arttığı gösterilmiştir. Erişkin respiratuar distres sendromu olan hastalarda BT, akciğerin mikrokistik dönüşümünü saptayabilir, bu da daha kötü bir prognoza işaret eder (Şekil 2.10) [78, 79].



Şekil 2.10. Pulmoner ödemi gösteren göğüs BT taraması [80].

2.6.5. Tedavi

Pulmoner ödemin tedavisi altta yatan nedene ve ilerleme hızına bağlıdır. Her hastanın klinik durumu genel olarak hem CPE hem de NCPE' deki terapötik önlemler, akciğerde aşırı sıvının neden olduğu işlevsel bozukluğu tersine çevirmeye yönelik olanlardan ve nedensel mekanizmayı düzeltmeye yönelik olanlardan oluşur. Kardiyojenik pulmoner ödemde, terapötik müdahalenin amacı, yüksek mikrovasküler hidrostatik basıncın azaltılması ve pulmoner vasküler yatak hacminin azaltılmasıdır. NCPE'de tedavinin en önemli yönü, altta yatan hastalığı tanımlamak ve kontrol etmek ve/veya tedavi etmektir. Diüretikler, furosemidin intravenöz uygulamasından birkaç dakika sonra akciğer fonksiyonunda iyileşme ve pulmoner kapiller kama basıncında bir azalma meydana gelir. Furosemid, aşırı sıvı yüklenmesine ve tutulmasına karşı kullanılabilir. Pulmoner ödem (Nitrogliserin) tedavisinde diüretiklere adjuvan tedavi olarak vazodilatörler eklenebilir. Dobutamin ve dopamin

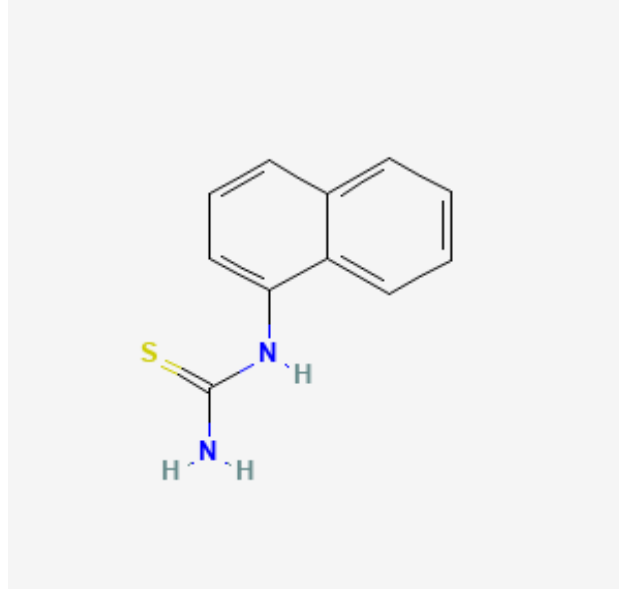
gibi inotropolar, düşük SBP ve doku hipoperfüzyon belirtileri ile ilişkili olduğunda pulmoner konjesyonun tedavisinde kullanılır [81].

Oksidatif stres, miyokard hasarı, sepsis, pulmoner ödem, böbrek ve karaciğer yetmezliği ve artmış mortalite gibi komplikasyonlarla ilişkili olabilir. Melatonin güçlü bir antioksidandır ve birçok çalışmada melatoninin oksidatif/nitrozatif strese karşı korumada bazı “klasik” antioksidanlardan (örneğin E ve C vitaminleri) daha etkili olduğu gösterilmiştir [10].

BÖLÜM 3

α -NAFTİLTİYOÜRE (ANTU)

1-(1-naftil)-2-tiyoüre veya α -naftiltiyoüre (ANTU), renksiz, kokusuz, kristal toz şeklinde kimyasal bir bileşiktir. Kimyasal formülü $C_{11}H_{10}N_2S$ olup, moleküler ağırlığı 220,28'dir. (Şekil 3.1)'de α -naftiltiyoürenin kimyasal yapısı gösterilmektedir [82, 83].



Şekil 3.1. α -naftiltiyoürenin kimyasal yapısı [84].

ANTU tarafından indüklenen ödem, toksik bir maddenin neden olduğu akciğer ödeminin klasik örneğidir [85]. ANTU çok düşük dozlarda öldürücü olduğu için fare zehiri olarak geliştirilmiştir [86, 87]. ANTU yaygın plevral efüzyon ve pulmoner ödem ile karakterize, doza ve zamana bağlı bir inflamatuvar reaksiyon oluşturan kimyasal bir ajandır [88, 89]. Plevral efüzyon ve akciğerdeki endotel hücrelerinin ve pnömositlerin hasarından kaynaklanan pulmoner ödem nedeniyle akciğer ağırlığında artış gözlenmektedir [90]. Akciğerdeki kılcal endotel hücre hasarı, ANTU toksisitesinin birincil nedenidir. Endotelin yaralanması, endotel bariyerinin nihai

kaybına yol açmaktadır [91]. Bu bileşik suda çözünmemesine rağmen, bağırsaklardan kolayca emilir. Tüm hayvanlar ANTU' ya duyarlıdır ancak öldürücü dozlar büyük ölçüde farklılıklar göstermektedir (Çizelge 3.1) [92].

Çizelge 3.1. ANTU için öldürücü dozlar [92].

HAYVANLAR	LD mg/Kg
Sıçan	3
Köpek	10
Domuz	25
At	30
İnek	50
Kedi	75
Kümes Hayvanı	2500

Işık ve elektron mikroskopisi ile yapılan morfolojik çalışmalar, ANTU toksisitesinin birincil hücresel hedefinin akciğerin kapiller endotelial hücreleri olduğunu göstermektedir [93, 94]. Endotel yaralanması, hücre yüzeyinin kabarması ve sonunda endotel bariyerinin kaybıyla birlikte görülür. Bu endotelial bariyer bütünlüğünün kaybı, artan kapiller geçirgenlik ve alveolar ödem üretimi ile sonuçlanmaktadır. ANTU uygulamasından yaklaşık 1 saat sonra pulmoner ödem ve plevral eksüda oluşumu başlar, 2-4 saatte maksimuma ulaşır ve sonra ya düzelir ya da ölüme neden olur [95]. ANTU modelinde plevral efüzyon oluşum mekanizması, akciğer interstisyel sıvısının visseral plevra yoluyla plevral boşluğa drenajıdır. Bu, interstisyel akciğer boşluğu sıvı ile doyurulduğunda meydana gelir [96]. Bu nedenle plevral efüzyon miktarı pulmoner ödem gelişimi ile yakından ilişkilidir [97].

ANTU'nun pulmoner doku üzerindeki kesin mekanizmaları net olarak gösterilmemiştir. Pulmoner vasküler yataktan ve hava yollarından kaynaklanan vazoaaktif maddelerin ANTU' nun neden olduğu pulmoner ödeme katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir. Bu hasara kısmen araziidonik asit metabolitlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir [98]. Araziidonik asit metabolitlerinin yanı sıra, pulmoner vasküler yataktan ve hava yollarından kaynaklanan diğer bazı

vazoaktif maddelerin de ANTU' nun neden olduğu pulmoner ödeme katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir [98]. Mevcut kanıtlar, ANTU' nun pulmoner toksisitesinin, en azından kısmen, ANTU' nun bir sitokrom P-450 monooksijenaz katalizli metabolitinin pulmoner makromoleküllere kovalent bağlanmasından kaynaklandığını göstermektedir [99].

Akciğer toksisitesi, tioüenin mükemmel bir substrat olduğu flavin içeren monooksijenaz enzimleri (FMO' lar) tarafından faz I metabolizması sırasında gerçekleştirilen metabolik aktivasyonu gerektirir. Heterofilik atomlar içeren lipofilik bileşiklerin FMO oksijenasyonu, azaltılmış farmakolojik ve toksikolojik özelliklere sahip daha polar, kolayca atılan metabolitler üretir. Bununla birlikte, sülfidler ve disülfidler, tiyoeterler, tiyoller ve tiyoüerler gibi küçük kimyasal grupların FMO aracılı S-oksijenasyonu bu kuralın bir istisnasını temsil eder ve genellikle bir ara sülfonik asit yoluyla bir sülfoksit üretir. Daha sonra sülfonik ve sülfonik asitlere oksitlenebilen sülfonik asitler, son derece reaktif elektrofillerdir ve ana ilaçla veya glutasyon (GSH) veya diğer sülfhidriller gibi nükleofillerle, redoks dengesini bozan ve indükleyen disülfidler üretmek için hemen reaksiyona girdiği düşünülmektedir [5, 100].

ANTU' nun bazı enzim sistemleri üzerinde ters etki yapması olasıdır. ANTU' nun yanı sıra fenil tiyoüre ve tiyoüenin bir özelliği olabilen antioksidan etki de bir rol oynayabilir. ANTU' nun vücutta emiliminde rol oynayan faktörler bilinmemektedir. Sudaki çok düşük çözünürlüğüne rağmen ANTU, ister oral ister parenteral yolla verilmiş olsun, vücutta oldukça hızlı bir şekilde emiliyor gibi görünmektedir. ANTU' nun toksisitesi bir dereceye kadar emilim hızına bağlıdır: ne kadar hızlı emilirse, hayvanın öleceği o kadar kesindir [101].

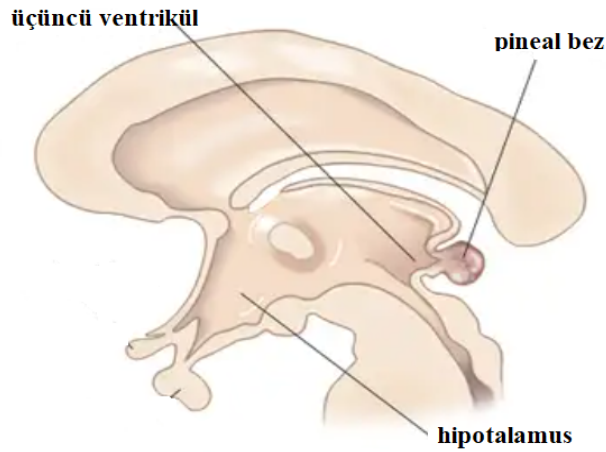
Sıçanlarda intraperitoneal ANTU' nun neden olduğu ödem, 3-50 mg/kg aralığında dozla ilişkilidir. ANTU' nun sıçanlara intraperitoneal uygulanmasından 4-5 saat sonra pulmoner ödem oluşur. 5 mg/kg doz oranında ANTU uygulanan yetişkin albino sıçanlarda akciğer ödemi gelişmiştir. 6 saat sonra, ANTU uygulanan sıçanlarda pulmoner ekstrasvasküler sıvı %50 oranında artış göstermiştir ve pulmoner efüzyon hacmi 3,4-6,1 mL'ye ulaşmıştır. ANTU' nun en karakteristik özelliği

zehirlenmiş sıçanlarda hipokseminin olmamasıdır. 10 mg/kg dozda intraperitoneal bir ANTU enjeksiyonundan sonra 25 saat içinde sıçanların pulmoner arteriyollerinde ve kılcal damarlarında ve venüllerinde kolloidal karbona karşı geçirgenlik artmıştır. Gözlenen ilk değişiklik interstisyel ödem olmasına rağmen, 2 saat içinde endotel hücrelerindeki kanama ve kabuklanma tespit edilmiştir. 50 mg/kg dozu takiben 6 saat içinde elektron mikroskopisinde epitelyal hasar belirgin olarak gözlemlenmiştir. 4 saat önce ANTU uygulanan sıçanlardan izole akciğerlerde anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünün azaldığı ve azalmanın kapsamının uygulanan ANTU dozu ve perfüzyon hızı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [82, 102].

BÖLÜM 4

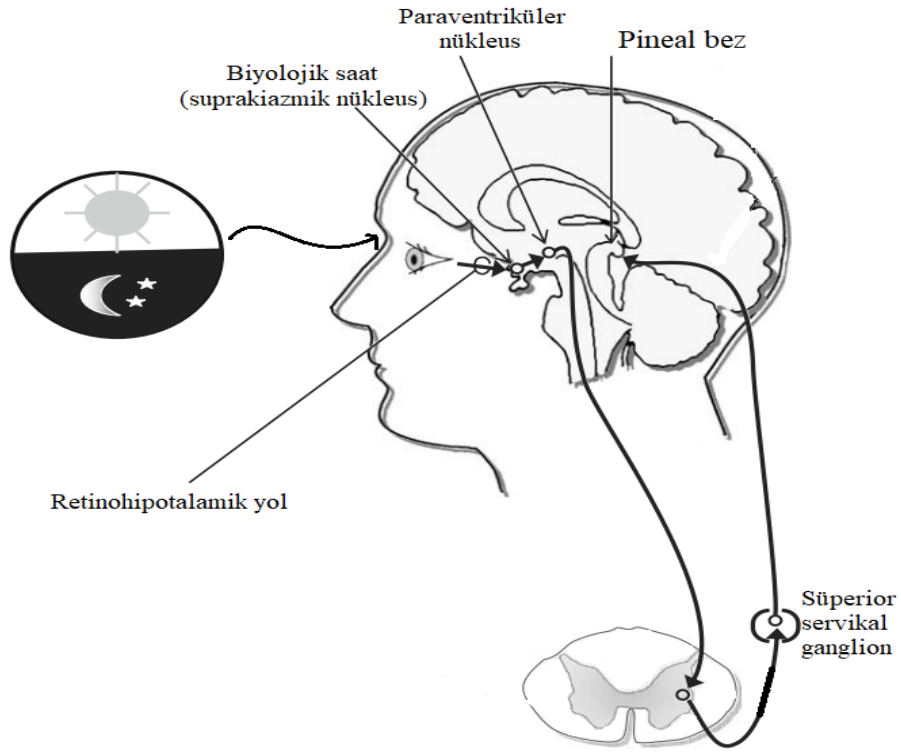
MELATONİN

Pineal bez, üçüncü ventriküle doğrudan bağlanan ve sirkumventriküler organ (CVO) olarak adlandırılan, sirkadiyen ritmi düzenleyen yaklaşık 1 cm çapında kırmızımsı renkte olan küçük ve bir parça halinde beynin bir uzantısıdır (Şekil 4.1) [103]. Sirkadiyen ritim, canlı organizmaların temel bir özelliği olup biyolojik işlevlerin günün veya yılın belirli bir zamanında gerçekleşmesini sağlar. Örneğin kardiyovasküler sistem, uyku/uyanıklık durumu, açlık/tokluk durumu, endokrin ve solunum sistemin gibi fizyolojik olayları etkiler [104].



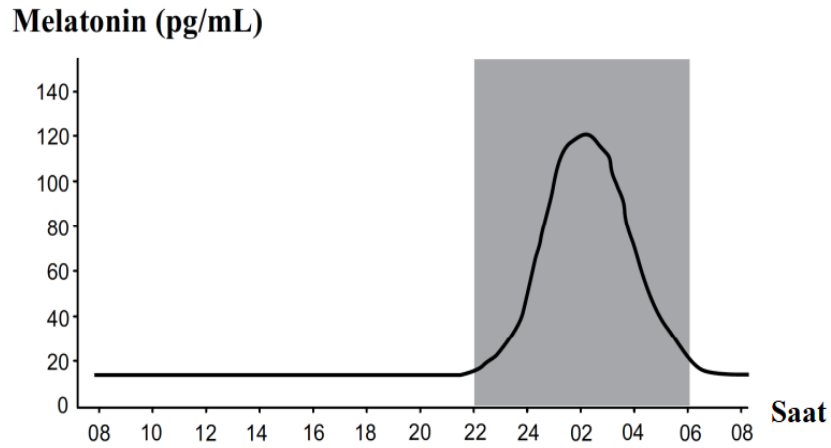
Şekil 4.1. Pineal bez [103].

Melatonin sentezi ve salgılanması için ışık önemlidir. Çünkü ışık varlığında melatonin sentezi baskılanırken, karanlıkta bu sentez artar. Ortamın aydınlık ya da karanlık olduğu hakkındaki bilgi melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri ile başlar. Daha sonra retinahipotalamik yol aracılığı ile suprakiazmik nükleusa ardından paraventriküler nükleusa daha sonra intermediolateral kolonundan, superior servikal ganglionlara ve son olarak epifiz bezine aktarılır. Sonuç olarak melatonin sentezinin yapılacağı veya baskılanacağı bilgisi alınmış olur (Şekil 4.2) [105, 106]



Şekil 4.2. Retinohipotalamik yol ve melatonin sentezi döngüsü [106].

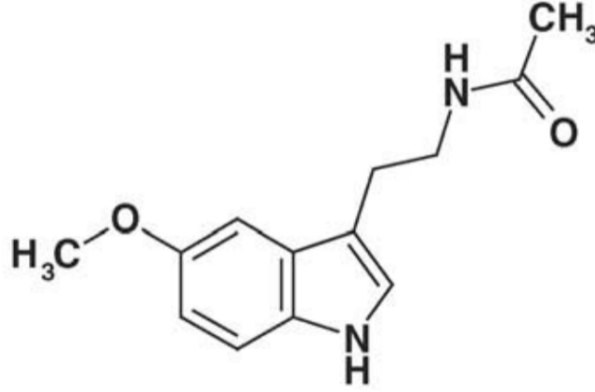
Şekil 4.3'te görüldüğü gibi melatoninin %80'i gece yarısından hemen sonra yaklaşık gece saat 2 ile 4 arasında sentezlenmeye başlar. Bu saat aralığında melatoninin serum konsantrasyonu 80-120 pg/ml arasında değişir. Gecenin ikinci yarısından sonra ise melatoninin salgılanması giderek azalmaya başlar ve melatoninin serum konsantrasyonu 10-20 pg/ml'a kadar düşer [107].



Şekil 4.3. Melatonin plazma konsantrasyonu (gri alan gece vaktini gösterir) [107].

4.1.MELATONİN BİYOSENTEZİ

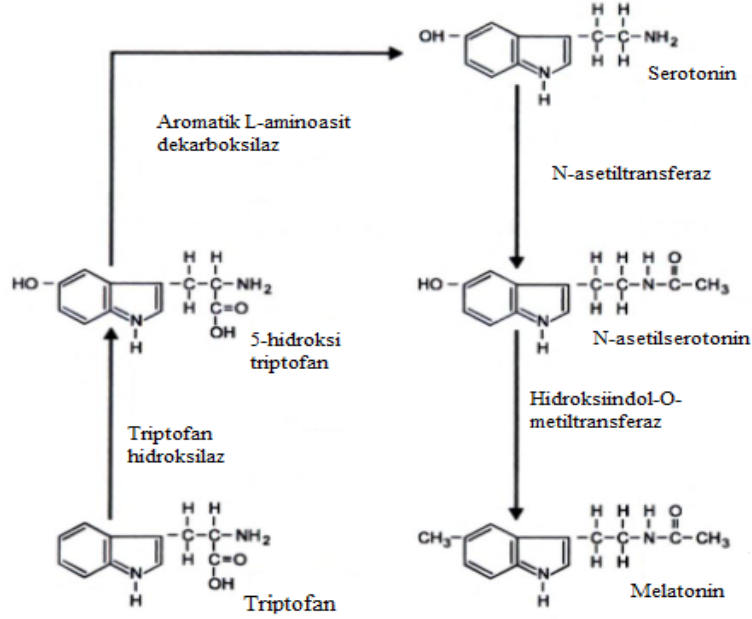
1958 yılında Lerner ve arkadaşları N-asetil-5-metoksitriptamini sığır pineal bezinden izole edip melatonin olarak adlandırmıştır [108]. (Şekil 4.4)'de melatoninin kimyasal yapısı verilmiştir [109].



Şekil 4.4. Melatoninin kimyasal yapısı [109].

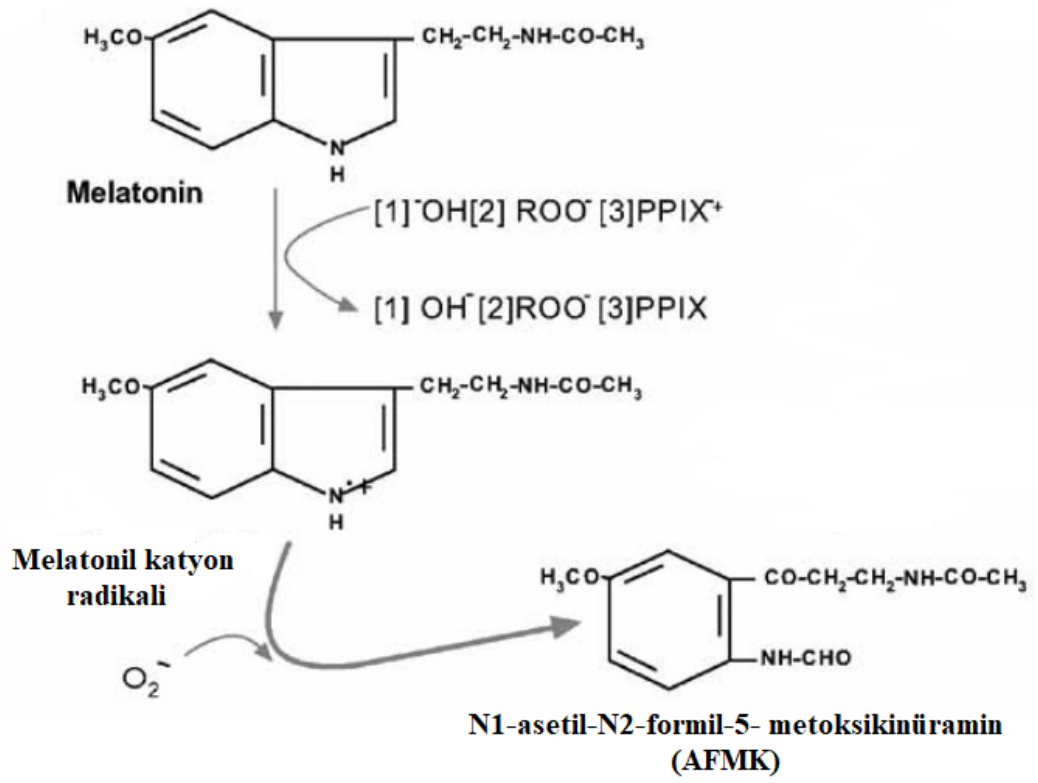
Melatonin esasında pineal bez kökenli bir hormondur. Ancak ekstrapineal melatonin kaynakları da mevcuttur. Ekstrapineal melatonin kaynakları retina, harder bezi, lökosit, trombosit, deri ve omurgalılarda gastrointestinal sistemde varlığı bildirilmiştir [110].

Melatonin, pinealosit hücrelerinde esansiyel aminoasitlerden biri olan triptofandan sentezlenir. Triptofan, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofan sentezlenir. 5-hidroksitriptofan ise dekarboksilaz ile serotonine dönüştürülür. Serotoninden melatonin sentezlenirken iki enzim görev yapar. Serotonin önce N-asetiltransferaz enzimi ile N-asetilserotonine dönüştürülür. N-asetiltransferaz enzimi melatonin sentezinde hız sınırlayıcı basamaktır. Daha sonra N-asetilserotonin hidroksiindol-O-metil transferaz enzimi aracılığı ile melatonin sentezlenmiş olur. Asetilserotonin hidroksiindol-O-metil transferaz enzimi aynı zamanda asetilserotonin-O-metiltransferaz olarakta adlandırılır (Şekil 4.5) [111, 112].



Şekil 4.5. Melatoninin sentez basamakları [112].

Melatonin güçlü bir serbest radikal temizleyicidir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($OH\cdot$) iyonu, peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$), singlet oksijen (1O_2), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ve peroksil radikalini gibi molekülleri detoksifiye eder. Melatonin, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerini destekler. Ayrıca melatonin hücrelerdeki glutamilsistein sentazı uyararak glutatyon üretimini uyararak seviyesini artırır ve oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş formuna (GSH) geri dönüştüren glutatyon redüktazın aktivitesini artırır. Melatoninin antioksidan özelliği arasında lipid peroksidasyonu engellediği ve oksidasyon sonucu oluşan DNA hasarına karşı onarım enzimlerinin aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir [113, 114]. Melatonin 1O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ gibi serbest radikallerin varlığında antioksidan özelliğe sahip N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşturur. AFMK bir ara metabolittir ve melatonin gibi antioksidan özelliğe sahip bir bileşiktir (Şekil 4.6) [115].

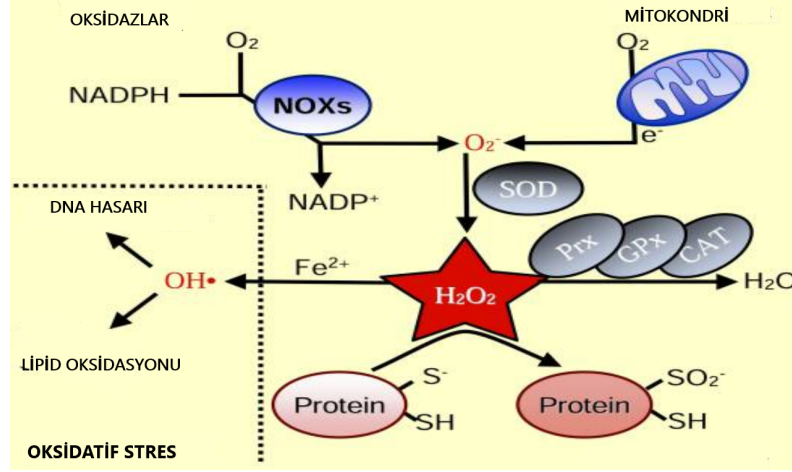


Şekil 4.6. Melatoninin antioksidan mekanizması [115].

BÖLÜM 5

OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres, biyokimyasal süreçler sonucunda reaktif türlerin oluşması, çevresel kirlenimler ve radyasyon gibi zarar verici ajanlara maruz kalma veya endojen antioksidan sistemlerinin yetersiz kalması sonucunda oluşabilen hücre ortamının redoks özelliklerindeki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır [116]. Serbest radikaller bir dış yörüngede eşleşmemiş elektronu olan reaktif kimyasallardır [117]. Kimyasal olarak indirgenmiş oksijen türevlerinin fazlalığına reaktif oksijen türleri (ROS) denilmektedir. Diğerleri ise nitrojen veya klor bazlıdır [118]. Reaktif oksijen türleri oksidatif strese neden olarak moleküler hasar düzeyine yol açmaktadır [119]. DNA, RNA, lipidler ve proteinler gibi biyomoleküllerin yapısını bozabilir ve nükleik asit oksidasyonu ve lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir [120]. DNA, proteinler ve lipidler gibi hayati biyomoleküller zarara uğradığında oksidatif stres meydana gelir [121]. Oksidatif stres hücre yaşlanma, kardiyovasküler hastalık, akut ve kronik böbrek hastalığı, nörodejeneratif hastalıklar, maküler dejenerasyon, biliyer hastalıklar gibi çeşitli patolojik süreçlerde rol oynamaktadır [122]. Mitokondri, tüm hücrelerde ROS kaynağıdır [123]. ROS, sitoplazma, hücre zarı, endoplazmik retikulum (ER), mitokondri ve peroksisom dahil olmak üzere çeşitli hücre bölümlerinde enzimatik reaksiyonların yan ürünü olarak da üretilmektedir. Ayrıca NADPH oksidazlar gibi enzimler tarafından da üretilmektedirler [124].



Şekil 5.1. ROS oluşumunun temelleri [125].

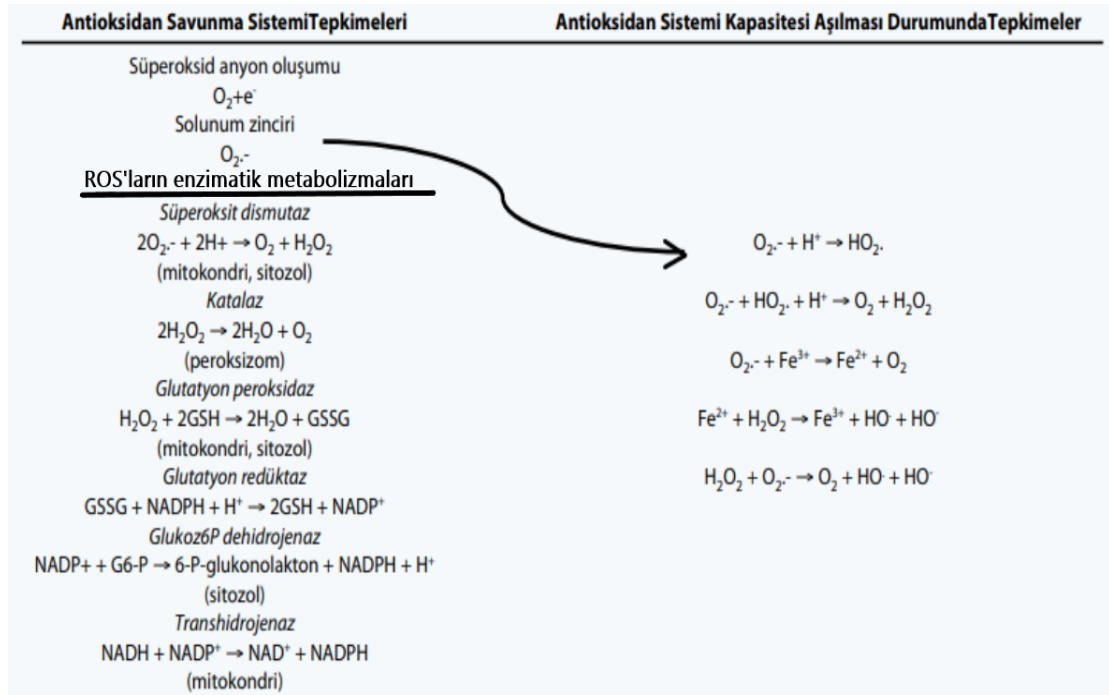
Hücre içi süperoksit (O₂⁻) esas olarak NADPH' nin oksidaz enzimleri (NOX) tarafından veya mitokondride aerobik solunum sonucu üretilmektedir. Süperoksit, süperoksit dismutazlar (SOD' lar) tarafından hızla hidrojen peroksite (H₂O₂) dönüştürülmektedir. H₂O₂, redoks sinyalini başlatmak için proteinler üzerindeki sistein kalıntılarını oksitleyebilir ya da peroksiredoksinler (PRx), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi hücrel antioksidan proteinler tarafından H₂O'ya dönüştürülebilir. H₂O₂ seviyelerinin kontrolsüz olarak artması, metal katyonları (Fe²⁺) ile reaksiyonlar sonucunda hidrosil radikalleri (OH•) oluşmaktadır. Sonuç olarak hücrel makromoleküllere geri dönüşümsüz olarak zarar vermektedir (Şekil 5.1) [125].

5.1. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi, serbest radikallerin ve metabolitlerinin oluşumunu düzenleyerek biyolojik sistemlerin ROS' tan korunmasında yardımcı olmaktadır [126]. Antioksidan savunma sistemleri kontrolsüz ROS artışını önlemektedir. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri glutatyon, A, C ve E vitaminleri ve besinlerde bulunan antioksidanlardır. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri ise süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) olarak olarak bilinmektedir [127].

5.2. ENZİMATİK ANTIOKSİDANLAR

Süperoksit radikallerine karşı birincil antioksidan enzimler arasında SOD, CAT ve GPx bulunmaktadır. Bu enzimler, ROS' un metabolik yolunda birlikte çalışırlar [127]. SOD, reaktif radikal olan O₂⁻'yi daha az reaktif radikal H₂O₂'ye dönüştürür [128]. CAT, H₂O₂ ve proton donörleri (ROOH) ile reaksiyona girerek H₂O üretmektedir. Böylece CAT, hücrelerde oksidatif strese oluşumunda rol oynayan H₂O₂ üretiminden hücreleri korumaktadır [129]. GPx, CAT ile aynı reaksiyonu katalize etmektedir. H₂O₂'yi H₂O'ya indirger fakat elektron donörü olarak indirgenmiş glutatyon (GSH) kullanmaktadır. GPX aktivitesi GSR ve GSS gibi enzimler yardımıyla oksitlenmiş glutatyonu (glutatyon disülfid, GSSG) indirgeyerek veya de novo sentezleyerek GSH üretimine bağlı olarak değişmektedir [130, 131].



Şekil 5.2. Antioksidan savunma sisteminin katıldığı tepkimeler ve eksikliklerinde oluşan oksidatif stres [132].

5.3.ENZİMATİK OLMAYAN ANTIÖKSİDANLAR

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında vitaminler (C ve E vitaminleri), β -karoten, ürik asit ve GSH, tiyol (sülhidril) grubunu oluşturan tripeptit (l- γ -glutamil-l-sisteinil-l-glisin) gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler bulunmaktadır. Suda çözünen C vitamini (askorbik asit), serbest oksijen radikallerini temizleyerek hücre içi ve hücre dışı sulu faz antioksidan kapasitesi sağlamaktadır. E vitaminin en aktif formu α -Tokoferoldür. Yağda çözünen E vitamini, hücre zarının hidrofobik iç bölgesinde yoğundur ve oksidan kaynaklı zar hasarına karşı temel savunma sağlamaktadır. Lipid peroksidasyonu sırasında üretilen peroksil radikale elektron vermektedir. E vitamini kanser hücrelerinin apoptozunu sağlamakta ve böylece serbest radikal oluşumlarını engellemektedir [133]. GSH, tüm hücre kompartımanlarında yüksek oranda bulunmaktadır. GSH/GSSG (oksitlenmiş glutatyon) oranı, oksidatif stresin önemli bir belirleyicisidir [134]. Glutatyon GSH-Px yardımıyla hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerini detoksifiye etmektedir. GSH, elektronunu H₂O ve O₂' ye indirgemek için H₂O₂' ye verir. Elektron donörü olarak NAD(P)H kullanan GSSG, GSH redüktaz tarafından tekrar GSH' ye indirgenmektedir. GSH-Px'ler hücre zarının lipid peroksidasyonundan korunması için de önemli rol oynamaktadır. İndirgenmiş glutatyon, protonları membran lipidlerine vererek onları oksidan saldırılardan korumaktadır [135]. GSH, GSH-Px ve transferaz gibi detoksifiye edici enzimler için aynı zamanda bir kofaktördür. C ve E vitamininin aktif formlarına geri dönüştürülmesinde rol oynamaktadır. GSH hücreleri apoptoza karşı korur, aynı zamanda AP-1, NF-KB ve Sp-1 gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerini de düzenleyip ve aktive etmektedir [134]. Hem karotenoidler hem de retinoik asitler (RA' lar), transkripsiyon faktörlerini düzenlemede etkilidir [136]. β -Karoten, oksidan kaynaklı NF- κ B aktivasyonunu, interlökin (IL)-6 ve tümör nekroz faktörü- α üretimini inhibe etmektedir. Karotenoidler ayrıca hücrelerin apoptozunu da etkiler. Meme karsinom hücrelerinde, retinoik asit reseptörü hücre döngüsünün durmasını, apoptozunu veya her ikisini indükleyerek büyümeyi engellediği gösterilmiştir [137].

BÖLÜM 6

GEREÇ VE YÖNTEMLER

6.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada 250-300 gr ağırlığında 70 adet wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 7 gruba (n=10) ayrıldı. Deneyler süresince $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık periyoduna sahip ortamda tutulan hayvanlar, normal musluk suyu ve standart sıçan yemi ile ad libitum olarak beslendiler.

Çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandı. (Protokol No: 2021-07-01/04). Tüm deneysel prosedürler, deney hayvanlarının kullanımına ilişkin Hayvan Etik Kurulu Yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

6.2. ÇALIŞMA TASARIMI

Çalışmanın ilk gününden itibaren gruplarda bulunan hayvanlara aşağıda belirtilen uygulamalar ve işlemler yapıldı.

1- Kontrol Grubu: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 30. gününde i.p ANTU çözücüsü (zeytinyağı) aynı hacimde verildi.

2- Sham Pinealektomi (PINX): Bu gruptaki sıçanlara sham PINX yapıldı. Melatonin çözücüsü olan etanol solüsyonu (% 0.5 'ten az olacak şekilde % 0.9 serum fizyolojik içinde seyreltilir) [138] hazırlanarak bu gruptaki sıçanlara birinci günden itibaren 30 gün boyunca i.p olarak 0.5 ml verildi.

3- PINX Grubu: Bu gruptaki sıçanlara PINX yapıldı. Sıçanlara çalışmanın 30. gününde i.p ANTU çözücüsü (zeytinyağı) aynı hacimde verildi. Melatonin çözücüsü olan etanol solüsyonu (% 0.5 'ten az olacak şekilde % 0.9 serum fizyolojik içinde seyreltilir) [138] hazırlanarak bu gruptaki sıçanlara birinci günden itibaren 30 gün boyunca i.p olarak 0.5 ml verildi.

4- ANTU Grubu: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 30. gününde zeytinyağında (4 mg/ml) süspansiyon edilmiş 10 mg/kg dozda ANTU i.p olarak enjekte edildi [139].

5- ANTU + Melatonin (MLT) Grubu: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın birinci gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT (10 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı [140, 141]. Yine bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 30. gününde zeytinyağında (4 mg/ml) süspansiyon edilmiş i.p ANTU (10 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı.

6- ANTU + PINX Grubu: Bu gruptaki sıçanlara PINX yapıldı. Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 30. gününde zeytinyağında (4 mg/ml) süspansiyon edilmiş 10 mg/kg dozda ANTU i.p olarak enjekte edildi.

7- ANTU + PINX + MLT Grubu: Bu gruptaki sıçanlara PINX yapıldıktan sonra sıçanlara çalışmanın birinci gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT (10 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. Yine bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 30. gününde zeytinyağında (4 mg/ml) süspansiyon edilmiş 10 mg/kg dozda ANTU i.p olarak enjekte edildi.

6.3. MELATONİN (MLT) ÇÖZELTİSİNİN HAZIRLANMASI VE ENJEKSİYONU

MLT, enjeksiyon öncesinde etanol içerisinde çözülerek serum fizyolojik ile uygun konsantrasyona ayarlandı. Hazırlanan bu çözelti içerisindeki etanolün final konsantrasyonunun % 0.5'den fazla olmamasına dikkat edildi [138, 142]. MLT enjeksiyonu yapılacak sıçanlara çalışmanın birinci gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT (10 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı.

6.4. ALFA-NAFTİLTIYOÜRE (ANTU) İLE AKCİĞER ÖDEMİ MODELİNİN OLUŞTURULMASI

ANTU, enjeksiyon öncesinde 4 mg/ml olacak şekilde zeytinyağında süspansiyon halinde hazırlandıktan sonra sıçanlara 10 mg/kg dozda i.p. olarak uygulandı [143]. ANTU enjeksiyonundan 4 saat sonra anestezi altına alınan sıçanların abdominal

aortasından kan örnekleri alınıp kanatıldı [144]. Toraks dikkatlice açıldı. Çevre dokularında kanama olmamasına ve efüzyon sıvısına kan karışmamasına özen gösterilerek plevral aralıkta birikmiş olan efüzyon sıvısı enjektörle çekildi. Daha sonra çevre dokulardan temizlenmiş ve çıkarılmış olan akciğerler hassas terazide tartıldı ve histolojik skorlama için kullanıldı (0-3) [145]. Efüzyon sıvısının miktarı (PE, ml), akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (LW/BW) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/BW) oranları hesaplandı ve akciğer hasarı göstergeleri olarak değerlendirildi. Akciğerler %10'luk formaldehit içinde muhafaza edildi ve histopatolojik incelemeleri yapıldı [146].

6.5. PİNEALEKTOMİ (PINX) İŞLEMİ

İntraperitoneal olarak 80 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin [147] ile anestezi altına alınan sıçanların önce iki gözü arasındaki kafatası derisine bir kesi yapıldı. Açığa çıkan kemiğin üzerindeki periost, kemikten sıyrılarak Lambda'nın ortaya çıkması sağlandı. Kafatasının üst kısmına mikro freze matkap (Proxxon MİCROMOT 50/E, Almanya) yardımı ile pensin ucunun gireceği ebatta dairesel bir kesi yapıldı. Son olarak venöz sinüs altında yer alan pineal bez pensle tek parça halinde çıkarıldı [148].

6.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

6.6.1. Numunelerin Hazırlanması

Çalışma günü akciğer dokuları derin dondurucudan alınarak MDA, GSH, SOD ve CAT analizi ile toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) hemen ve protein seviyelerini belirlemek için tartıldı. Fosfat tampon (pH:7.5) ilavesi ile %10 homojenatlar elde edildi ve numuneler 12.000 rpm'de 1-2 dakika süreyle otomatik homojenizatör (Hangzhou Bioprep-24) ile homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Akciğer dokusuna ait MDA seviyeleri bu homojenatlarda belirlendi. Daha sonra doku homojenatları +4 °C'de 5000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant elde edildi. Elde edilen süpernatantlar, GSH, SOD, CAT, TAS, TOS, OSI ve protein seviyelerini belirlemek için kullanıldı.

6.6.2. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Analizi

Akciğer Dokusu Malondialdehit (MDA) Analizi

Akciğer homojenatındaki MDA analizi Ohkawa vd. [149] tarif ettiği yönteme bağlı kalınarak yapıldı. Akciğer homojenatları, kapaklı cam tüp içerisinde %1'lik fosforik asit (H₃P₀₄) ve %0.6'lık tiyobarbitürik asit ile karıştırıldıktan sonra tüp kapaklarının üzeri alüminyum folyo ile sıkıca sarıldıktan sonra 45 dakika boyunca kaynar su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra karışım, n-bütanol ile ekstrakte edildikten sonra santrifüj işlemiyle n-bütanol fazında ayrılan pembe renk deney gruplarına göre mikropilaka kuyucuklarına yerleştirilerek ELİSA okuyucuda 535 nm dalga boyunda ölçüldü ve MDA seviyesini hesaplamak için kullanıldı. Kör olarak n-bütanol ve standart olarak tetrametoksiopropan kullanıldı. Bulgular nanomol/g yaş doku olarak sunulmuştur.

Akciğer Dokusu Redükte-Glutatyon (GSH) Analizi

Akciğer süpernatantındaki GSH analizi Ellman'ın [150] tarif ettiği yönteme bağlı kalınarak yapıldı. Akciğer süpernatantları deproteinize edildikten sonra ependorf tüp içerisinde 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona sokularak sarı-yeşil renk oluşması için inkubasyona bırakıldı. Oluşan renkli ürün deney gruplarına göre mikropilakalara yerleştirilerek ELİSA okuyucuda 410 nm dalga boyunda ölçüldü ve GSH seviyesini hesaplamak için kullanıldı. Kör olarak distile su ve standart olarak 5mM/L'lik stok GSH çözeltisinden hazırlanan farklı dilüsyonlar kullanıldı. Bulgular nanomol/g yaş doku olarak elde edildi.

Akciğer Dokusu Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Analizi

Akciğer süpernatantındaki SOD aktiviteleri, Sun vd. [151] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Deney ortamında ksantin-ksantin oksidaz reaksiyonu ile süperoksit radikalleri oluşur. Oluşan bu radikaller ortamdaki NBT'yi (nitro blue tetrazolium) indirgeyerek mavi renkli formazan oluşmasına neden olur. Doku SOD aktiviteleri oluşan bu mavi renkli formazanın 560 nm'de ELİSA okuyucuda ölçülmesi ile yapıldı. Bulgular U/g protein olarak elde edildi.

Akciğer Dokusu Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Analizi

Akciğer süpernatantındaki CAT aktiviteleri Aebi vd. [152] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Deney ortamında süpernatant ile H₂O₂ içeren fosfat tamponu (pH: 7.5 mM) karıştırıldı. Süpernatandaki CAT aktivitesi ile H₂O₂, H₂O ve O₂' e parçalanır. Ortamdaki hidrojen peroksitlerin yıkımlanması 240 nm'de absorbanstaki azalmasına neden olur. CAT aktivitesini hesaplamak için absorbanstaki azalma 1 dakika boyunca gözlemlendi. Bulgular K/g protein olarak elde edildi.

Akciğer Dokusu Protein Analizi

Akciğer süpernatantlarında SOD ve CAT enzim aktivitelerinin hesaplanması için protein düzeyleri Lowry vd [153] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Oluşan mavi renk 540 nm dalga boyunda ELİSA okuyucuda ölçülerek protein içeriğinin hesaplanmasında kullanıldı. Bulgular mg/ml olarak elde edildi.

Akciğer Dokusu Total Oksidan Seviyesi (TOS) Analizi

Akciğer süpernatantında TOS düzeylerinin ölçülmesi Erel'in metoduna bağlı kalınarak yapıldı [154]. Total Oksidan Seviyeleri, kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep Türkiye) prosedürüne bağlı kalınarak kullanılarak çalışıldı. Oluşan renkli bileşikler 660 nm dalga boyunda ELİSA okuyucu ile ölçülerek akciğer TOS seviyelerinin hesaplanmasında kullanıldı. Standart olarak 20 µmol/L'lik H₂O₂ solusyonu kullanıldı. Bulgular µmol H₂O₂ equiv /L olarak elde edildi.

Akciğer Dokusu Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Analizi

Akciğer süpernatantında TAS düzeylerinin ölçümü Erel'in metoduna bağlı kalınarak yapıldı[155]. Total Antioksidan seviyeleri, kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) prosedürüne bağlı kalınarak çalışıldı. Kit talimatlarına göre mikropalakalara konan süpernatant üzerine reaktif 1 eklenerek 660 nm'de birinci okuma ve reaktif 2 ilave edilerek ikinci okuma yapıldı. Elde edilen iki absorbanstaki farklar belirlenerek akciğer TAS düzeylerinin hesaplanmasında kullanıldı. Kalibratör olarak

E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Bulgular mmol Trolox Equiv/L olarak belirlendi.

Akciğer Dokusu Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Ölçümü

Akciğer süpernatantında OSI ölçümü, Erel'in metoduna [155] bağlı kalınarak hesaplandı. OSI, TOS'un TAS'a bölünmesine eşittir: OSI (Arbitrary Unit) = TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eqv/l)/[(TAS (mmol Trolox eqv/l)x10)]. Bulgular Arbitrary Unit (AU) olarak belirlendi.

Akciğer Dokusu İnflamasyon Belirteci (IL-1 β) Seviyesinin Ölçümü

Akciğer süpernatantında IL-1 β ve TNF- α seviyeleri Bioassay Technology Laboratory'den (BT LAB, CHINA) satın alınan Rat IL-1 β (Cat.No: E0119Ra) ve TNF- α (E0764Ra) kitleri kullanılarak ölçüldü. IL-1 β sonuçları ng/ml, TNF- α ise ng/L olarak sunulmuştur.

Serum Melatonin Seviyelerinin Ölçümü

Serum melatonin seviyeleri Bioassay Technology Laboratory'den (BT LAB, CHINA) satın alınan Rat Melatonin ELISA kiti (Cat.No: E0601Ra) ile ölçüldü. Veriler ng/L olarak sunuldu.

6.7. HİSTOPATOLOJİK ANALİZ

Deney sonunda sıçanlar ketamin/ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi. Çıkarılan akciğerler fikse olması için %10'luk nötral tamponlanmış formaline (NTF) (104003, Formaldehyde solution %37, Merck, ABD) konuldu. Akciğerler daha sonra 3-4 mm'lik daha küçük parçalara ayrılıp, plastik doku takip kasetlerine konularak NTF'de 48 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon işleminin bitmesini takiben parçalar 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandılar. Dokuların trimleri gerçekleştirildikten sonra 2x45 dakika %70, % 80, %95 ve %96'lık artan alkol serilerinden geçirildi (Etanol, 1.00971.2500, Merck, ABD). Şeffaflama 2x30 dakika

ksilol (108661, Merck, USA) ile gerçekleştirildi. Ardından 2x30 dakika parafin (Surgipath EM-400, Leica, GER) içerisinde bekletildi. Doku takibi için Leica TP 1020 (Leica, GER) doku takibi cihazı kullanıldı (GER). Gömme işlemi sonrası bloklar soğumaya bırakıldı. Parafin bloklardan Leica FINESSE ME+ (Leica, GER) mikrotomu ile 5 µm'lik kesitler ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal yöntemler için jelatin kaplı lamlara alındı. Hazırlanan lamalar dokunun lama adezyonunu artırmak için 37°C'lik etüvde 2 saat bekletildi. Kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama yöntemi uygulandı. Akciğer hasarı, histopatolojik değişikliklerin derecesi ve yaygınlığına göre semikantitatif olarak belirlendi. Buna göre kesitler konjesyon, interstisyel ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden 10 farklı alanda incelendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak skorlandı. Maksimum hasar skoru 9 idi. Preparatlar Nikon Eclipse 80i ışık mikroskobu ve Nikon görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı ve fotoğrafları çekildi.

Hematoksilen & Eozin boyama protokolü

% 100 Alkol	2 dakika
% 96 Alkol	2 dakika
% 80 Alkol	2 dakika
% 80 Alkol	2 dakika
Distile suda yıkama	3 dakika
Hematoksilen (1.09253.2500, Papanicolaous Harris Hematoksilen, Merck, ABD)	3 dakika
Akarsu	5 dakika
Akarsuda yıkama	Daldır çıkar
Amonyaklı su	Doku mor renk alana kadar
Akarsu	Daldır çıkar
Distile suda yıkama	5 dakika
Eozin (05-10003/L, Bio-optica, ITA)	1.5 dakika
% 80 Alkol yıkama	Daldır çıkar
% 96 Alkol yıkama	Daldır çıkar
% 96 Alkol yıkama	Daldır çıkar
Ksilol	30 dakika
Boyalı preparatlar entellan damlatılarak kapatıldı	

6.8.İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ANALİZ

Kesitler deparafinizasyon aşaması için sırasıyla 60°C etüvde ve 60°C sıcaklıktaki ksilol içerisinde 1 saat bekletildi. Ardından anti-kaspaz 3 antikoru ile aşağıdaki IHC boyama protokolü uygulandı. Preparatlar entallen ile kapatılarak Nikon Eclipse 80i digital kamera takılı ışık mikroskobu (Nikon, JAP) ile fotoğraflandı.

IHC değerlendirme: Tüm gruplar için, her X20 büyütme alanında en az 100 hücre işaretlendi. Kesitlerde, boyanan hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesinin kriter olarak alındığı semikantitatif bir yöntemle skorlama yapıldı. Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), 1 (zayıf boyanma), 2 (orta boyanma), 3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi. Her kesit için immünohistokimyasal boyanma skorlaması, H-skoru adı verilen ve (I x PC), (I: boyanmanın derecesi, PC: her derecede boyanan

hücrelerin yüzdesi) formülüyle hesaplanan bir skorlama algoritması kullanılarak yapıldı.

IHC boyama protokolü

Sodyum sitrat solüsyonu 800 watt mikrodalga fırın (Profilo, TR)	10 dk
Soğuk su banyosu	20 dk
Distile su	5 dk
% 3' lük H ₂ O ₂ (H1009, Sigma, ABD) solüsyonu	10 dk
PBS içerisinde	2x3 dk
Dokuları etrafı pappen (Z377821, Sigma, ABD) ile çizilir ve Serum bloking solüsyonu (SHP 125, ScyTek Laboratories, ABD) damlatılır	10 dk
Serum bloking solüsyonu dokudan uzaklaştırılır. Anti-Kaspaz 3 (bs-0081R, Bioss, China) primer antikorları 1/100 oranında seyreltilerek damlatılır nemli ortamda +4°C' de inkübe edildi	Gece boyu
PBS tamponu içerisinde	2x3 dk
Primer ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikor (SHP 125, ScyTek Laboratories, ABD)	30 dk
PBS tamponu içerisinde	2x3 dk
Streptoavidin ile işaretli antikor (HRP) (SHP 125, ScyTek Laboratories, ABD)	30 dk
PBS tamponu içerisinde	2x3 dk
DAB (3,3-diaminobenzidine) (ACK 500, ScyTek Laboratories, ABD)	Gözle takip
Distile su ile yıkama	3 dk
Mayers Hematoksilen (M06002, Bio-optica, ITA)	1 dk
Çeşme suyu ile yıkama	5 dk
Distile su ile yıkama	2 dk

BÖLÜM 7

DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

7.1. EFÜZYON SIVISININ MİKTARI (PE, ML), AKCİĞER AĞIRLIĞI/VÜCUT AĞIRLIĞI (LW/BW) VE PLEVRAL EFÜZYON/VÜCUT AĞIRLIĞI (PE/BW) ORANLARINA AİT BULGULAR

ANTU enjeksiyonu yapılan grup ile ANTU enjeksiyonu yapılmayan gruplar (control, sham, PINX) karşılaştırıldığında PE, PE/BW ve LW/BW bakımından anlamlı farklar ($p<0.005$) tespit edilmiştir. 30 gün boyunca melatonin takviyesi sonrası ANTU verilen ratlarda (ANTU+MLT) PE seviyesi ile PE/BW ve LW/BW oranlarının ANTU grubuna göre ciddi şekilde azaldığı ($p<0.005$) belirlenmiştir. Pinealektomi yapılarak melatonin yoksunluğu oluşturulması ve sonrasında ANTU enjeksiyonu (ANTU+PINX) yapılması PE seviyesi ile PE/BW ve LW/BW oranlarını, pinealektomi yapılmaksızın 30 gün melatonin tedavisi sonrası ANTU verilmesine (ANTU+MLT) göre ciddi oranda artırmıştır. Pinealektomi altına alınan ratlara 30 gün boyunca melatonin takviyesi sonrası ANTU uygulaması (ANTU+PINX+MLT) PE seviyesi ile PE/BW ve LW/BW oranlarında melatonin ile tedavi edilmeyen ratlara (ANTU+PINX) kıyasla ciddi iyileşmeye ($p<0.005$) sebep olmuştur.

Çizelge 7.1. Plevral efüzyon (PE) ve PE/BW ile LW/BW oranları.

GRUPLAR	PE (ml.)	PE/BW (x10 ⁴)	LW/BW (x10 ⁴)
Grup 1: Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00	63.99±3.97
Grup 2: Sham	0.00±0.00	0.00±0.00	64.88±4.25
Grup 3: PINX	0.00±0.00	0.00±0.00	62.70±4.13
Grup 4: ANTU	4.85±0.13 ^a	174.99±5.5 ^a	162.31±8.89 ^a
Grup 5: ANTU+MLT	1.76±0.07 ^{a,b}	64.82±2.30 ^{a,b}	64.39±2.80 ^b
Grup 6: ANTU+PINX	5.12±0.09 ^{a,c}	190.06±5.46 ^{a,c}	185.75±6.04 ^c
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	2.36±0.08 ^{a,b,c}	84.79±3.62 ^{a,b,c}	84.24±3.60 ^{b,c,d}

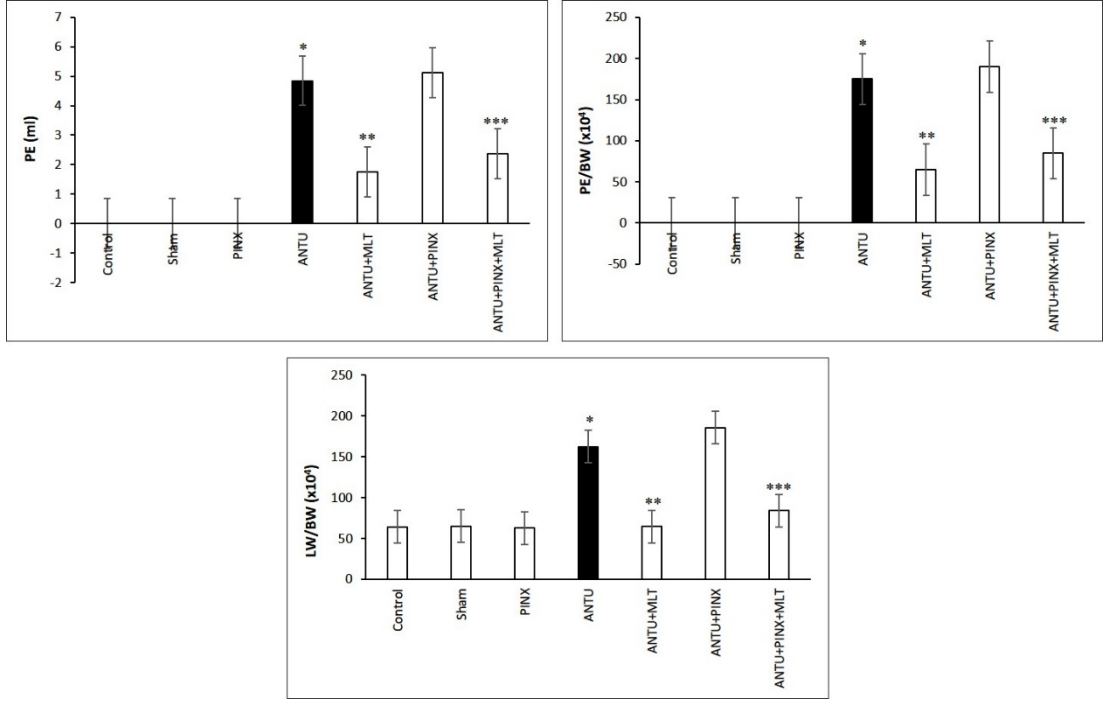
Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

^a p< 0.005 vs grup 1, grup 2 ve grup 3

^b p< 0.005 vs grup 4

^c p< 0.005 vs grup 5

^d p< 0.05 vs grup 1, grup 2 ve grup 3



Şekil 7.1. Efüzyon sıvısının miktarı (PE, ml), akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (LW/BW) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/BW) oranları. Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10). * p<0.005 grup 1, grup 2 ve grup 3' e göre, ** p<0.005 grup 4' e göre *** p<0.005 grup 6' e göre.

7.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

7.2.1. Melatoninin ANTU kaynaklı Akciğer dokusu Okidatif stres belirteçleri ve Antioksidan parametreler üzerine etkisi

Çizelge 7.2'de sunulduğu gibi ANTU uygulaması akciğer MDA seviyelerinde kontrol gruplarına kıyasla ciddi artışa (p<0.005) neden olmuştur. Ayrıca pinealektomi yapılan ratların MDA seviyesi kontrol grubuna göre (p<0.005) yüksek bulunmuştur. Diğer yandan ANTU uygulaması öncesi melatonin takviyesi yapılan ratlarda (ANTU + MLT) MDA seviyesi melatonin takviyesi yapılmayan ratlara göre (ANTU) ciddi derecede (p<0.005) düştüğü gözlenmiştir. Pinealektomi sonrası ANTU verilen ratlarda (ANTU + PINX) MDA seviyesinin pinealektomi yapılmadan ANTU verilen gruba göre daha yüksek olduğu ancak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Pinealektomi sonrası 30 gün boyunca melatonin takviyesi sonrası ANTU verilen ratlarda (ANTU+PINX+MLT) MDA seviyesi sadece ANTU verilen ratlara göre ciddi şekilde gerilediği ($p<0.005$) belirlenmiştir.

Çizelge 7.2. Ortalama doku MDA ve GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

GRUPLAR	MDA (nmol/g yaş doku)	GSH (nmol/g yaş doku)
Grup 1: Kontrol	469.67±20.70	1207.25±51.10
Grup 2: Sham	483.31±23.20	1181.81±6.10
Grup 3: PINX	605.91±24.22 ^a	866.56±4.83 ^a
Grup 4: ANTU	1363.41±199.60 ^{a,b}	507.80±8.07 ^{a,b}
Grup 5: ANTU + MLT	716.56±45.46 ^{a,b,d}	737.27±30.53 ^{a,c,d}
Grup 6: ANTU + PINX	1751.04±229.58 ^{a,b}	498.05±5.69 ^{a,b,f}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	812.69±67.26 ^{a,c,e}	705.93±27.57 ^{a,b,d,g}

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

^a $p<0.005$ vs grup 1, grup 2 ^b $p<0.005$ vs grup 3 ^c $p<0.05$ vs grup 3

^d $p<0.005$ vs grup 4 ^e $p<0.05$ vs grup 4 ^f $p<0.005$ vs grup 5 ^g $p<0.005$ vs grup 6

Akciğer dokusu GSH düzeyleri incelendiğinde, ratlar pinealektomi altına alındığında akciğer GSH düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla ciddi düşüşler ($p<0.005$) görülmüştür (Çizelge 7.2). Diğer yandan ratlara ANTU uygulaması GSH düzeylerinde kontrol ve PINX gruplarına göre ciddi düşüşe ($p<0.005$) neden olmuştur. İlave olarak ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) GSH seviyelerinde ciddi artışlara ($p<0.005$) neden olmuştur. Ayrıca pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması (ANTU+PINX), pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması (ANTU +MLT) yapılmasına kıyasla GSH seviyelerinde ciddi düşüşe ($p<0.005$) sebep olmuştur. Pinealektomi altına alınan ratlara 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması ve ANTU uygulaması (ANTU+PINX+MLT) GSH seviyelerinde melatonin ile tedavi edilmeyen ratlara (ANTU+PINX) kıyasla ciddi iyileşmeye ($p<0.005$) sebep olmuştur.

Çizelge 7.3'te sunulduğu gibi akciğer dokusu SOD ve CAT aktivite düzeyleri ölçüldüğünde, ratlara pinealektomi işlemi yapılması kontrol grubuna göre doku SOD düzeylerinde anlamlı ($p<0.005$) CAT aktivitelerinde ise anlamlı olmayan bir düşüşe neden olmuştur. Ancak ratlara ANTU uygulaması hem kontrol hemde PINX gruplarına kıyasla SOD ve CAT aktivitelerinde ciddi düşüşlere ($p<0.005$) neden olmuştur. Diğer yandan ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) SOD ve CAT aktivitelerinde ciddi iyileşmeye ($p<0.005$) sebep olmuştur. İlave olarak, pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması (ANTU+PINX), pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması (ANTU +MLT) yapılmasına kıyasla SOD ve CAT düzeylerinde ciddi düşüşe ($p<0.005$) neden olmuştur. Ancak pinealektomi altına alınan ratlara 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması ve ANTU uygulaması (ANTU+PINX+MLT) SOD ve CAT aktivitelerinde melatonin ile tedavi edilmeyen ratlara (ANTU+PINX) kıyasla ciddi iyileşme ($p<0.005$) gözlenmiştir.

Çizelge 7.3. Ortalama doku SOD ve CAT aktivitelerinin karşılaştırılması

GRUPLAR	SOD (U/g protein)	CAT (K/g protein)
Grup 1: Kontrol	72.56±5.85	18.50±1.57
Grup 2: Sham	55.86±4.19	17.22±1.26
Grup 3: PINX	40.34±2.91 ^{a,b}	13.27±1.13
Grup 4: ANTU	19.69±2.27 ^{a,c,d}	4.46±0.23 ^{a,c,d}
Grup 5: ANTU + MLT	44.92±3.89 ^{a,e}	10.19±1.08 ^{a,c,e,h}
Grup 6: ANTU + PINX	21.80±2.37 ^{a,c,d,f}	3.95±0.22 ^{a,c,d,f}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	44.42±3.72 ^{a,c,g}	9.71±1.13 ^{a,c,e,g,h}

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

^a $p< 0.005$ vs grup 1 ^b $p< 0.05$ vs grup 2 ^c $p< 0.005$ vs grup 2 ^d $p< 0.005$ vs grup 3
^e $p< 0.005$ vs grup 4 ^f $p< 0.005$ vs grup 5 ^g $p< 0.005$ vs grup 6
^h $p< 0.05$ vs grup 3

Çizelge 7.4'te sunulduğu gibi ratların pinealektomi altına alınması kontrol grubuna göre akciğer TAS seviyelerinde ciddi düşüşlere ($p<0.005$) neden olurken TOS ve OSİ

seviyelerinde ise anlamlı artışlara ($p<0.005$) neden olmuştur. Ayrıca ratlara ANTU uygulaması kontrol ve PINX gruplarına kıyasla akciğer TAS seviyelerinde anlamlı düşümlere ($p<0.005$) neden olurken TOS ve OSİ seviyelerinde ise artışlara ($p<0.005$) neden olmuştur. Diğer yandan ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) akciğer TAS seviyelerinde anlamlı artışlara ($p<0.005$) neden olurken TOS ve OSİ seviyelerinde ise ciddi düşümlere neden olmuştur. İlave olarak, pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması (ANTU+PINX), pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması (ANTU+MLT) yapılmasına kıyasla TAS seviyelerinde anlamlı düşümlere ($p<0.005$), TOS ve OSİ değerlerinde ise ciddi artışlar gözlenmesine neden olmuştur. Ancak pinealektomi altına alınan ratlara 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması ve ANTU uygulaması (ANTU+PINX+MLT) melatonin ile tedavi edilmeyen ratlara (ANTU+PINX) kıyasla TAS seviyelerinde anlamlı iyileşmeye ($p<0.005$), TOS seviyelerinde ise ciddi düşümlere ($p<0.005$) neden olurken OSİ değerindeki azalma anlamlı olmamıştır.

Çizelge 7.4. Doku TAS, TOS düzeyleri ve OSI değeri.

GRUPLAR	TAS (nmol Trolox eqv/L)	TOS (μ mol H ₂ O ₂ eqv/L)	OSI
Grup 1: Kontrol	1.50±0.03	25.29±0.61	1.68±0.05
Grup 2: Sham	1.42±0.00	25.25±0.51	1.77±0.03
Grup 3: PINX	1.23±0.03 ^{a,b}	44.63±4.44 ^{a,b}	3.65±0.40 ^{a,b}
Grup 4: ANTU	0.99±0.04 ^{a,b,c}	79.06±2.05 ^{a,b,c}	8.17±0.55 ^{a,b,c}
Grup 5: ANTU + MLT	1.14±0.02 ^{a,b,e}	52.93±2.18 ^{a,b,h}	4.65±0.26 ^{a,b,h}
Grup 6: ANTU + PINX	0.88±0.02 ^{a,b,c,e,f}	96.12±2.62 ^{a,b,c,h,f}	10.92±0.39 ^{a,b,c,h,f}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	1.03±0.01 ^{a,b,c,f,g}	60.82±3.08 ^{a,b,c,h,g}	5.84±0.25 ^{a,b,c,h,f}

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

^a $p<0.005$ vs grup 1 ^b $p<0.005$ vs grup 2 ^c $p<0.005$ vs grup 3 ^e $p<0.05$ vs grup 4
^f $p<0.005$ vs grup 5 ^g $p<0.005$ vs grup 6 ^h $p<0.005$ vs grup 4

7.2.2. Melatoninin ANTU kaynaklı Akciğer inflamasyon belirteçleri (IL-1 β ve TNF- α) üzerine etkisi

Ratların pinealektomi altına alınması akciğer IL-1 β (Çizelge 7.5.) ve TNF- α (Çizelge 7.6.) seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı artışlara ($p<0.005$) neden olmuştur. Ayrıca ratlara ANTU uygulaması hem kontrol hemde PINX gruplarına göre IL-1 β TNF- α seviyelerinde artışlara ($p<0.005$) neden olmuştur. Fakat ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) akciğer IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ($p<0.005$) ciddi düşüşe sebep olmuştur. İlave olarak pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması (ANTU+PINX), pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması (ANTU +MLT) yapılmasına kıyasla IL-1 β ($p<0.005$) ve TNF- α ($p<0.05$) seviyelerinde ciddi artış gözlenmesine neden olmuştur. Diğer yandan pinealektomi altına alınan ratlara 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması ve ANTU uygulaması (ANTU+PINX+MLT) melatonin ile tedavi edilmeyen ratlara (ANTU+PINX) kıyasla IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ciddi gerileme ($p<0.005$) gözlenmiştir.

Çizelge 7.5. Serum IL-1 β düzeyleri (ng/ml).

GRUPLAR	IL-1 β (ng/ml)
Grup 1: Kontrol	9.98 \pm 0.17
Grup 2: Sham	9.84 \pm 0.26
Grup 3: PINX	12.78 \pm 0.76 ^a
Grup 4: ANTU	28.66 \pm 0.88 ^{a,b}
Grup 5: ANTU + MLT	17.13 \pm 0.67 ^{a,b,c}
Grup 6: ANTU + PINX	30.83 \pm 0.63 ^{a,b,e}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	18.27 \pm 0.97 ^{a,b,c,f}

Veriler aritmetik ortalama \pm SE olarak ifade edildi (n=10).

^a $p<0.005$ vs grup 1 ve grup 2

^b $p<0.005$ vs grup 3

^c $p<0.005$ vs grup 4

^e $p<0.005$ vs grup 5

^f $p<0.005$ vs grup 6

Çizelge 7.6. Serum TNF- α düzeyleri (ng/L).

GRUPLAR	TNF- α (ng/L)
Grup 1: Kontrol	174.70 \pm 4.26
Grup 2: Sham	188.08 \pm 4.24
Grup 3: PINX	261.17 \pm 13.73 ^a
Grup 4: ANTU	605.34 \pm 23.66 ^{a,b}
Grup 5: ANTU + MLT	409.26 \pm 6.55 ^{a,b,c}
Grup 6: ANTU + PINX	742.63 \pm 54.30 ^{a,b,e,f}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	416.75 \pm 35.52 ^{a,b,c,g}

Veriler aritmetik ortalama \pm SE olarak ifade edildi (n=10).

^a p< 0.005 vs grup 1 ve grup 2

^b p< 0.005 vs grup 3

^c p< 0.005 vs grup 4

^e p< 0.05 vs grup 4

^f p< 0.005 vs grup 5

^g p< 0.005 vs grup 6

7.2.3. Pinealektominin Ratların Serum Melatonin Seviyeleri Üzerine Etkisi

Serum melatonin seviyeleri pinealektomi işleminden sonra kontrol grubuna kıyasla ciddi şekilde (p<0.005) düşmüştür (Çizelge 7.7.). Diğer yandan pinealektomize ratların ANTU uygulaması öncesi melatonin takviyesi yapılması (ANTU+PINX+MLT) tedavi yapılmayan gruba kıyasla ciddi şekilde yükseldiği (p<0.005) tespit edilmiştir.

Çizelge 7.7. Serum melatonin düzeyleri (ng/L).

GRUPLAR	Melatonin (ng/L)
Grup 1: Kontrol	264.42±17.42
Grup 2: Sham	278.27±14.85
Grup 3: PINX	40.72±1.80 ^a
Grup 4: ANTU	77.60±3.77 ^{a,b}
Grup 5: ANTU + MLT	172.29±9.09 ^{a,b,e}
Grup 6: ANTU + PINX	35.72±3.97 ^{a,e,f}
Grup 7: ANTU+PINX+MLT	74.42±8.2 ^{a,c,f,g}

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

^a p< 0.005 vs grup 1 ve grup 2

^b p< 0.005 vs grup 3

^c p< 0.05 vs grup 3

^e p< 0.005 vs grup 4

^f p< 0.005 vs grup 5

^g p< 0.005 vs grup 6

7.2.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS (SPSS for Windows version 14.0) istatistiksel yazılım programı ile yapıldı. Tüm sonuçlar aritmetik ortalama ± standart hata (SE) olarak ifade edildi. Tüm gruplardaki ölçülebilir değişkenlerin Shapiro Wilk normallik testine göre normal dağılım göstermediği saptandı (p>0.05). Bu nedenle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanılırken, grupların ikili karşılaştırılmasında ise Mnn-Whitney U testi kullanıldı. p<0.005 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

7.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Kontrol ve Sham gruplarına ait akciğer dokuları normal histolojik görünümdeydi (Şekil 7.2 A, B). PINX grubunda da normale yakın bir görünüm mevcuttu (Şekil 7.2 C). Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). ANTU grubunda konjesyon, yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve interstisyel pulmoner ödem tespit edildi (Şekil 7.2 D, E). ANTU grubunun ortalama histopatolojik hasar skoru 4.10±0.27 idi. ANTU+MLT grubunda histopatolojik

değişikliklerin belirgin olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 7.2 F). Kontrol, Sham ve PINX grupları ile ANTU grubu karşılaştırıldığında hasar skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu ($p<0.05$, hepsi için). ANTU grubu ve ANTU+MLT grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). ANTU+PINX grubunda hasarın şiddeti artmıştı (Şekil 7.2 G, H). ANTU+PINX grubunun ortalama histopatolojik hasar skoru 5.40 ± 0.30 idi. ANTU+PINX+MLT grubunda hasarın şiddeti azalmıştı (Şekil 7.2 I). Her bir grup için ortalama histopatolojik hasar skoru Çizelge 7.8'de verildi.

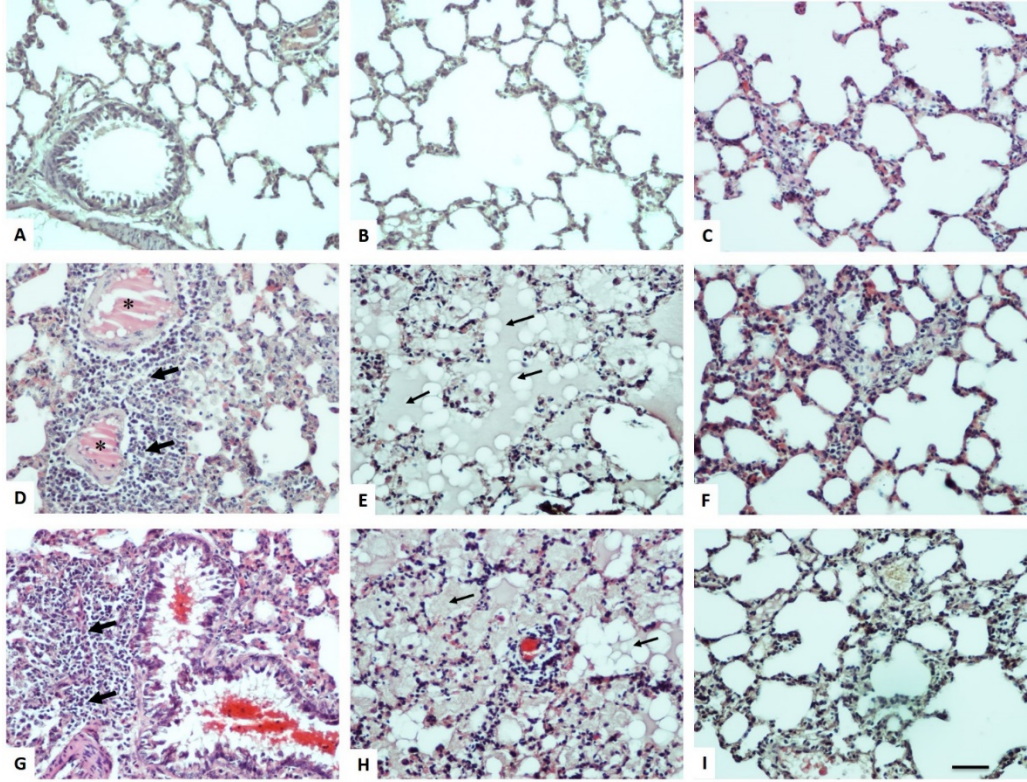
Çizelge 7.8. Ortalama histopatolojik hasar skoru.

Gruplar	Hasar Skoru
Grup 1: Kontrol	0.00 ± 0.00
Grup 2: Sham	0.10 ± 0.10
Grup 3: PINX	0.50 ± 0.22
Grup 4: ANTU	4.10 ± 0.27^a
Grup 5: ANTU + MLT	$2.10\pm 0.23^{a,b}$
Grup 6: ANTU + PINX	$5.40\pm 0.30^{a,c,d}$
Grup 7: ANTU + PINX + MLT	$3.20\pm 0.29^{a,e,f}$

Veriler aritmetik ortalama \pm SE olarak ifade edildi (n=10).

^a $p< 0.005$ vs grup 1, grup 2, grup 3 ^b $p< 0.005$ vs grup 4 ^c $p< 0.05$ vs grup 4

^d $p< 0.005$ vs grup 5 ^e $p< 0.05$ vs grup 5 ^f $p< 0.005$ vs grup 6



Şekil 7.2. Akciğer dokusunun histopatolojik görüntüsü. Kontrol ve sham gruplarına ait akciğer dokuları normal histolojik görünümdeydi. PINX grubu da normale yakındı. **A.** Kontrol grubu, **B.** Sham grubu, **C.** PINX grubu. ANTU grubuna ait akciğer dokusunda konjesyon (yıldız), yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu (kalın oklar) ve interstisyel ödem (ince oklar) ve içeren hasarlı alanlar bulunmaktaydı. ANTU+PINX grubunda hasar daha şiddetliydi. ANTU kaynaklı akciğer hasarında melatoninin etkisiyle histopatolojik değişikliklerde belirgin azalma gözlemlendi. **D.** ANTU grubu, **E.** ANTU grubu, **F.** ANTU+MLT grubu, **G.** ANTU+PINX grubu, **H.** ANTU+PINX grubu, **I.** ANTU+PINX+MLT grubu. H-E; X20. Bar: 20 µm

7.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Kaspaz-3 immünreaktivitesi

Kontrol, sham ve PINX grupları ile karşılaştırıldığında, ANTU gruplarına ait akciğer dokularındaki kaspaz-3 ifadesinin artmış olduğu tespit edildi. ANTU grubunda

kaspaz-3 ifadesi orta şiddetteyken, ANTU+PINX grubunda ise ifadenin yüksek şiddette olduğu görüldü (Şekil 7.3. , 7.4.). Kaspaz-3 immün boyamasına ait H-skoru grafiği Çizelge 7.9'da gösterildi.

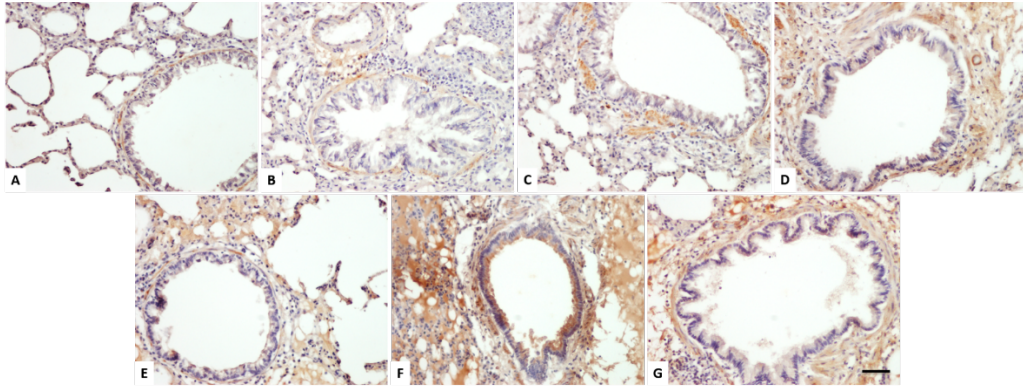
Çizelge 7.9. Kaspaz-3 immünreaktivitesi için ortalama H-skoru.

Gruplar	H-Skoru
Grup 1: Kontrol	119.40±0.77
Grup 2: Sham	127.80±2.16
Grup 3: PINX	137.10±2.17
Grup 4: ANTU	223.50±8.75 ^a
Grup 5: ANTU + MLT	165.90±3.10 ^{a,b}
Grup 6: ANTU + PINX	267.50±6.63 ^{a,c}
Grup 7: ANTU + PINX + MLT	226.50±5.47 ^{a,c,d}

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=10).

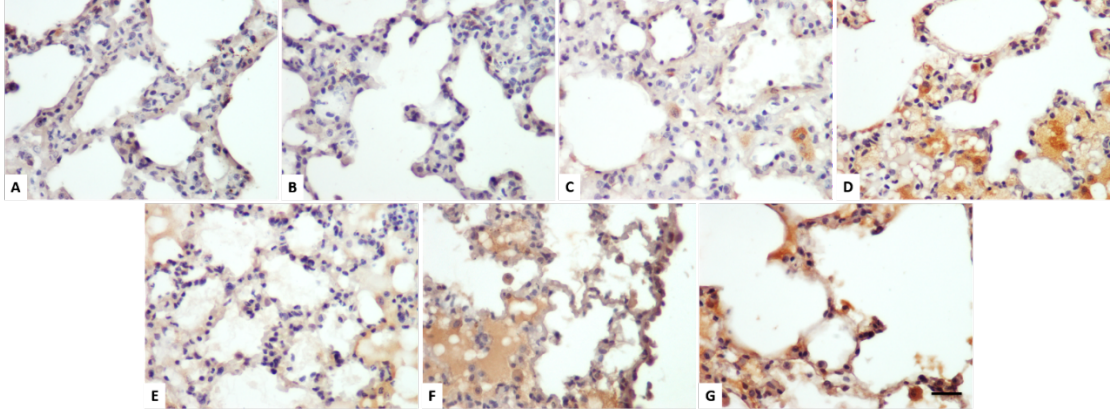
^ap< 0.005 vs grup 1, grup 2, grup 3 ^bp< 0.005 vs grup 4

^cp< 0.005 vs grup 5 ^dp< 0.005 vs grup 6



Şekil 7.3. Akciğer dokusunun kaspaz-3 antikoru ile immünühistokimyasal boyaması. Dokular kaspaz-3 antikoru ile immünühistokimyasal yöntem kullanılarak boyandı. Kontrol ve sham gruplarına ait bronşiyoller birbirine benzerdi ve az yoğunlukta boyanma vardı. ANTU grubunda ise boyanma belirgindi. ANTU+PINX grubundaki bronşiyollerde en şiddetli boyanma mevcuttu. ANTU+MLT grubunda boyanma yoğunluğu melatoninin etkisi ile azalmıştı. **A.** Kontrol grubu, **B.** Sham grubu, **C.**

PINX grubu, **D.** ANTU grubu, **E.** ANTU+PINX grubu, **F.** ANTU+MLT grubu, **G.** ANTU+PINX+MLT grubu. Anti-kaspaz-3; X20. Bar: 20 μ m.



Şekil 7.4. Akciğer dokusunun kaspaz-3 antikoruna ile immünohistokimyasal boyanması. Dokular kaspaz-3 antikoruna ile immünohistokimyasal yöntem kullanılarak boyandı. Kontrol ve sham gruplarına ait alveoller birbirine benzerdi ve az yoğunlukta boyanma vardı. ANTU grubunda ise boyanma belirgindi. ANTU+PINX grubundaki alveollerde en şiddetli boyanma mevcuttu. ANTU+MLT grubunda boyanma yoğunluğu melatoninin etkisi ile azalmıştı. **A.** Kontrol grubu, **B.** Sham grubu, **C.** PINX grubu, **D.** ANTU grubu, **E.** ANTU+PINX grubu, **F.** ANTU+MLT grubu, **G.** ANTU+PINX+MLT grubu. Anti-kaspaz-3; X40. Bar: 20 μ m.

7.5. TARTIŞMA

Pulmoner ödem, akciğerde sıvı filtrasyonunun artmasına neden olan pulmoner dolaşımdaki mekanik bozukluklardan veya alveolar-kapiller bariyerin inflamatuvar veya toksik hasarına bağlı olarak artan vasküler geçirgenlikten kaynaklanabilir [156]. Plevral efüzyon gelişimi plevral ve pulmoner kılcal damarların hidrostatik veya kolloid-ozmotik basıncındaki değişiklikleri, plevral vasküler geçirgenlikteki değişiklikleri ve bozulmuş lenfatik drenajı kapsamaktadır [157]. Pulmoner ödem sırasında plevral efüzyon oluşumu, alveolar taşkınının çözülmesinde (resolution of

alveolar flooding) önemli bir fizyolojik mekanizmadır [158]. Plevral efüzyon miktarı pulmoner ödem gelişimi ile yakından ilişkilidir [96].

ANTU modelinde interstisyel akciğer boşluğu sıvı ile doyurulduğunda akciğer interstisyel sıvısının visseral plevra yoluyla plevral boşluğa drenajı söz konusudur. Sıçanlara i.p. ANTU uygulanmasının ardından 4 saat içinde maksimum düzeye ulaşan akciğer ödemi ve plevral efüzyon gelişmektedir. Oluşan ödem ya 24-48 saat içinde tamamen ortadan kaybolur ya da durum daha da kötüleşerek sıçanın ölümüne neden olur.

Çalışmamızda i.p. olarak 10 mg/kilogram dozda ANTU enjekte edilen tüm sıçanlarda 4 saatlik zaman diliminde ciddi akut akciğer hasarı oluşmuştur. Bu hasarda, plevral efüzyon (PE) oluşumu, akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (LW/BW) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/BW) oranlarında artma saptanmıştır. Sıçanlarda ANTU' nun neden olduğu akut akciğer hasarında deksmedetomidin' inin [97] ve endotelin reseptör antagonisti tezosentan' ın etkilerinin araştırıldığı iki ayrı çalışmada ANTU gruplarındaki PE, LW/BW ve PE/BW ölçümleri, kontrol ve tedavi gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Yine sıçanlarda lipopolisakkarid kaynaklı akut akciğer hasarı üzerinde eksojen kükürt dioksitin iyileştirici etkilerinin [159] ve metilprednizolon'un ise karşı etkisinin [160] araştırıldığı çalışmalarda LW/BW oranlarında artış tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ANTU ve ANTU+PINX gruplarındaki ortalama PE, LW/BW ve PE/BW ölçümleri, kontrol grupları ve tüm MLT tedavi gruplarından önemli ölçüde daha yüksekti. ANTU grubuna kıyasla MLT injeksiyonu yapılan MLT (10 mg/kg) grubunda ortalama PE, LW/BW ve PE/BW değerlerinde de önemli düşüşler vardı. Farelere aynı dozda günlük melatonin (10 mg/kg i.p.) uygulamasının yapıldığı bir çalışmada, MLT' in vücut ağırlığı kaybını, ölüm oranını, akciğerin polimorfonükleer nötrofillerle infiltrasyonunu, ödem oluşumunu önemli ölçüde azalttığı ortaya konmuştur [161]. Çalışmamızda hem ANTU verilen hem de pinealektomi yapılan sıçanlarda hastalığın tablosu daha kötüydü. Ancak melatonin verilen gruplarda efüzyon, pulmoner ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha az geliştiği tespit edildi.

Akciğerdeki oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasının birçok hava yolu patolojisinin gelişiminde anahtar bir adım olduğu düşünülmektedir. Oksidatif strese bağlı akciğer hastalıklarının kontrolünde veya önlenmesinde [162] çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar mevcuttur; bununla birlikte, inflamasyon sırasında aşırı ROS üretimi nedeniyle bu savunmalar bastırılır ve bu nedenle hava yollarında/sistemik dolaşımında enflamatuvar olaylar ortaya çıkar [163]. Oksidatif streste ROS aracılı doku hasarını ortadan kaldırmaya yönelik endojen antioksidan savunma hattını, enzimatik (SOD ve CAT) ve enzimatik olmayan GSH molekülleri oluşturmaktadır [164]. Oksidatif stresin duyarlı diğer bir biyobelirteci ise lipid peroksidasyon son ürünü MDA' dır [165]. Yaygın olarak kullanılan insektisitlerden biri olan alpha-cypermethrin (α -CYP) ile sıçanlarda oluşturulan pulmoner toksisite çalışmasında α -CYP' in pulmoner MDA düzeylerini önemli ölçüde arttırdığı, CAT ve SOD aktivitelerini ve akciğerde GSH içeriğini ise azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca akciğer dokularında IL-1 β ve TNF- α ' yı da tetiklediği ortaya çıkmıştır [166]. Toksisitesini ana hedef organ olarak akciğerlerde gösteren ve dünya çapında kullanılan bir herbisit olan paraquat, insan ve hayvanlar için oldukça toksiktir. Paraquat kaynaklı akut akciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir çalışmada plazma MDA seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği ve SOD seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Paraquat zehirlenmesinden sonraki 1. günde ise TNF- α , IL-1 β plazma seviyeleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur [167]. Sıçanlarda deneysel olarak cecal ligation and puncture (CLP) kaynaklı sepsis modeli ile oluşturulmuş akut akciğer hasarında görülen oksidatif stres ve inflamasyonda, TNF- α ve IL-1 β seviyelerinde dramatik artışlar gözlemlenmiştir. Bu durum MDA seviyelerinde artışa, SOD ve GSH seviyelerinde ise ciddi düşüşlere neden olmuştur [168]. Bleomycin kaynaklı akciğer oksidatif hasarı üzerine licorice takviyesinin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, akciğer dokusunda inflamasyon ve oksidatif hasar sonucu SOD ve CAT ekspresyonunda azalma gözlemlenmiştir [169]. Sıçanlarda lipopolisakkarid injeksiyonu ile oluşturulmuş akut akciğer hasarında çok sayıda inflamatuvar mediatörlerin ve reaktif oksijen türlerinin üretildiği ortaya koyulmuştur. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, MDA seviyesinde 2.30 kat artış ve SOD aktivitesinde %71.0 azalma tespit edilmiştir [170]. Akciğer dokusunda naftalin' in yapmış olduğu oksidatif hasarın araştırıldığı başka bir çalışmada ise naftalin, GSH düzeyinde düşüşe, MDA düzeyinde artışa neden olmuştur. Bunun

yanında proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β seviyelerinde önemli ölçüde bir artış görülmesi, bu tür çalışmalarda inflamatuvar mekanizmaların aktif hale geldiğini ve oksidatif hasarın kaçınılmaz olduğunu doğrulamaktadır [171].

Akciğerlerde ANTU kaynaklı oksidatif stres, antioksidanları tüketmektedir. Çalışmamızda pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması, pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulamasına kıyasla GSH ve SOD seviyelerinde ciddi düşümlere sebep olmuştur. Sonuçlarımızdan, GSH ve SOD seviyelerinin baskılanması ve bunun yanında oksidatif stres belirteci MDA'nın artan seviyeleri, ANTU'nun lipid peroksidasyonunu arttırdığını doğruladı. Melatonin uygulaması, MDA'yı azaltarak ve GSH ve SOD'yi artırarak oksidatif stresi ortadan kaldırdı. Melatonin, hücreleri serbest radikallere karşı koruma sağlamak için GSH konsantrasyonunu artırmaya teşvik etti.

Akciğer hasarını takiben ilk tepki olarak inflamasyonun aktif hale gelmesiyle nötrofiller ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler alt solunum yollarında birikir ve sonuç olarak zararlı miktarlarda ROS ile çeşitli zararlı sitokinler ve büyüme faktörlerini serbest bırakır [172]. IL-1 β ve TNF- α , güçlü proinflamatuvar aktivitelere sahip oldukları ve çeşitli proinflamatuvar mediatörlerin salgılanmasını destekleyebildikleri için en önemli proinflamatuvar sitokinlerdir. Bleomisin ve lipopolisakkarid kaynaklı iki pulmoner fibrozis modelinin oluşturulduğu ve Naja naja atra zehirinin pulmoner fibrozis üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, artan MDA seviyesi ile birlikte SOD ve GSH seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Hem bleomisin hem de lipopolisakkarid ile indüklenen modellerde, serumda TNF- α ve IL-1 β seviyeleri yüksek bulunmuştur [172]. Lipopolisakkarid kaynaklı akut akciğer hasarı, birçok çalışmada pulmoner fonksiyonların bozulması ve pulmoner TNF- α ve IL-1 β artışlarıyla kanıtlanmıştır [173]. IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ve salgılanması, pulmoner vasküler endotel hücrelerinin ve alveolar epitel hücrelerinin aşırı inflamatuvar hasarına yol açarak, akciğer fonksiyonunun bozulmasına, hatta diğer periferik organları bile etkilemesine neden olabilir [174]. Sıçanlarda çekal ligasyon ve ponksiyon kullanılarak oluşturulan sepsis kaynaklı akciğer hasarı üzerine flufenamik asidin etkisinin [175] ve paeoniflorin' in

etkisinin araştırıldığı farklı iki çalışmada TNF- α , IL-6, IL-1 β ve MDA seviyelerinin yükselmesinin yanında SOD ve GSH seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir [176].

Melatonin ve metabolitleri, hem serbest radikalleri temizleme yetenekleri hem de doku antioksidan kapasitesini artırma potansiyelleri sayesinde geniş spektrumlu antioksidanlardır. Melatonin'in farelerde siklofosamid kaynaklı oksidatif akciğer toksisitesine karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada GSH seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde düzelttiği ayrıca fare akciğer dokularında oksidatif toksisiteyi önlemeye yardımcı olduğu ortaya konmuştur [177]. Yetişkin C57BL/6J farelerde akciğer iskemi-reperfüzyon hasarında melatoninin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, bu hasar neticesinde dolaşımdaki TNF- α ve IL-1 β seviyelerinde artış bildirilmiştir. Melatoninin, oksidatif stres ve inflamasyonun inhibisyonu yoluyla akciğer iskemi-reperfüzyon hasarını hafiflettiği ortaya konmuştur[178]. Bizim çalışmamızda ANTU uygulaması öncesi 30 gün boyunca melatonin takviyesi yapılması melatonin tedavi yapılmayan gruba göre (ANTU) akciğer IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ciddi düşüşe sebep olmuştur. İlave olarak pinealektomi sonrası ANTU uygulaması yapılması, pinealektomi yapılmadan melatonin takviyesi yapılarak ANTU uygulaması yapılmasına kıyasla IL-1 β ve TNF- α seviyelerinde ciddi artış gözlenmesine neden olmuştur. Çalışmamızda histopatolojik olarak ANTU grubunda konjesyon, yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve interstisyel pulmoner ödem tespit edildi. ANTU+PINX grubunda hasarın şiddeti artmıştı. Melatonin injeksiyonu yapılan ANTU+MLT ve ANTU+PINX+MLT gruplarında hasarın ve histopatolojik değişikliklerin belirgin olarak azaldığı tespit edildi. Melatonin tedavisi akciğer efüzyon ve ödeminin gerilemesini ve akciğer mimarisinin iyileşmesini destekledi.

Bu sonuçlar, kronik melatonin tedavisinin doğrudan süpürücü etkilerinin yanı sıra, nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek, oksidan-antioksidan durumunu dengeleyerek ve inflamatuvar mediatörlerin oluşumunu düzenleyerek melatoninin akciğer hasarına karşı antioksidan ve antiinflamatuvar bir etki sağladığını göstermektedir. Toplu olarak bu sonuçlar melatoninin proinflamatuvar mediatörleri baskıladığını ve melatoninin proinflamatuvar bozuklukların tedavisi için potansiyel bir aday ajan olabileceğini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. I Iles, K.E., Song, W., Miller, D. W., Dickinson, D. A., & Matalon, S. Reactive species and pulmonary edema. *Expert review of respiratory medicine*, 3(5): p. 487-496 (2009).
2. Staub, N., Pathophysiology of pulmonary edema. *Edema*, 719 (1984).
3. Cooper Jr, J.A.D., D.A. White, and R.A. Matthay, Drug-induced pulmonary disease: Part 1: Cytotoxic drugs. *American Review of Respiratory Disease*, 133(2): p. 321-340 (1986).
4. Vivet, P., Brun-Pascaud, M., Mansour, H., & Pocidalo, J. J. Non-hypoxaemic pulmonary oedema induced by alpha-naphthyl thiourea in the rat. *British journal of experimental pathology*, 64(4): p. 361 (1983).
5. Scott, A.M., Powell, G. M., Upshall, D. G., & Curtis, C. G. Pulmonary toxicity of thioureas in the rat. *Environmental health perspectives*, 85: p. 43-50 (1990).
6. H.R. Amouzadeh; S. Sangiah; C.W. Qualls Jr.; R.L. Cowell; A. Mauromoustakos Xylazine-induced pulmonary edema in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 108(3): p. 417-427 (1991).
7. Fink, M.P., Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome. *Current opinion in critical care*, 8(1): p. 6-11(2002).
8. Bowler, R. P., Velsor, L. W., Duda, B., Chan, E. D., Abraham, E., Ware, L. B., Matthay, M. A., & Day, B. J. Pulmonary edema fluid antioxidants are depressed in acute lung injury. *Critical care medicine*, 31(9): p. 2309-2315 (2003).
9. Karki, P. and K.G. Birukov, Rho and reactive oxygen species at crossroads of endothelial permeability and inflammation. *Antioxidants & redox signaling*, 31(13): p. 1009-1022 (2019).
10. Küçükakin, B., Gögenur, I., Reiter, R. J., & Rosenberg, J. Oxidative stress in relation to surgery: is there a role for the antioxidant melatonin? *Journal of Surgical Research*, 152(2): p. 338-347 (2009).

11. Wu, W. S., Chou, M. T., Chao, C. M., Chang, C. K., Lin, M. T., & Chang, C. P. Melatonin reduces acute lung inflammation, edema, and hemorrhage in heatstroke rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(6): p. 775-782 (2012).
12. Zhang, Y., Li, X., Grailer, J. J., Wang, N., Wang, M., Yao, J., Zhong, R., Gao, G. F., Ward, P. A., Tan, D. X., & Li, X. Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome. *Journal of pineal research*, 60(4): p. 405-414 (2016).
13. Zhong, M., Xue, Z. G., Cang, J., Wu, W., Huang, J. F., & Zhu, D. M. Protective effect of melatonin on reexpansion pulmonary edema in rats model. *Chinese medical journal*, 126(3): p. 500-504 (2013).
14. Chen, J., Qian, C., Duan, H., Cao, S., Yu, X., Li, J., Gu, C., Yan, F., Wang, L., & Chen, G. Melatonin attenuates neurogenic pulmonary edema via the regulation of inflammation and apoptosis after subarachnoid hemorrhage in rats. *Journal of pineal research*, 59(4): p. 469-477 (2015).
15. Tobias, A., B.D. Ballard, and S.S. Mohiuddin, Physiology, water balance. (2019).
16. Bhave, G. and E.G. Neilson, Body fluid dynamics: back to the future. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(12): p. 2166-2181 (2011).
17. Watson, F. and P. Austin, Physiology of human fluid balance. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 22(10): p. 644-651 (2021).
18. Carlson, G.P., Fluid, electrolyte, and acid-base balance, in Clinical biochemistry of domestic animals. *Elsevier*. p. 485-516 (1997).
19. Liachovitzky, C., Human Anatomy and Physiology Preparatory Course. (2015).
20. Brinkman, J.E., B. Dorius, and S. Sharma, Physiology, Body Fluids. (2018).
21. Plumlee, G. and T. Ziegler, The medical geochemistry of dusts, soils, and other earth materials in: environmental geochemistry. B. Sherwood Lollar, Toronto, (2007).
22. Duda, Krzysztof Human body composition and muscle mass, in Muscle and Exercise Physiology. 2019, *Elsevier*. p. 3-26 (2019).
23. Pain, R.W., Body fluid compartments. *Anaesthesia and intensive care*, 5(4): p. 284-294 (1977).

24. Ura, B., Di Lorenzo, G., Romano, F., Monasta, L., Mirenda, G., Scrimin, F., & Ricci, G. Interstitial fluid in gynecologic tumors and its possible application in the clinical practice. *International journal of molecular sciences*, 19(12): p. 4018 (2018).
25. Lent-Schochet, D. and I. Jialal, Physiology, *Edema*. (2019).
26. Li, H., Yin, Y., Yang, C., Chen, M., Wang, F., Ma, C., Li, H., Kong, Y., Ji, F., & Hu, J. Active interfacial dynamic transport of fluid in a network of fibrous connective tissues throughout the whole body. *Cell proliferation*, 53(2): p. e12760 (2020).
27. Nose, H., Mack, G. W., Shi, X. R., & Nadel, E. R. (1988). Shift in body fluid compartments after dehydration in humans. *Journal of Applied Physiology*, 65(1): p. 318-324 (1988).
28. Siddall, E., M. Khatri, and J. Radhakrishnan, Capillary leak syndrome: etiologies, pathophysiology, and management. *Kidney international*, 92(1): p. 37-46 (2017).
29. Ferguson, D.B., Physiology for dental Students. *Butterworth-Heinemann* (2014).
30. Oh, W., Nephrology and fluid/electrolyte physiology: neonatology questions and controversies. *Elsevier Health Sciences* (2018).
31. Moorthy, A.V. & Becker, Bryan & Boehm, F.J. & Djamali, Arjang. Pathophysiology of Kidney Disease and Hypertension E-Book. *Elsevier Health Sciences* (2008).
32. Bianchetti, M.G., G.D. Simonetti, and A. Bettinelli, Body fluids and salt metabolism-Part I. *Italian journal of pediatrics*, 35(1): p. 1-6 (2009).
33. Bouchard, J., R. Claire-Del Granado, and R.L. Mehta, Components of Fluid Balance and Monitoring, in Critical Care Nephrology. *Elsevier*. p. 816-821. e2 (2019).
34. Taylor, A., Capillary fluid filtration. Starling forces and lymph flow. *Circulation research*, 49(3): p. 557-575 (1981).
35. Parker, J.C., Hydraulic conductance of lung endothelial phenotypes and Starling safety factors against edema. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 292(2): p. L378-L380 (2007).
36. Taylor, A.E. and T.M. Moore, Capillary fluid exchange. *Advances in Physiology Education*, 27(6): p. S203 (1999).

37. Nadon, A. and E. Schmidt, Pathobiology of the Acute Respiratory Distress Syndrome. (2014).
38. Albin, M. Neurogenic pulmonary edema. in 6th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. *Springer*. (1986).
39. Von Goethe, J.W., Goethe's Works. Vol. 1. G. Barrie (1885).
40. Parker, J.C. and M.I. Townsley, Physiological determinants of the pulmonary filtration coefficient. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 295(2): p. L235-L237 (2008).
41. Drake, R., K. Gaar, and A. Taylor, Estimation of the filtration coefficient of pulmonary exchange vessels. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 234(3): p. H266-H274 (1987).
42. Kongstad, L., A. Möller, and P. Grände, Reflection coefficient for albumin and capillary fluid permeability in cat calf muscle after traumatic injury. *Acta physiologica scandinavica*, 165(4): p. 369-377 (1999).
43. Olszewski, W.L., The lymphatic system in body homeostasis: physiological conditions. *Lymphatic research and biology*, 1(1): p. 11-24 (2003).
44. Mortimer, P.S. and S.G. Rockson, New developments in clinical aspects of lymphatic disease. *The Journal of clinical investigation*, 124(3): p. 915-921 (2014).
45. Shang, T., Liang, J., Kapron, C. M., & Liu, J. Pathophysiology of aged lymphatic vessels. *Aging (Albany NY)*, 11(16): p. 6602 (2019).
46. Swartz, M.A., The physiology of the lymphatic system. *Advanced drug delivery reviews*, 2001. 50(1-2): p. 3-20.
47. Villeco, J.P., Edema: a silent but important factor. *Journal of Hand Therapy*, 25(2): p. 153-162 (2012).
48. Lala, P.K., P. Nandi, and M. Majumder, Roles of prostaglandins in tumor-associated lymphangiogenesis with special reference to breast cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 37(2): p. 369-384 (2018).
49. Staub, N.C., Pulmonary edema due to increased microvascular permeability to fluid and protein. *Circulation research*, 43(2): p. 143-151 (1978).
50. Rigler, L.G. and E.L. Surprenant. Pulmonary edema. in *Seminars in Roentgenology*. *Elsevier* (1967).
51. Uejima, T., General pediatric emergencies: acute pulmonary edema. *Anesthesiology Clinics of North America*, 19(2): p. 383-389 (2001).

52. Guven, G., M.P. Hilty, and C. Ince, Microcirculation: physiology, pathophysiology, and clinical application. *Blood purification*, 49(1-2): p. 143-150 (2020).
53. Yamaguchi, T., T. Ishikawa, and Y. Imai, Integrated nano-biomechanics. *William Andrew* (2018).
54. Granger, H. J., Schelling, M. E., Lewis, R. E., Zawieja, D. C., & Meininger, C. J. Physiology and pathobiology of the microcirculation. *American journal of otolaryngology*, 9(6): p. 264-277 (1988).
55. Jackson, W.F., Potassium channels in the peripheral microcirculation. *Microcirculation*, 12(1): p. 113-127 (2005).
56. Scioli, M. G., Bielli, A., Arcuri, G., Ferlosio, A., & Orlandi, A. Ageing and microvasculature. *Vascular cell*, 6(1): p. 1-15 (2014).
57. Jacob, M., D. Chappell, and B.F. Becker, Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation. *Critical Care*, 20(1): p. 1-13 (2016).
58. Jain, V., S. Bordes, and A. Bhardwaj, Physiology, Pulmonary Circulatory System. *StatPearls* [Internet], (2021).
59. Suresh, K. and L.A. Shimoda, Lung circulation. *Comprehensive Physiology*, 6(2): p. 897 (2016).
60. Peacock, A.J., R. Naeije, and L.J. Rubin, Pulmonary circulation: diseases and their treatment. *CRC Press* (2016).
61. Andy Adam, Adrian Dixon, Jonathan Gillard. Grainger & Allison's Diagnostic Radiology, 2 Volume Set E-Book. *Elsevier Health Sciences* (2020).
62. Naeije, R. and N. Westerhof, Pulmonary vascular function, in Textbook of pulmonary vascular disease. *Springer*. p. 61-72 (2011).
63. ChamCarthy, M.R., A. Kandathil, and S.P. Kalva, Pulmonary vascular pathophysiology. *Cardiovascular diagnosis and therapy*, 8(3): p. 208 (2018).
64. Soohoo, S. L., Goldberg, H. S., Graham, R., & Jasper, A. C. Zone 2 and zone 3 pulmonary blood flow. *Journal of Applied Physiology*, 62(5): p. 1982-1988 (1987).
65. Cui, X., Chen, W., Zhou, H., Gong, Y., Zhu, B., Lv, X., ... & Ma, H. Pulmonary Edema in COVID-19 Patients: Mechanisms and Treatment Potential. *Frontiers in Pharmacology*, 2021. 12: p. 1444 (2021).

66. Van Kooy, M.A. and R.F. Gargiulo, Postobstructive pulmonary edema. *American family physician*, 62(2): p. 401-404 (2000).
67. Grune, J., Beyhoff, N., Hegemann, N., Lauryn, J. H., & Kuebler, W. M. From bedside to bench: lung ultrasound for the assessment of pulmonary edema in animal models. *Cell and tissue research*, 380(2): p. 379-392 (2020).
68. Perina, D.G., Noncardiogenic pulmonary edema. *Emergency Medicine Clinics*, 21(2): p. 385-393 (2003).
69. López-Rivera, F., Martínez, H. R. C., LaTorre, C. C., González, A. R., Vélez, J. G. R., Ferrer, V. F., ... & Monroig, H. A. G. Treatment of hypertensive cardiogenic edema with intravenous high-dose nitroglycerin in a patient presenting with signs of respiratory failure: a case report and review of the literature. *The American journal of case reports*, 20: p. 83 (2019).
70. Angerio, A.D. and P.A. Kot, Pathophysiology of pulmonary edema. *Critical care nursing quarterly*, 17(3): p. 21-26 (1994).
71. Sureka, B., K. Bansal, and A. Arora, Pulmonary edema– cardiogenic or noncardiogenic? *Journal of family medicine and primary care*, 4(2): p. 290 (2015).
72. Ware, L.B. and M.A. Matthay, Acute pulmonary edema. *New England Journal of Medicine*, 353(26): p. 2788-2796 (2005).
73. Bachmann, M. and J.E. Waldrop, Noncardiogenic pulmonary edema. *Compendium (Yardley, PA)*, 2012. 34(11): p. E1-E1 (2012).
74. Clark, S.B. and M.P. Soos, Noncardiogenic Pulmonary Edema. (2019).
75. White, B. and S. Roberts, High permeability pulmonary oedema: pathophysiology and mechanisms of injury. *Intensive care nursing*, 6(2): p. 79-91 (1990).
76. Sarkar, M., Madabhavi, I., Niranjana, N., & Dogra, M. Auscultation of the respiratory system. *Annals of thoracic medicine*, 10(3): p. 158 (2015).
77. Malek, R. and S. Soufi, Pulmonary Edema. *StatPearls* [Internet], (2021).
78. Barile, M., Hida, T., Hammer, M., & Hatabu, H. Simple quantitative chest CT for pulmonary edema. *European journal of radiology open*, 2020. 7: p. 100273 (2020).
79. Casadei Gardini, A., Aquilina, M., Oboldi, D., Lucchesi, A., Carloni, S., Tenti, E., Burgio, M. A., Amadori, D., & Frassinetti, G. L. Separate episodes of capillary leak syndrome and pulmonary hypertension after adjuvant gemcitabine and three years later after nab-paclitaxel for metastatic disease. *BMC cancer*, 13(1): p. 1-5 (2013).

80. Murray, J., Pulmonary edema: pathophysiology and diagnosis. *The International journal of tuberculosis and lung disease*, 15(2): p. 155-160 (2011).
81. Guntupalli, K.K., Acute pulmonary edema. *Cardiology clinics*, 2(2): p. 183-200 (1984).
82. Gupta, R.C., Non-anticoagulant rodenticides, in *Veterinary Toxicology. Elsevier*. p. 613-626 (2018).
83. Sobonya, R.E. and J. Kleinerman, Recurrent Pulmonary Edema Induced by α 1-Naphthyl Thiourea. *American Review of Respiratory Disease*, 108(4): p. 926-932 (1973).
84. Sayers, E. W., Barrett, T., Benson, D. A., Bolton, E., Bryant, S. H., Canese, K., ... & Ye, J. Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic acids research*, 49(D1): p. D10 (2010).
85. Matthew Wallig, Brad Bolon, Wanda Haschek, Colin Rousseaux. *Fundamentals of toxicologic pathology. Academic press* (2017).
86. Rowland, A. and G. Yost, Selected pneumotoxic agents. *Comprehensive Toxicology*, p. 511-547 (2010).
87. Harrison, L. R., Colvin, B. M., Greene, J. T., Newman, L. E., & Cole Jr, J. R. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(3): p. 217-221 (1990).
88. Hardwick, S. J., Skamarauskas, J. T., Smith, L. L., Upshall, D. G., & Cohen, G. M. Protection of rats against the effects of α -naphthylthiourea (ANTU) by elevation of non-protein sulphhydryl levels. *Biochemical pharmacology*, 42(6): p. 1203-1208 (1991).
89. Comert, M., Sipahi, E. Y., Ustun, H., Isikdemir, F., Numanoglu, G., Barut, F., ... & Banoglu, Z. N. Morphine modulates inducible nitric oxide synthase expression and reduces pulmonary oedema induced by α -naphthylthiourea. *European journal of pharmacology*, 511(2-3): p. 183-189 (2005).
90. Barton, C. C., Bucci, T. J., Lomax, L. G., Warbritton, A. G., & Mehendale, H. M. Stimulated pulmonary cell hyperplasia underlies resistance to α -naphthylthiourea. *Toxicology*, 143(2): p. 167-181 (2000).
91. Richter, C.P., The physiology and cytology of pulmonary edema and pleural effusion produced in rats by alpha-naphthyl thiourea (ANTU). *Journal of Thoracic Surgery*, 23(1): p. 66-91. (1952).
92. Peoples, S. The pharmacology of rodenticides. *in Proceedings of the Vertebrate Pest Conference*. (1970).

93. Mais, D.E. and T.R. Bosin, A role for serotonin in α -naphthylthiourea-induced pulmonary edema. *Toxicology and applied pharmacology*, 74(2): p. 185-194 (1984).
94. Sipahi, E., Hodoğlugil, U. G. U. R., Ercan, Z. S., & Türker, R. K. Acute effect of endothelin-1 on lung oedema induced by alpha-naphthylthiourea (ANTU). *Pharmacological research*, 33(6): p. 375-378 (1996).
95. Sipahi, E. Y., Tekin, I. O., Comert, M., Barut, F., Ustun, H., & Sipahi, T. H. Oxidized low-density lipoproteins accumulate in rat lung after experimental lung edema induced by alpha-naphthylthiourea (ANTU). *Pharmacological research*, 50(6): p. 585-591 (2004).
96. Wiener-Kronish, J.P. and V. Broaddus, Interrelationship of pleural and pulmonary interstitial liquid. *Annual review of physiology*, 55(1): p. 209-226 (1993).
97. Hancı, V., Yurdakan, G., Yurtlu, S., Turan, I. Ö., & Sipahi, E. Y. Protective effect of dexmedetomidine in a rat model of α -naphthylthiourea-induced acute lung injury. *journal of surgical research*, 178(1): p. 424-430 (2012).
98. Sipahi, E., Hodoğlugil, U., Üstün, H., Zengil, H., Türker, R. K., & Ercan, Z. S. An unexpected interaction between NG-nitro-l-arginine methyl ester and l-arginine in α -naphthylthiourea-induced pulmonary oedema in rats. *European journal of pharmacology*, 321(1): p. 45-51 (1997).
99. Lee, P.W., T. Arnau, and R.A. Neal, Metabolism of α -naphthylthiourea by rat liver and rat lung microsomes. *Toxicology and applied pharmacology*, 53(1): p. 164-173 (1980).
100. Pellegrini, G., Williams, D. P., Amadio, D., Park, B. K., & Kipar, A. Morphological and Mechanistic Aspects of Thiourea-Induced Acute Lung Injury and Tolerance in the Rat. *Toxicologic pathology*, 48(6): p. 725-737. (2020).
101. Pelfrène, A.F., Rodenticides, in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. *Elsevier*. p. 2153-2217 (2010).
102. Richter, C.P., The development and use of alpha-naphthyl thiourea (ANTU) as a rat poison. *Journal of the American Medical Association*, 1945. 129(14): p. 927-931.
103. Gray, H., Anatomy of the human body. *30th American edition. Clemente C*, editor. Baltimore, MD: Williams & Wilkins (1985).
104. Shearman, L. P., Sriram, S., Weaver, D. R., Maywood, E. S., Chaves, I., Zheng, B., ... & Reppert, S. M. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. 288(5468): p. 1013-1019 (2000).

105. Balsalobre, A., Clock genes in mammalian peripheral tissues. *Cell and tissue research*, 309(1): p. 193-199 (2002).
106. Korkmaz, A., Topal, T., Tan, D. X., & Reiter, R. J. Role of melatonin in metabolic regulation. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 10(4): p. 261-270 (2009).
107. Touitou, Y., Melatonin: hormone and drug. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses Filiales (France)*, (1998).
108. Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10): p. 2587-2587 (1958).
109. Poeggeler, B., Thuermann, S., Dose, A., Schoenke, M., Burkhardt, S., & Hardeland, R. Melatonin's unique radical scavenging properties—roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *Journal of pineal research*, 33(1): p. 20-30 (2002).
110. Hardeland, R., Antioxidative protection by melatonin. *Endocrine*, 27(2): p. 119-130 (2005).
111. Axelrod, J. and H. Weissbach, Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science*, 131(3409): p. 1312-1312 (1960).
112. Klein, D.C., The Aschoff/Pittendrigh lecture: theory of the origin of the pineal gland—a tale of conflict and resolution. *Journal of biological rhythms*, 19(4): p. 264-279 (2004).
113. Hardeland, R. and S. Pandi-Perumal, Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutrition & metabolism*, 2(1): p. 1-15 (2005).
114. Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., León, J., Carazo, A., & Khaldy, H. Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. Developments in tryptophan and serotonin metabolism, p. 549-557 (2003).
115. Ressmeyer, A. R., Mayo, J. C., Zelosko, V., Sáinz, R. M., Tan, D. X., Poeggeler, B., ... & Hardeland, R. Antioxidant properties of the melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK): scavenging of free radicals and prevention of protein destruction. *Redox report*, 8(4): p. 205-213 (2003).
116. Marrocco, I., F. Altieri, and I. Peluso, Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*, (2017).
117. Riley, P., Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *International journal of radiation biology*, 65(1): p. 27-33 (1994).

118. Halliwell, B., Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American journal of medicine*, 91(3): p. S14-S22 (1991).
119. Halliwell, B., Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*, 35(5): p. 1147-1150 (2007).
120. Dasuri, K., L. Zhang, and J.N. Keller, Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 62: p. 170-185 (2013).
121. Ighodaro, O.M., Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108: p. 656-662 (2018).
122. Chandrasekaran, A., M.d.P.S. Idelchik, and J.A. Melendez, Redox control of senescence and age-related disease. *Redox biology*, 11: p. 91-102 (2017).
123. Musatov, A. and N.C. Robinson, Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. *Focus on cytochrome c oxidase. Free radical research*, 46(11): p. 1313-1326 (2012).
124. V Goncharov, N., V Avdonin, P., D Nadeev, A., L Zharkikh, I., & O Jenkins, R. Reactive oxygen species in pathogenesis of atherosclerosis. *Current pharmaceutical design*, 21(9): p. 1134-1146 (2015).
125. Schieber, M. and N.S. Chandel, ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10): p. R453-R462 (2014).
126. Patlevič, P., Vašková, J., Švorc Jr, P., Vaško, L., & Švorc, P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative medicine research*, 2016. 5(4): p. 250-258 (2016).
127. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1): p. 44-84 (2007).
128. Majima, H. J., Oberley, T. D., Furukawa, K., Mattson, M. P., Yen, H. C., Szweda, L. I., & Clair, D. K. S. Prevention of mitochondrial injury by manganese superoxide dismutase reveals a primary mechanism for alkaline-induced cell death. *Journal of Biological Chemistry*, 273(14): p. 8217-8224 (1998).
129. Hunt, C. R., Sim, J. E., Sullivan, S. J., Featherstone, T., Golden, W., Von Kapp-Herr, C., ... & Spitz, D. R. Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress. *Cancer research*, 58(17): p. 3986-3992 (1998).

130. Cabrera, M.P. and R.H. Chihuailaf, Antioxidants and the integrity of ocular tissues. *Veterinary medicine international*, (2011).
131. Chen, Y., G. Mehta, and V. Vasiliou, Antioxidant defenses in the ocular surface. *The ocular surface*, 7(4): p. 176-185 (2009).
132. Büyüksulu, N. and T. Yigitbasi, Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(3): p. 197 (2015).
133. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1): p. 9-19 (2012).
134. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10): p. 577-586 (2005).
135. Curello, S., Ceconi, C., Bigoli, C., Ferrari, R., Albertini, A., & Guarnieri, C. Changes in the cardiac glutathione status after ischemia and reperfusion. *Experientia*, 41(1): p. 42-43 (1985).
136. Niles, R.M., Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 555(1-2): p. 97-105 (2004).
137. Donato, L.J. and N. Noy, Suppression of mammary carcinoma growth by retinoic acid: proapoptotic genes are targets for retinoic acid receptor and cellular retinoic acid-binding protein II signaling. *Cancer research*, 65(18): p. 8193-8199 (2005).
138. Gwayi, N. and R. Bernard, The effects of melatonin on sperm motility in vitro in Wistar rats. *Andrologia*, 34(6): p. 391-396 (2002).
139. Grantham, C. and Y. Bakhle, Effect of acute lung injury on metabolism of adenine nucleotides in rat perfused lung. *British journal of pharmacology*, 94(4): p. 1029 (1988).
140. Saxena, G., Bharti, S., Kamat, P. K., Sharma, S., & Nath, C. Melatonin alleviates memory deficits and neuronal degeneration induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94(3): p. 397-403 (2010).
141. Czechowska, G., Celinski, K., Korolczuk, A., Wojcicka, G., Dudka, J., Bojarska, A., & Reiter, R. J. Protective effects of melatonin against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *J Physiol Pharmacol*, 66(4): p. 567-79 (2015).

142. Solmaz, I., Gürkanlar, D., Gökçil, Z., Göksoy, C., Özkan, M., & Erdoğan, E. Antiepileptic activity of melatonin in guinea pigs with pentylenetetrazol-induced seizures. *Neurological research*, 31(9): p. 989-995 (2009).
143. Bakhle, Y. and C. Grantham, Effects of pulmonary oedema on pharmacokinetics of adenosine in rat isolated lungs. *British journal of pharmacology*, 1987. 91(4): p. 849-856 (1987).
144. Książek, M., Baranowska, U., Chabowski, A., & Baranowski, M. Arteriovenous sphingosine-1-phosphate differences across selected organs of the rat. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 45(1): p. 67-77 (2018).
145. Atalay, F., G. Yurdakan, and E. Yilmaz-Sipahi, Effect of the endothelin receptor antagonist tezosentan on alpha-naphthylthiourea-induced lung injury in rats. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 28(2): p. 72-78 (2012).
146. Erdem, M.K., G. Yurdakan, and E. Yilmaz-Sipahi, The effects of ketamine, midazolam and ketamine/xylazine on acute lung injury induced by α -naphthylthiourea in rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 23(3): p. 343-351 (2014).
147. Giroux, M. C., Santamaria, R., Hélie, P., Burns, P., Beaudry, F., & Vachon, P. Physiological, pharmacokinetic and liver metabolism comparisons between 3-, 6-, 12-and 18-month-old male Sprague Dawley rats under ketamine-xylazine anesthesia. *Experimental animals*, 65(1): p. 63-75 (2016).
148. Demir, M., Yilmaz, U., Colak, C., Cigremis, Y., Ozyalin, F., Tekedereli, I., ... & Sandal, S. The effects of lack of melatonin in experimental rat model of Alzheimer's Disease: relationship with FEZ1 gene expression. *Medicine*, 6(2): p. 217-23 (2017).
149. Choi, H.K., W. Willett, and G. Curhan, Coffee consumption and risk of incident gout in men: a prospective study. *Arthritis & Rheumatism*, 56(6): p. 2049-2055 (2007).
150. Ellman, G., Tissue sulphhydryl groups *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77. (1959).
151. Sun, Y., L.W. Oberley, and Y. Li, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*, 34(3): p. 497-500 (1988).
152. Burnie, J., A. Coke, and R. Matthews, Restriction endonuclease analysis of *Aspergillus fumigatus* DNA. *Journal of clinical pathology*, 45(4): p. 324-327 (1992).
153. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193: p. 265-75 (1951).

154. Erel, O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12): p. 1103-1111 (2005).
155. Erel, O., A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4): p. 277-285 (2004).
156. Ressler, B., The role of catecholamines in formation and resolution of pulmonary oedema. *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders)*, 7(1): p. 27-35 (2007).
157. Ahmad, Z., R. Krishnadas, and P. Froeschle, Pleural effusion: diagnosis and management. *Journal of perioperative practice*, 19(8): p. 242-247 (2009).
158. Zarogiannis, S.G., et al., Salbutamol modulation of ion transport in sheep parietal pleura is protein dependent. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(12): p. 1874-1876 (2011).
159. Huang, X. L., Zhou, J. L., Zhou, X. H., Xian, X. H., & Ding, C. H. Ameliorative effects of exogenous sulfur dioxide on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Sheng li xue bao:[Acta physiologica Sinica]*, 61(5): p. 499-503 (2009).
160. You, Q. H., Zhang, D., Niu, C. C., Zhu, Z. M., Wang, N., Yue, Y., & Sun, G. Y. Expression of IL-17A and IL-17F in lipopolysaccharide-induced acute lung injury and the counteraction of anisodamine or methylprednisolone. *Cytokine*, 66(1): p. 78-86 (2014).
161. Genovese, T., Paola, R. D., Mazzon, E., Muià, C., Caputi, A. P., & Cuzzocrea, S. Melatonin limits lung injury in bleomycin treated mice. *Journal of pineal research*, 39(2): p. 105-112 (2005).
162. Gao, F., Kinnula, V. L., Myllärniemi, M., & Oury, T. D. Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxidants & redox signaling*, 10(2): p. 343-354 (2008).
163. Nadeem, A., Siddiqui, N., Alharbi, N. O., & Alharbi, M. M. Airway and systemic oxidant-antioxidant dysregulation in asthma: a possible scenario of oxidants spill over from lung into blood. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 29(1): p. 31-40 (2014).
164. Elango, N., S. Samuel, and P. Chinnakkannu, Enzymatic and non-enzymatic antioxidant status in stage (III) human oral squamous cell carcinoma and treated with radical radio therapy: influence of selenium supplementation. *Clinica Chimica Acta*, 373(1-2): p. 92-98 (2006).

165. Zheng, W., Huang, L. Z., Zhao, L., Wang, B., Xu, H. B., Wang, G. Y., ... & Zhou, H. Superoxide dismutase activity and malondialdehyde level in plasma and morphological evaluation of acute severe hemorrhagic shock in rats. *The American journal of emergency medicine*, 26(1): p. 54-58 (2008).
166. Arafa, M.H., D.A. Mohamed, and H.H. Atteia, Ameliorative effect of N-acetyl cysteine on alpha-cypermethrin-induced pulmonary toxicity in male rats. *Environmental toxicology*, 30(1): p. 26-43 (2015).
167. Yang, H., Wen, Y., Hou-you, Y., Yu-tong, W., Chuan-ming, L., Jian, X., & Lu, H. Combined treatment with bone marrow mesenchymal stem cells and methylprednisolone in paraquat-induced acute lung injury. in BMC emergency medicine. *BioMed Central* (2013).
168. Liu, C. H., Zhang, W. D., Wang, J. J., & Feng, S. D. Senegenin ameliorate acute lung injury through reduction of oxidative stress and inhibition of inflammation in cecal ligation and puncture-induced sepsis rats. *Inflammation*, 39(2): p. 900-906 (2016).
169. Gad El-Hak, H.N., O.E. Mohamed, and Z.I. Nabil, Evaluating the protective role of Deglycyrrhizinated licorice root supplement on bleomycin induced pulmonary oxidative damage. *Toxicology Mechanisms and Methods*, p. 1-14 (2021).
170. Liu, Y., Xu, J., Zhao, L., Cheng, J., & Chen, B. Remote Inflammatory Preconditioning Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury via Inhibition of Intrinsic Apoptosis in Rats. *Journal of Immunology Research*, (2021).
171. Tozan, A., Şehirli, Ö., Omurtag, G. Z., Cetinel, S., Gedik, N., & Şener, G. Ginkgo biloba extract reduces naphthalene-induced oxidative damage in mice. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(1): p. 72-77 (2007).
172. Zhao, L., Wang, X., Chang, Q., Xu, J., Huang, Y., Guo, Q., ... & Wang, J. Neferine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *European journal of pharmacology*, 627(1-3): p. 304-312 (2010).
173. Li, Q. F., Zhu, Y. S., Jiang, H., Xu, H., & Sun, Y. Isoflurane preconditioning ameliorates endotoxin-induced acute lung injury and mortality in rats. *Anesthesia & Analgesia*, 109(5): p. 1591-1597 (2009).
174. Wang, F., Wang, M., Wang, J., Chen, M., Sun, S., Yao, S., & Xia, H. Maresin1 ameliorates sepsis-associated lung injury by inhibiting the activation of the JAK2/STAT3 and MAPK/NF-κB signaling pathways. *Microbial Pathogenesis*, 148: p. 104468 (2020).

175. Jiang, Q., Z. Chen, and H. Jiang, Flufenamic acid alleviates sepsis-induced lung injury by up-regulating CBR1. *Drug Development Research*, 81(7): p. 885-892 (2020).
176. Ling, L., J. Tong, and L. Zeng, Paeoniflorin improves acute lung injury in sepsis by activating Nrf2/Keap1 signaling pathway. *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Sichuan University. Medical Science Edition*, 51(5): p. 664-669 (2020).
177. Shokrzadeh, M., Chabra, A., Naghshvar, F., Ahmadi, A., Jafarinejad, M., & Hasani-Nourian, Y. Protective effects of melatonin against cyclophosphamide-induced oxidative lung toxicity in mice. *Drug research*, 65(06): p. 281-286 (2015).
178. Wang, M. L., Wei, C. H., Wang, W. D., Wang, J. S., Zhang, J., & Wang, J. J. Melatonin attenuates lung ischaemia–reperfusion injury via inhibition of oxidative stress and inflammation. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*, 26(5): p. 761-767 (2018).

EK AÇIKLAMALAR A.

ETİK KURUL İZİNİ



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 01/04/2021

TOPLANTI NO : 2021/04

- 5- Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2021-07-01/04 Protokol no'lu "Pinealektomi ve Eksojen Melatoninin Sıçanlarda α -Naftiltiyöre Tarafından İndüklenen Pulmoner Ödem Üzerine Etkilerinin Araştırılması" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Emine YILMAZ CAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Mohammed Raed Abdullah AL GBURİ ilk ve orta öğrenimini Irak'ta tamamladı. El Gomhoureya okulu Lisesinden mezun oldu. 2017 yılında al-Isra University Collage Tıbbi Laboratuvar Tekniği bölümünden mezun oldu. 2022 yılında Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisans programını tamamladı