

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KEMOTERAPİ UYGULAMASININ SIÇAN AKCİĞER DOKUSUNA
ETKİLERİNİN YAPISAL DÜZEYDE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLCE NAZ YAZICI

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Celal ILGAZ

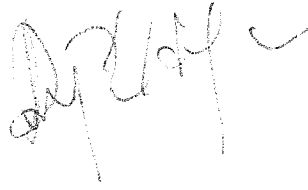
ANKARA
Eylül 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 25/09/2009

İmza
Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof.Dr.Celal Ilgaz
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Engin Çalgüner
Gazi Üniversitesi



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince Histoloji ve Embriyoloji bilimini öğreten, sevdiren, bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bu zorlu yoldaki ışığım olan Anabilim Dalı Başkanımız Hocam Sayın Prof. Dr. Deniz Erdoğan başta olmak üzere, anlayışlı ve yapıcı yaklaşımları ile beni yönlendiren Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Celal Ilgaz'a, yetişmemde katkıları olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Tahir Hatipoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Candan Özoğul'a, her zaman desteklerinden güç aldığım Doç. Dr. Çiğdem Elmas ve Doç. Dr. Gülnur Take'ye;

Tezimin deney aşamasında büyük yardım ve desteğini gördüğüm Arş. Gör. Seren Gülşen Gürgen'e, tezimi yazmamda bitmeyen sabırları ile destek olan Arş. Gör. Fatma Helvacıoğlu ve Arş. Gör. Güleser Göktaş'a, Anabilim Dalımız personeli Şemsi Öztürk, Recep Orhan ve Tekin Koçak'a;

Bana verdikleri koşulsuz sevgi, özveri ve emeklerle bugünlere gelmemde büyük katkıları olan sevgili babam Hüseyin Yazıcı ve biricik annem Gürsel Yazıcı'ya, daima yanımda olan kardeşim Hamide Birce Yazıcı'ya, bana fedakarlığın anlamını öğreten büyük annem Ülkü Kolcu'ya, göklerden beni izlediklerine inandığım manevi sığınaklarım Servet Kolcu, Ahmet Yazıcı ve Hamide Yazıcı'ya, tez çalışmam süresince sevgi ve anlayışıyla bana moral aşılayan sevgili yol arkadaşım Ömer Saraç'a teşekkürlerimle...

Gülce Naz Saraç
Eylül-2009 Ankara

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	i
Teşekkür.....	ii
İçindekiler.....	iii
Tablolar Dizini.....	iv
Şekiller Dizini	v
Resimler Dizini.....	vi
Semboller, Kısaltmalar.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1.Akciğerlerin Gelişimi.....	6
2.2.Akciğerlerin Anatomisi.....	12
2.3.Akciğerlerin Histolojisi.....	26
2.4.Akciğerlerin Fizyolojisi.....	39
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	50
3.1 Deney Hayvanları ve Gruplandırma.....	50
3.2 İmmünohistokimyasal Yöntem.....	51
3.3 Elektron Mikroskopik Yöntem.....	53
3.4 İstatistiksel Yöntem.....	55
4. BULGULAR.....	57
4.1 İmmünohistokimyasal Bulgular.....	57
4.2 Elektron Mikroskopik Bulgular.....	61
4.3 İstatistiksel Bulgular.....	62
5. TARTIŞMA.....	92
6. SONUÇ.....	108
7. ÖZET.....	111
8. SUMMARY.....	113
9. KAYNAKLAR.....	115
10. ÖZGEÇMİŞ.....	134

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Tüm gruplar için antikorlara ait tanımlayıcı istatistiksel median (25-75) değerleri..	64
Tablo 2: Tüm gruplar için antikorlara ait tanımlayıcı istatistiksel persentil değerleri.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Gruplar arasındaki PCNA antikoru immünreaktivitesi karşılaştırması.....	65
Şekil 2: Gruplar arasındaki AT ₁ antikoru immünreaktivitesi karşılaştırması.....	65
Şekil 3: Gruplar arasındaki kaspaz-8 antikoru immünreaktivitesi karşılaştırması.....	66
Şekil 4: Gruplar arasındaki kaspaz-9 antikoru immünreaktivitesi karşılaştırması.....	66

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Kontrol grubuna ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100,400).....	67
Resim 2: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100,400).....	67
Resim 3: Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	68
Resim 4: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400, 1000).....	68
Resim 5: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	69
Resim 6: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer'de PCNA antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100,400).....	69
Resim 7: Kontrol grubuna ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400, 1000).....	70
Resim 8: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	70
Resim 9: Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100, 400).....	71
Resim 10: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	71
Resim 11: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400, 1000).....	72
Resim 12: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	72
Resim 13: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer'de AT ₁ antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	73
Resim 14: Kontrol grubuna ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	73
Resim 15: Kontrol grubuna ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	74
Resim 16: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	74
Resim 17: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	75
Resim 18: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor	

tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	75
Resim 19: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	76
Resim 20: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	76
Resim 21: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	77
Resim 22: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	77
Resim 23: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	78
Resim 24: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	78
Resim 25: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer'de kaspaz-8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	79
Resim 26: Kontrol grubuna ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	79
Resim 27: Kontrol grubuna ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	80
Resim 28: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	80
Resim 29: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	81
Resim 30: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	81
Resim 31: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	82
Resim 32: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40, 100).....	82
Resim 33: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	83
Resim 34: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X40).....	83
Resim 35: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	84
Resim 36: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer'de kaspaz-9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X100).....	84

Resim 37: Kontrol grubuna ait akciğer dokusu ince kesitinde alveoler makrofaj ve tip 1 alveoler hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000, 12000).....	85
Resim 38: Kontrol grubuna ait akciğer dokusu ince kesitinde tip 2 alveoler hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	85
Resim 39: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde tip 1 ve tip 2 alveoler hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	86
Resim 40: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde lamellar cisim ve fibrozis (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3000).....	86
Resim 41: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde apoptozis (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3000).....	87
Resim 42: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan ait akciğer dokusu ince kesitinde tip 2 alveoler hücre ve lamellar cisimler (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3000).....	87
Resim 43: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan ait akciğer dokusu ince kesitinde tip 2 alveoler hücre ve çekirdek zarındaki açılma (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	88
Resim 44: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde lamellar cisimler (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3000).....	88
Resim 45: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde lamellar cisim, vakuol ve apoptozis (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	89
Resim 46: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde lamellar cisim ve vakuoller (Uranil asetat-Kurşun sitrat X3000).....	89
Resim 47: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde lamellar cisim ve vakuoller (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	90
Resim 48: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde tip 1 alveoler hücre (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	90
Resim 49: Siklofosfamid ve üç antioksidan'ın birlikte uygulandığı gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde apoptozis (Uranil asetat-Kurşun sitrat X7000).....	91

SEMBOLLER, KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AT ₁	: Anjiyotensin tip-1 reseptör
Apaf-1	: Apoptotik proteaz aktifleştirici faktör-1
Bad	: Hücre ölümü Bcl-2 antagonisti
Bcl-2	: B hücre lenfoma geni-2
BDMA	: Benzildimetilamin
d ATP	: Deoksiadenozin trifosfat
DDSA	: Dodesilsusnikanhidril
DNES	: Yaygın nöroendokrin sistem
DPG	: Difosfogliserat
FADD	: Fas-bağımlı hücre ölüm alanı
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
NADPH	: Nikotilamin adenin dinükleotit fosfat
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PCNA	: Çoğalan hücre çekirdek antijeni
RDS	: Respiratuvar distres sendromu
TUNEL	: Terminal dUTP nick end labeling

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olan kanser tedavisinde, son on yıl sürecince büyük gelişmeler olmuştur. Kanser tedavisi yöntemleri genelde kemoterapi, radyoterapi, cerrahi ve immünoterapi olup, kanser tanısı konulan hastaların bireysel özellik ve hastalık evresine göre bu yöntemlerden bir ya da birkaçı kullanılmaktadır.¹ Bu tedavi yöntemleri ile hastanın daha nitelikli yaşaması ve yaşam süresinin uzaması amaçlanmaktadır.

Kanser tedavisinde kullanılan radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin bilinen birçok toksik etkisi vardır.^{2,3} Kemoterapötik ilaçlar arasında; klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılanlardan birisi de siklofosfamittir. Siklofosfamid ağızdan alındığında etkili olan bir alkilleyici ogzazofosforindir. Malign ve yangılı olgularda, immün baskılayıcı rol oynar ve bu erekle kullanılır. Siklofosfamid kendi başına inaktif bir moleküldür ve sitokrom P450 çok fonksiyonlu oksidaz sistemi tarafından aktive edilir. Siklofosfamid bu sistemce karaciğer mikrozomlarında metabolize edilir (alkilleyici fosfamid) ve bir siklofosfamid metaboliti olan akroleine indirgenir.^{4,5,6}

Siklofosfamid'in neden olduğu akciğer toksiditesi; literatürlerde açıklanmış ancak akciğer'e özel mekanizma tam olarak özgülleştirilmemiştir. Oksidaz sistemi aracılığıyla akciğer hasarı metabolizmasının işleyişi de açıklanamamıştır.⁴

Akrolein, genelde akciğer hasarından yükümlü molekül olarak gösterilmektedir. Akrolein'in fare akciğerinde metabolik yolda yükümlü olup olmadığı ve siklofosfamid hasarındaki tipik rolü gözlemlerle tam olarak belirlenememiştir. Akciğer mikrozomlarında NADPH destekli alkilleme

metabolitlerinin oluşturulması farelerde sıçanlardan daha düşüktür. Bu da; teröpatik etki ve toksiditenin özelliklerinin türler arasında farklı olduğunu göstermektedir.⁷ Kemoterapi uygulamasının akciğer dokusu üzerine yapabileceği olumsuz etkilerin mekanizmasını saptayabilmek için normal akciğer döngüsünde gerekli olan çoğalma, hasar ve ölüm sinyal moleküllerinin işleyişini belirlemek gerekmektedir.

Çoğalan hücre çekirdek antijeni (PCNA), 36 kDa'luk, hücre döngüsünün işleyişinde önemli role sahip bir çekirdek proteindir. DNA hasarı onarımında, DNA sentezi süresince ve S–evresinde DNA polimeraz için ko-faktör olarak görev alır.^{8,9,10,11,12} İlk kez 1978 yılında Miyachi tarafından, sistemik lupus eritematoz'lu hastaların serumunda çoğalan hücre antijenleriyle tepkime veren, otoantikörlerin varlığı gösterilmiştir.¹³ Aynı yıllarda Çeliş¹⁰, proliferen olan hücrelerin, çift boyutlu jel elektroforezinde, hücre döngüsüyle ilişkili bir protein olan siklin'i tanımlamıştır.⁸

Mathews¹⁴ bu iki proteinin aynı olduğunu göstermiş ve daha sonrada PCN / siklin'in DNA replikasyonu ile yükümlü olan polimeraz deltanın kofaktörü olduğu kanıtlanmıştır.^{15,16} Ayrıca PCNA'nın, polimeraz deltadan bağımsız olarak DNA onarım sentezinde görev aldığı da gösterilmiştir.^{13,17,18} İn situ hibridizasyonla, PCNA geninin, 20'inci kromozomun kısa kolunda (20p12) yerleştiği gösterilmiştir.^{8,12,19}

Karaciğer hücre karsinoması üzerine yapılan çalışmalarda; hücrede tümör baskılayıcı rolü olan p53 geninin, çoğalan hücre çekirdek antijeninin (PCNA) salınımını düzenlediği ortaya konulmuştur.^{9,15} P53; hücrede DNA hasarının tamiri ve apoptozisin düzenlenmesinde önemli görev alan bir gen dir. Kanseri olgusunda p53 geni ve PCNA'nın birbirleriyle uyumlu şekilde ifade

edildikleri saptanmıştır.^{20,21} p53 geninin mutasyonu ile birlikte yüksek düzeyde ifadesi; PCNA aktivitesini de hasara uğrattığından hücrede kanserleşmeyi arttırmaktadır.²²

TUNEL yöntemi ve PCNA ile yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda; akciğerdeki DNA parçalanması ve hücre apoptozisinin nedenleri araştırılmıştır. Akciğer alveolar duvar hücrelerinin yüksek düzeyde çoğalmalarının, apoptozise neden olabileceği ortaya konulmuştur. Ancak kesin bir sonuca varılamamıştır.²³

Önemli apoptozis markacı olan kaspazlar, zimogen olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir enzim grubudur. İnsanlarda kaspazların 14 ayrı tipi tespit edilmiştir.^{24,25,26} Apoptotik hücre ölümü, kaspaz enzimlerinin kaskadının aktivasyonu tarafından yönetilmektedir.²⁷ Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir kaskad (şelale tarzı reaksiyon dizisi)'a neden olmaktadır.²⁶

Kaspazların salınımindaki bozukluklar; otoimmün hastalıklar, kanser ve bazı nörolojik patolojik oluşumlara yol açarlar.^{26,28} Ayrıca çoğu kemoteröpatik ajanın kaspazlar yoluyla apoptozisi indüklediği bilinmektedir.^{29,30,31,32} Nitekim küçük hücreli olmayan akciğer tümörlerinde yüksek apoptozis oranı hayatta kalma oranı ile istatistiksel anlamlı biçimde ilişkilidir.³³ Ayrıca aynı histolojik tipteki tümörlerde kansere karşı kullanılan ilaçların kaspaz-8 aktivasyonu yoluyla apoptozisi tetiklediği birçok çalışma ile ortaya konulmuştur.³⁴

Bazı çalışmalarda da ortaya konulduğu gibi anjiyotensin II; anjiyotensin tip 1 reseptör (AT₁) yoluyla erken akciğer hasarını belirlemede önemli bir rol oynayabilmektedir.³⁵ Vücut homeostazisini sağlamada önemli olan renin-anjiyotensin sistemi üç aşamadan oluşmaktadır. Birincisi karaciğerde plazmada dolaşan bir protein olan anjiyotensinojen'in üretilmesidir. İkincisi anjiyotensinojen'i jukstaglomerüler hücrelerin fizyolojik işlevi tam bilinmeyen bir decapeptit olan anjiyotensin 1'e dönüştürmesi, sonuncusu ise akciğer ve böbrekteki endotel hücrelerinin bir ürünü olan anjiyotensin dönüştüren (anjiyotensin converting enzyme; ACE) enzimin anjiyotensin 1'i bir oktapeptit olan anjiyotensin II'ye dönüştürmesidir.³⁶

Son çalışmalar anjiyotensin'in, dolaşım organları³⁷ ve akciğerde³⁸ doku hasarı ve fibrozisle yakın ilişkili olduğunu göstermiştir. İn vivo sonuçlara göre ise AT₁ uyarımından sonra insan akciğer fibroblastlarının çoğalması ve hücre dışı matrikste artış gözlenmiştir.^{35,39} Anjiyotensin II'ye yanıt olarak alveoler epitel hücrelerinin apoptozisi AT₁ aracılığıyla oluşur.^{35,40}

ACE baskılayıcıları ve AT₁ reseptörünün; böbrek³⁵, kalp⁴¹, karaciğer⁴² ve akciğerdeki^{13,43} antifibrotik etkileri birçok çalışma ile gösterilmiştir. ACE baskılayıcıları ve AT₁ reseptörü, erken dönem akciğer hasarını baskılamada, apoptozis ve oksidatif stresi engellemede de rol almaktadır.³⁵

Akciğerdeki alveolar bölgeler solunumla alınan hava ile birlikte hava içerisindeki reaktif oksijen ve nitrojen moleküllerine de etkin kalmaktadır.⁴² Antioksidan savunma sistemi, birçok düşük molekül ağırlıklı madde içerir; glutatyon, askorbik asit, ürik asit, alfa tokoferol, retinol ve plazmilojenler gibi lipofilik antioksidanlar ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler bunlardan bazılarıdır.^{42,43,44} Bu antioksidanlar akciğeri kompleks oksidan

etkilerinden korur.⁴² Bu antioksidan ve oksidanların dengesi sürfaktan metabolizmasına ek olarak^{44,45,46} kapiller sızıntının artması ile sonuçlanan akciğer hasarını önlemede etkilidir.⁴⁷

Serbest radikaller hücre membranına saldırdıklarında, membran kararlılığını yitirerek hızlı hücre ve doku bozulmaları oluşur. Buna lipid peroksidasyonu denilmektedir. Ayrıca oksidatif stres olarak bilinen DNA mutasyonlarına, DNA kırılmalarına ve apoptozise neden olurlar.⁴⁸

Çalışmamızda, kemoterapi uygulamalarının, deneklerin akciğer dokusu üzerinde oluşturabileceği yan etkileri önlemesi düşüncesiyle, antioksidan uygulamasının akciğer hasarını iyileştirici ya da geri dönüştürücü etkileri olup olmadığının incelenmesi amaçlandı. Bu çalışmada sıçanlara, siklofosamid ile kemoterapi uygulandı. Kemoterapi uygulaması sırasında verilen antioksidanların, kemoterapötik ajanların kanserli olmayan normal dokulara verdikleri hasarı ne ölçüde azaltacağı incelendi. Çalışmamızda akciğer dokusunda DNA hasarı ve apoptotik hücreleri saptanması ereğiyle kaspaz-8 ve kaspaz-9, hücre çoğalmasını gözlemlemek için PCNA ve erken hasarı belirlemede AT₁ antikorlarıyla immünohistokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Bulgular elektronmikroskopik incelemelerle de pekiştirildi.

II. GENEL BİLGİLER

1-AKCIĞERLERİN GELİŞİMİ

Solunum divertikülü (akciğer tomurcuğu) embriyonal gelişimin 4. haftasında ön bağırsağın ventral duvarından bir çıkıntı halinde belirir. Bu tomurcuğun bağırsağın hangi bölümünde gelişeceği çevre mezenşiminden gelen sinyaller ile fibroblast büyüme faktörlerince (FGF) belirlenir.³⁶ Larinks, trakea ve bronşları döşeyen epitel endodermal kökenlidir. Trakea ve akciğerlerin kıkırdak, kas ve bağ dokuları ise ön bağırsağı çevreleyen splanknik mezoderminden gelişir.⁴⁹

Solunum divertikülü başlangıçta ön bağırsak ile ilişki halindedir. Gelişime koşut divertikül kaudal yönde genişledikçe, ön bağırsaktan özefagotrakeal kabarıklıklar denilen iki uzunlamasına yapının belirmesiyle ayrılır. Bu kabarıklıkların kaynaşarak özefagotrakeal septum'u oluşturmaları ile ön bağırsak arkada özefagus, önde trakea ve akciğer tomurcukları olarak ikiye bölünür. Ancak solunum taslağı larinks ile ilişkisini laringeal açıklıkla sürdürür.^{49,50}

Akciğer tomurcuğu ön bağırsaktan ayrılırken trakea'yı ve bronşiyal tomurcuk denilen iki çıkıntıyı oluşturur. Gelişimin 5. haftasının başında bronşiyal tomurcuklar genişleyerek sağ ve sol ana bronşları yaparlar. Bundan sonra sağ ana bronştan üç, soldan ise iki adet sekonder bronş'un gelişmesiyle sağ akciğerin üç, solun iki loblu yapısı belirlenmiş olur.

Akciğer tomurcukları aşağı ve yanlara doğru büyüyerek vücut boşluğuna gömülürler. Akciğerlerin doldurduğu bu dar boşluklar perikardiyoperitoneal kanal olarak isimlendirilirler. Bu kanallar ön bağırsağın her iki yanında yer alırlar ve

zamanla genişleyerek akciğer tomurcuklarınca doldurulurlar. İleri gelişim evrelerinde perikardiyoperitoneal kanallar peritoneal ve perikardiyal boşluklardan plevroperitoneal ve plevroperikardiyal katlantılarla ayrılırlar ve geride kalan boşluklara ilkel plevral boşluklar denir. Akciğerleri dıştan saran mezoderm katmanı visseral plevra'ya dönüşür. Vücut duvarının iç yüzünü döşeyen somatik mezoderm katmanı da paryetal plevra'yı oluşturur. Paryetal ve visseral plevralar arasında kalan boşluk plevral boşluk olarak isimlendirilir.

İleri gelişim evrelerinde sekonder bronşlar sürekli olarak ikiye dallanarak sağ akciğerde 10, solda ise 8 adet tersiyer (segmental) bronş oluşarak yetişkindeki bronkopulmoner segmentleri biçimlendirirler. Altıncı ayın sonunda 17 adet yeni bronş oluşur. Bronşiyal ağaç son şeklini almadan iki ek bölünme daha olur. Bronşların bu şekilde dallanması endodermal-mezenşimal etkileşimle düzenlenir. Dallanmayı başlatan sinyaller mezodermdeki fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinden gelir. Bronşiyal ağaç bu şekilde gelişirken, akciğerler daha kaudal bir konuma gelirler ve trakea'nın ikiye çatallanma yeri bebek doğduğunda 4. torasik vertebranın tam karşısına gelmiş olur.^{49,50,51}

Akciğerlerin ileri gelişimi

Akciğerlerin olgunlaşması dört evreye ayrılarak incelenebilir:

- 1-Pseudoglandular evre
- 2-Kanaliküler evre
- 3-Terminal kese evresi (İlkel alveolar evre)
- 4-Alveolar evre

Pseudoglandular evre : (5-17. haftalar arası evre)

Gelişmekte olan akciğerler bu evrede bir ölçüde ekzokrin salgı bezlerine benzerler. Onyedinci haftaya değin gaz değişimiyle ilgili olanlar dışında

akciğerlerin tüm esas yapıları oluşur ancak solunum olmadığından bu evrede doğan fetüsler yaşayamazlar.^{50,51} Bu evrede terminal bronşiyoller oluşmaya devam ederler. Respiratuvar bronşiyoller ve alveoller yoktur.

Kanaliküler evre : (16-25. haftalar arası evre)

Bu evrede akciğerlerin kranial segmentleri kaudaldekilere karşın daha hızlı olgunlaşır. Bronş ve terminal bronşiyollerin lümenleri daha da genişler. Epitel katmanları incelir. Akciğer dokusu hızla damarlanma gösterir. 24. haftada her bir terminal bronşiyol 2 ya da daha fazla respiratuvar bronşiyol'u oluşturmak üzere dallanır. Bunların her biri alveolar kanal (ductus alveolaris) adı verilen 3-6 kadar tübüler geçite ayrılır. Bu yapıların kübik olan epiteli incelir ve ince duvarlı terminal keseler (ilkel alveoller) gelişir. Bu nedenle solunum, kanaliküler evrenin sonuna doğru olasıdır. Akciğer dokusu belirgin olarak damarlanmıştır. Bu evrenin sonuna doğru doğan bebeğin yaşama şansı olabilir. Ancak bunlar solunum ve diğer organ sistemleri henüz tam gelişmediği için çoğunlukla ölürlür.⁴⁹

Terminal kese evresi: (24.hafta-Doğum arası evre)

Bu evrede çok daha fazla sayıda terminal kese (ilkel alveol) gelişir ve bu keselerin epitelleri giderek incelir. Kılcal damarlar da bu şekilde gelişmekte olan alveollerin içine doğru çıkıntı yapmaya başlar. Epitel ve endotel hücreleri arasındaki yakın ilişki fetüsün prematüre doğumunda bile hayatta kalmasına yeterli gaz alışverişini sağlayacak kan-hava engelini (bariyerini) oluşturur.

Alveoller; 24.haftaya değin gaz alışverişini gerçekleştiren endodermal kökenli yassı epitel hücreleri olan tip I alveoler hücreler ya da pnömositler ile döşenmiş olurlar. Gelişen alveollerin çevresindeki mezenşim içinde bulunan kılcal damar ağı hızla çoğalır. Lenfatik kılcal damarlar da aynı süreçte aktif bir gelişim gösterir. Yassı epitel hücreleri arasında dağılmış yuvarlak şekilli diğer bir hücre

tipi de bu evrede görülür, bunlara tip 2 alveoler hücreler ya da pnömositler (septal hücreler) denir ve bu hücreler-kompleks bir fosfolipid karışımı olan- ‘pulmoner sürfaktan’ salgırlar. Sürfaktan alveollerin iç yüzeyleri üzerinde monomoleküler bir katman oluşturarak hava-alveol ortak yüzeyindeki yüzey emilimini azaltır. Farklı gebelik evrelerinde fetüslerde tip 2 alveoler hücrelerin olgunlaşması ve sürfaktan üretiminde büyük değişiklikler gözlenir.

Sürfaktan üretimi gebeliğin son evrelerinde, özellikle doğumdan önceki son iki haftada artar. Sürfaktan yüzey gerilim kuvvetlerini azaltır ve terminal keselerin (primordiyal alveoller) genişlemesini kolaylaştırır. Sonuç olarak; döllenmeden sonraki 24-26. haftalarda prematüre doğan fetüsler yoğun bakım sağlanırsa yaşatılabilirler. Ancak bu sürfaktan yetersizliği nedeniyle zordur.^{50,51,52}

25-28. haftalarda genellikle 1000 gr ağırlığında doğan bir bebeğin yaşaması için yeterli alveol ve sürfaktan bulunmaktadır.⁴⁹

Alveolar evre : (Doğum-10 yaş arası evre)

Doğumda alveollerin görünümü, alveolar evrenin başındaki ve terminal kese evresinin sonundakiyle aynıdır. Terminal keselerin epitelini yapan tip I alveolar hücreler son derece incelmıştır. Keselere bitişik olan kapillerler alveollere doğru çıkıntı yapmışlardır. Tipik olgun alveoller doğum sonrasına kadar oluşmazlar. Yaklaşık % 95’i gelişkin yapılarını doğum sonrası evrede alırlar.

Doğumdan sonra ilkel alveoller -akciğerler büyürken- genişlerler. 3-8 yaşına değin akciğerlerin büyümesi, alveollerin çaplarının artması (akciğerlerin genişleme nedenlerinden biridir) ve yeni alveollerin yapımları sürer.

İlk oluşan alveoller yeni alveol oluşturma erkine sahiptirler. Doğumdan sonraki ilk birkaç ay akciğer gelişimi kan-hava bariyerindeki yüzeyde artışlarla özelleşmiştir. Bu artışlar akciğer alveol ve kapillerlerinin çoğalmalarıyla olur. Zamanında ve yeni doğmuş bir bebeğin akciğerlerinde 50 milyon kadar alveol bulunur. Bu sayı yetişkin akciğerlerinde 300 milyon'dur. Yeni doğandaki sayı yetişkindekinin 1/6-1/8'i kadardır. Bu nedenle çekilen radyografilerde yeni doğan akciğeri koyu renkte görülür.

Doğum öncesinde, fetüsün amnion sıvısını akciğerlere alacak şekilde solunum hareketi yaptığı gösterilmiştir. Ancak bu solunum hareketleri sürekli değildir. Fetal solunum hareketlerinin şekli doğum tanısında geniş ölçüde kullanılmaktadır.

Doğumda, fetüs farklı aylarda kazandığı soluma egzersizleri avantajına sahiptir. Doğum zamanı yaklaştıkça artan fetal solunum hareketleri, solunum kaslarının oluşumu ile bağlantılıdır. Doğumda akciğerler, amnion boşluğundan, trakea bezlerinden ve akciğerlerden köken alan sıvı ile yan yarıya doludur.

Doğumda soluma, alveol içinde bulunan sıvının hızla hava ile yer değiştirmesiyle olmaktadır.

Doğum öncesinde alveollerde bulunan sıvı nedeniyle akciğerler tam kapasitelerinin 1/3'ü kadar geniştir. Doğum sırasında ilk solumanın yapılmasıyla bu sıvının akciğerlerden atılması gerekir. Doğumda, akciğerlerdeki sıvı üç yolla atılır:

- Az bir kısmı, osmotik basınç farkı ile kan kapillerlerine oradan da pulmoner arter ve venlere iletilir.
- Bir kısmı, bebek doğum kanalından çıkarken toraks'ta oluşan bası

nedeniyle trakea yoluyla dış ortama çıkarılır.

- Büyük bölümü de, lenf yollarına girer.

Doğuma yakın fetüste pulmoner lenfatik damarlar oldukça büyük ve ergindekinden daha fazla sayıdadır. Doğumdan sonraki ilk birkaç saatte hızlı bir lenf akımı vardır. Bu daha sonra yavaşlar. Damarların çapları küçülür, sayıları azalır.

Yeni doğmuş bebeklerin akciğerleri solunum yapmadan suya konulduğunda hava varlığı nedeniyle batar. Bu Adli Tıp için önemlidir.^{49,50,51,52}

2- AKCİĞERLERİN ANATOMİSİ

Akciğerler vücutta solunumla yükümlü olan, hava ile kan arasında gaz değişiminin olaylandığı, venöz kanın arteriyel kana dönüştüğü organlardır. Akciğerler, göğüs boşluğunda birbirinden mediastinum ile ayrılmış sağ ve solda yerleşik bir çift organdır. Mediastinum önde sternum, arkada vertebralar ile sınırlanmıştır. Mediastinum'da; kalp, trakea, oşefagus, büyük damarlar ve sinirler bulunur.⁵³

Sağ akciğer (pulmo dexter) yaklaşık 625 g, sol akciğer (pulmo sinister) ise yaklaşık 565 g'dır. Erkeklerde ağırlıkları kadınlara karşı daha fazladır. Koni şeklinedirler. Ağırlıkları içerdikleri sıvı ve kan miktarına göre değişkenlik gösterir. Çocuklarda, içerdikleri bol miktardaki kan damarı nedeniyle açık pembe renktedir. İleri yaşlarda solunan havadaki kir taneciklerini fagosit etmeleri nedeniyle gri renkte gözlenirler.^{49,54}

Açık pembe renkli, yumuşak, hafif ve elastiki olup süngerimsi bir yapıya sahiptirler. Normalde her zaman bir miktar hava içerirler. Bu nedenle suya bırakıldıklarında batmazlar. Akciğerlerin göğüs boşluğunu tam olarak doldurmasının nedeni bu boşluktaki negatif basınçtır. Bir nedenle bu basınç ortadan kalkarsa ya da organ göğüs boşluğu dışına çıkarılırsa akciğerlerin küçülmesine, normal büyüklüğünün 1/3'üne inmesine neden olur.^{49,55}

Akciğerler trakea ve kalp'e, radix pulmonis (a.v.pulmonis ve bronkus principalis'ler) ve lig.pulmonale'ler ile tutunur. Lig.pulmonale; fibröz yapıda olmayıp, akciğerleri saran pleura'nın radix pulmonis'i bir manşet gibi sardıktan sonra aşağıya doğru uzanarak katlanması ile oluşan bir ligamenttir.⁴⁹

Akciğerlerin apex pulmonis denilen bir tepesi, basis pulmonis denilen bir tabanı, facies costalis, facies mediastinalis ve facies interlobares adı verilen üç yüzü; margo anterior, margo inferior ve margo posterior olarak üç kenarı vardır.

Apex pulmonis:

Akciğer'in göğüs boşluğu girişine dönük kısmıdır. Apertura thoracis superior'dan geçerek boyun köküne de girer. Yuvarlak ve künttür. Önde birinci kosta'nın sternal ucu, I. kıkırdak kosta ve clavicula'nın sternal ucundan 2,5-5 cm yukarı arkada ise I. collum kosta düzeyindedir. Bu nedenle, apex pulmonis'in arka kısmı kemik yapılarla korunmuş olmasına karşın, ön kısmı sadece yumuşak dokularla sarılmış durumdadır. Apex pulmonis'in ön ve yan yüzleri göğüs kafesinin dışında kalır.^{55,56,57}

Basis pulmonis :

Yarımay şeklinde ve konkavdır. Diaphragma'nın konveks yüzüne uyar. Bu yüzüne facies diaphragmatica'da denir. Diaphragma aracılığıyla sağdan sola doğru karaciğer'in sağ ve sol lobunun üst yüzü, midenin fundus'u ve dalak ile komşuluk yapar. İç kenarı kalp ile komşuluktadır. Bu nedenle sağ akciğer soldan daha geniş, daha kısa ve basis pulmonis'i daha konkavdır.^{49,56,57}

Facies costalis:

Akciğer'in en geniş yüzüdür. Pürüzsüz ve konvektir. Toraks duvarının iç yüzü, dolayısıyla pariyetal (kotsal) pleura ile komşuluk yapar. Fiske edilmiş akciğerlerin bu yüzünde kostaların bıraktığı izler görülür. Facies costalis'in arka kısmı torakal vertebra'lar ile komşuluktadır. Bu kısım, facies costalis'in vertebral parçası olarak da adlandırılır.^{54,56,57}

Facies mediastinalis:

Akciğerlerin mediastinum'a bakan yüzüdür. Perikardiyum ve kalp ile komşu olması nedeniyle konkavdır. Bu yüzün sırt omurlarının yan taraflarına değen parçasına pars vertebralis, mediastinum'a bakan parçasına da pars mediastinalis denir. Akciğer'in p. mediastinalis'i kalp, v.cava superior, v.cava inferior, v.azygos, oesofagus; sol akciğerin p. mediastinalis'i kalp, arcus aorta, aorta thoracica ve oesofagus ile komşudur. Bu yapılar p. mediastinalis'de izler bırakırlar. Kalp'in 2/3'ü toraks boşluğunun sol tarafında yerleşik olduğundan sol akciğerde daha derin olan impressio cardiaca adı verilen bir çukurluk vardır. Hilum pulmonis, facies mediastinalis'in yaklaşık ortasında yer alan çöküntülü kısımdır. Hilum pulmonis'den girip-çıkan a.pulmonalis, vv.pulmonalis, r.bronchialis, bronchus principalis, lenf damarları ve sinirler; radix pulmonis'i oluştururlar.^{55,56,57,58}

Facies interlobares:

Akciğer lobları arasındaki yarıklar içinde bulunan akciğer yüzleridir.

Margo anterior:

İnce ve keskin olup bir kısmı pericardium'un ön yüzünü örter. Facies costalis'i facies mediastinalis'ten ayırır. Sağ akciğer'in ön kenarı hemen hemen vertikal yöndedir ve recessus costomediastinalis anterior dexter'in içine girer. Sol akciğerin ön kenarında ise kalp nedeniyle incisura cardiaca (pulmonis sinistri) denilen derin bir çentik vardır. Bu çentik 4-6 interkostal aralık düzeyindedir. Burada pericardium doğrudan göğüs ön duvarı ile ilişkidir.

Margo inferior :

Facies costalis'i çepeçevre sarar. Facies mediastinalis ve facies diaphragmatica arasında kalan kısmı künt, basis pulmonis ve facies costalis arasında kalan kısmı

ise ince ve keskindir.

Margo posterior :

Arka kenar, kalın ve künttür. Göğüs omurlarının yan taraflarında bulunan derin oluk içerisinde yer alır.⁴⁹

AKCİĞERLERİN YARIKLARI VE LOBLARI

Akciğerler bazı yarıklara (fissura) ve loblara ayrılmışlardır. Klasik olarak sağ akciğerde iki, sol akciğerde bir fissura vardır. Oblik yarık (fissura obliqua) her iki akciğerde de bulunduğu halde; yatay yarık (fissura horizontalis) sadece sağ akciğerde izlenir. Sağ akciğerde üç lob varken sol akciğerde iki lob bulunur.

Pulmo dexter (Sağ akciğer)

Pulmo dexter'in üç lobu ve iki yarığı vardır. Normal olarak loblar birbirlerinin üzerinde serbestçe hareket edebilirler. Bunun nedeni pleura visseralis'in yarıklanması ile neredeyse hilum pulmonis'e kadar birbirlerinden ayrılmış olmalarıdır. Bu yarıklanma fissurları oluşturur. Fissura obliqua; pulmo dexter'de lobus inferior'u, lobus superior ve lobus medius'tan ayırır. Fissura horizontalis ise lobus superior'u lobus medius'tan ayırmaktadır.⁵⁹

Fissura obliqua; mediastinal yüzde hilum pulmonis'ten başlar, arkaya ve yukarıya doğru uzanarak apex pulmonis'in 6,25 cm kadar aşağısından margo posterior'u keser. Facies costalis'te 6. kosta'yı izleyerek öne gelen fissura obliqua, sağ akciğerin ön ucunun 7-7,5 cm lateralinde alt kenarı keserek 6. kıkırdak kosta düzeyiden facies mediastinalis'e geçer. Arkaya ve yukarı doğru uzanarak hilum pulmonis altında sonlanır.⁴⁹ Fissura horizontalis; sadece sağ akciğerde

bulunur. Linea axillaris mediana'nın sağ 4. kostayı kestiği yerden başlar ve bu kostayı izleyerek öne doğru gelir. Dördüncü kıkırdak kosta'nın sternum ile birleştiği yerde sağ akciğer'in ön kenarını keser. Mediastinal yüzde arka yukarıya doğru uzanarak hilum pulmonis ile birleşir.⁵⁸

Lobus superior'un en geniş yüzeyi anterolateral duvarın üst bölümü ile ilişkidir ve bu lobun apeksi boyun köküne kadar uzanır. Lobus medius'un yüzeyi esas olarak alt, ön ve yan duvarla bitişiktir. Lobus inferior'un kostal yüzü arka ve alt duvarlar ile ilişki halindedir.⁵⁹ Sağ akciğer'in en küçük lobu; lobus medius'tur. Alt kenarının ön bölümü ve basis pulmonis'in ön kısmını oluşturur. Basis pulmonis ve margo inferior'un geri kalan kısmı lobus inferior'a aittir.⁴⁹

Sağ akciğer'in iç yüzü mediastinum'da ve boyun kökünde kalıp; v.cava inferior ve superior, v.azygos, oesofagus gibi yapılar ile birlikte uzanır.⁵⁹ Sağ akciğer, karaciğer'in sağ tarafta yukarı doğru uzaması nedeniyle, sol akciğerden yaklaşık 2,5 cm kadar kısadır. Ancak kalp'in büyük bölümünün solda olması nedeniyle daha geniştir. Sağ akciğer'in toplam ağırlığı sol akciğerden daha fazladır.

Arteria ve vena subclavia dextra kemer yaparak devam eder ve servikal pleura'nın çatısı üzerinden geçip regio axillaris'e girdiği için sağ akciğer'in üst lobu ile ilişkilidir. Sağ akciğerde hilum pulmonis'in arka, üst kısmında ise kavis şeklindeki oluğa v.azygos oturur. Hilum pulmonis ve lig.pulmonale'nin hemen arkasında yer alan oluk oesofagus'a, üst-ön kısımda yer alan oluk ise v.cava superior'a aittir. Lig.pulmonale'nin önünde v.cava inferior'un perikardiyum dışında kalan kısmının sağ akciğer'e bıraktığı iz görülür.^{49,58,59}

Pulmo sinister (Sol akciğer)

Sol akciğerde bulunan fissura obliqua, sol akciğer'in lobları olan lobus superior ve lobus inferior arasında yer alır. Sol akciğer'in fissura obliqua'sı sağ akciğer'in benzer fissurundan biraz daha obliktir. Fissura obliqua, hilum'un üst arka kısmından başlar ve yukarıya seyrederek arkaya ve yukarı doğru uzanır. Kostal yüzde 6. kaburgayı izleyerek kemik kıkırdak sınırında ve ön-alt uç yakınında alt kenara gelir. Daha sonra mediastinal yüze geçerek; arkaya ve yukarı doğru uzanır ve hilum pulmonis ile birleşir.

Lobus superior'un en geniş yüzeyi anterolateral duvarın üst bölümü ile ilişki halindedir ve bu lobun apeksi boyun köküne doğru uzanır. Lobus inferior'un kostal yüzü arka ve alt duvarlarla ilişkidir.

Sol akciğerde impressio cardiaca adı verilen, kalp'in oturduğu büyük bir çukurluk vardır. Kalp'in 2/3'ünün sol tarafa yerleşik olması nedeniyle bu çukur sağa karşı daha derindir.

Üst lobun alt bölümünün ön yüzeyinde dile benzeyen bir uzantı (lingua pulmonis sinistri) kalp'in üzerine doğru uzanır. Sol akciğer'in iç yüzü mediastinum'da ve boyun kökünde kalp, arcus aortae, aorta thoracica, oesofagus gibi yapıları ile birliktedir. Arteria ve vena subclavica sinistra kemer yaparak devam eder ve servikal pleura'nın çatısı üzerinden geçerek aksilla'ya gittiği için sol akciğer'in üst lobu ile ilişkilidir.^{49,58,59}

AKCİĞERİN SEGMENTASYONU

Trakea, boynun alt bölgesinde 6. servikal vertebra düzeyinden mediastinum'da bifurcatio trachea ile bronchus principalis dexter ve sinister'e ayrıldığı 4. torakal vertebra düzeyine değin uzanan esnek bir borudur. Bronchus principales sinistra 5 cm uzunluğunda 6. torakal vertebra düzeyinde sol akciğer'e girer. Bronchus principales dexter ise 2,5 cm uzunluğunda ve soldan daha dikey konumda olup 5. torakal vertebra düzeyinde sağ akciğer'e girer.⁴⁹ Trakea duvarına gömülü C şeklinde transvers kıkırdak halkalar ile oluşturulmuştur. C'nin açık kısmı arka yüzdendir. Trakea arka duvarı esas olarak düz kaslardan oluşmuştur.⁵⁹

Solunum yollarının trakea ve bronchus principalis'lerden sonra gelen kısmını bronchus lobaris, bronchus segmentalis, bronchiolus terminalis, bronchiolus respiratorius, ductus alveolaris, saccus alveolaris ve alveolus pulmonis adı verilen yapılar yapar. Bu solunum yollarının tümüne ağaca benzemesi nedeniyle arbor bronchialis de denir.^{55,60}

Sağ ve sol esas bronkuslar ayrı ayrı loblara giden bronchus lobaris'lere ayrılırlar. Lobların sayılarına göre sağda 3 adet (bronchus lobaris superior, medius, inferior dexter) solda 2 adet (bronchus lobaris superior, inferior sinister) lobar bronkus vardır. Sokuldukları loblar içerisinde bronchus lobaris'ler yeniden dallara ayrılırlar. Belirli konumlarda dağılan bu dallara bronchus segmentalis adı verilir.⁴⁹

Sağ akciğerde segmentler lobus superior'da segmentum apicale, posterius, antierius olarak 3, lobus medius'da segmentum laterale ve mediale olarak 2, lobus inferior'da da segmentum superius, basale mediale, basale laterale, basale antierius ve basale posterius olarak 5 adet segmental bronkus

saptanmıştır.^{49,55,60}

Sol akciğerde ise lobus superior'da segmentum apicale, posterius, anterieus, lingulare superius ve lingulare inferius olarak 5, lobus inferior'da segmentum apicale, basale mediale, basale anterieus, basale laterale ve basale posterius olarak 5 adettir.^{49,55,60}

Her bir bronchus segmentalis ve ondan sonra gelen solunum yolları (bronchiolus lobularis, bronchiolus terminalis, bronchiolus respiratorius, ductus alveolaris, saccus alveolaris, alveolis pulmonis) bir akciğer segmentini (segmentum bronchopulmonale) yapar. Tepesi hilum pulmonis'e, tabanı akciğer'in dış yüzüne bakan piramidi andıran akciğer segmentleri yapısal ve fonksiyonel olarak bağımsız birer birim oluşturur. Her segmentin kendine ait damar ve sinirleri vardır. Damar ve bronchuslar komşu segmentlerin damar ve bronchusları ile ağızlaşma yapmaz. Akciğer'in anatomik, fonksiyonel ve cerrahi birimini oluşturur. Gerektiğinde bir akciğer segmenti diğer segmentlerin damar ve sinirlerine hasar vermeden çıkarılabilir.

Bronchiolus respiratorius ve ondan sonra gelen ductus alveolaris, saccus alveolaris ve alveolus pulmonis'ler gaz alışverişinin yapıldığı asinus denilen kısımları oluşturur. 12-13 akciğer asinus'u ise birleşerek bir lobuli pulmonis'i yapar.^{49,55,56,59}

Bronkopulmoner segmentler birbirlerinden kişiye göre değişik kalınlıklarda olan bağ dokusuyla ayrılır. Bu bölmelerde intersegmental ven ve lenf damarları vardır.⁴⁹

DAMARLARI:

Akciğerlerin işlevsel ve besleyici olarak iki grup damar bulunur. İşlevsel damarları a. ve v. pulmonalis'ler, besleyici damarları ise a. ve v.bronchialis'ler oluşturmaktadır.⁵⁴

Aa.pulmonales:

Sağ ve sol pulmoner arterler truncus pulmonalis'ten çıkar ve kalp'in sağ ventrikülünden akciğerlere venöz kanı taşır. Bifurcatio truncipulmonalis, orta çizginin solunda torakal 4-5. vertebralar düzeyinin hemen altında ve bifurcatio trachea'nın solunda ön-altta bulunur.⁵⁹ Kalp'ten kök şeklinde çıkar ve 5 cm uzandıktan sonra iki akciğere gitmek üzere a.pulmonalis dextra ve sinistra olarak iki dala ayrılır. Bunlar akciğerlere hilumdan girerler, radix pulmonis'in yapısına katılırlar.

A.pulmonalis dextra:

A.pulmonalis dextra, a.pulmonis sinistra'ya karşın daha uzundur ve mediastinum'a yatay olarak geçer. Geçtiği yerler şöyledir: bifurcatio trachea'nın önünden ve hafif altından ve sağ ana bronşun önünden; aorta ascendens, v.cava superior ve üst sağ pulmoner ven'in arkasından sağ pulmoner arter; radix pulmonis'e girer ve akciğer'in üst lobuna gitmek üzere büyük bir dal verir. Asıl damar akciğer'in hilumundan geçerek uzanır ve üst loba giden ikinci bir dal verir ve sonra orta ve alt loblara gidecek olan dallara ayrılır.

A.pulmonalis sinistra:

A.pulmonalis sinistra sağa karşın daha kısa ve incedir. Aorta descendens'in önünde ve v.pulmonalis superior'un arkasında uzanır. Radix ve hilumdan geçerek akciğer'in içinde dallara ayrılır. Arteria pulmonalis dextra ve sinistra segmental bronkuslarla birlikte koştur dağılırlar ve akciğerleri segmental

olarak beslerler. Bunların kapillerleri ile alveoller arasında oksijen-karbondioksit değişimi gerçekleşir.^{49,54,58,59}

Vv.pulmonales:

Her iki tarafta bir v.pulmonalis superior ve bir v.pulmonalis inferior arterial kanı akciğerlerden yeniden kalbe taşır. Venler hilum pulmonalis'den başlar ve radix pulmonalis'i geçerek hemen kalbin sol atrium'una dökölür.^{54,59}

V.pulmonalis dextra'lar:

Pericardium içerisinde v.cava superior ve sağ atrium'un arkasından geçerek sol atrium'un arka duvarının sağ kısmına açılırlar.

V.pulmonalis sinistra'lar:

A.pulmonalis sinitra'nın altından geçerek sol atrium'un arka duvarının sol kısmına açılırlar.^{49,59}

Aa.broncbiales:

Trakeabronkial ağaç, akciğer'in kendi dokusu, plevra ve pulmoner damarların duvarlarını besler. Sağda bir, solda iki adet bronkial arter vardır. Sağdaki çoğunlukla 3-4 a.intercostalis posterior'dan, soldakiler ise aortae descendens'ten doğar.

Vv.bronchiales:

Sağda ve solda iki adettir. V.pulmonalis'lerle birlikte seyreder. Sağ vv.bronchiales; v.azygos'a, sol vv.bronchiales; v.hemiazygosaccessorius'a dökölür.^{49,59}

LENF DAMARLARI :

Akciğerlerin yüzeysel ve derin olarak iki grup lenf damar ağı vardır. Yüzeysel lenf damarları pleura'nın hemen altında bulunur ve akciğer hilumunda bulunan nodi lymphatici bronchopulmonalis'e açılır. Buradan çıkan lenf damarları da bifurcatio trachea'nın alt ve üst kısımlarında bulunan nodi lymphatici tracheobronchiales superior ve inferior'a açılırlar. Yüzeysel lenf damarları pleura visseralis ve akciğerleri drene ederler.

Derin lenf damarları bronkusların submukozasında ve çevresindeki bağ dokuda bulunurlar. Akciğer'in damarlarıyla birlikte uzanırlar. Alveol duvarında lenf damarı bulunmaz.

Lenf damarları önce nodi lymphatici pulmonales'e açılır. Bu nodülden çıkan lenf damarları akciğer hilumundaki nodi lymphatici bronchopulmonalis'e daha sonrada nodi lymphatici tracheobronchiales ve nodi lymphatici paratracheales'e açılırlar.

Akciğerlerde yüzeysel ve derin lenf damarları arasında fazla ağışlaşma yoktur. Ancak hilum yakınında bol ağışlaşma yaparlar.⁴⁹

SİNİRLERİ:

Akciğerler sinirlerini radix pulmonis'in ön ve arkasında yer alan plexus pulmonis anterior ve plexus pulmonis posterior'dan alırlar. Bu plexuslara parasempatik lifler n.vagus, sempatik lifler ise truncus sympatheticus'un torakal kısmından gelir. N.vagus'un efferent lifleri bronkusların düz kaslarına, pulmoner damarlara ve bezlere gider. Parasempatik aktivasyon bronkusların daralmasına

(brankokonstrüksiyon), damarların genişlemesine (vasodüatasyon) ve bezlerin salgı yapmalarına (sekremotor) etki ederken, sempatik aktivasyonla bronkuslar genişlerler (brankodilatatör), damarlar daralır (vasokonstriktör) ve bezler üzerine de salgıyı azaltıcı (sekretoinhibitör) etkisi vardır.

Parasempatik afferent lifler mukoza epitelinden ağrı ve dokunma duyularını, bronkuslardan da gerilme duyusunu üst merkezlere iletir. Sempatik afferentlerin işlevleri tam olarak bilinmemektedir.⁵⁵

PLEURA:

Her iki akciğer'i ayrı ayrı saran seröz zardır. Parlak görünümlü ve kaygandır. Cavitas pleuralis; bir sıra yassı hücre sırasından oluşan, mezotelyum ve bununla birlikte destekleyici bağ dokusu katmanı ile sınırlandırılmıştır. Bu yapılar birlikte pleurayı oluştururlar. Pleura; pleura pulmonalis (visseralis) ve pleura parietalis olarak iki katmandan oluşur.

Pleura pulmonalis (visceralis):

Yarıklar da dahil akciğerlerin tüm yüzünü örten parçadır. Pleura visseralis, hilum pulmonis 'te radix pulmonis'i sardıktan sonra pleura parietalis olarak devam eder. Bu iki kat arasındaki boşluğa cavitas pleuralis denir. Bu boşlukta iki zarın sürtünmesini önleyen bir sıvı vardır.

Pleura parietalis :

Akciğerleri bir torba gibi sarar. Örttüğü bölgelere göre isimlendirilir.

Pars costalis :

Toraks duvarı, kostaların iç yüzü, sternum ve vertebra cisimlerinin yan taraflarını örter.

Pars diaphragmatica:

Diaphragma'yı örten kısımdır. Pars diaphragmatica'nın pars costalis'e geçtiği yerde oluşan çıkmaza recessus costodiaphragmatica denir. Bu çıkmaza alt kenar oturur.

Pars mediastinalis :

Mediastinum'u örten bölümdür. Pars medialis'in ön tarafta pars costalis'e geçtiği yerde oluşan çıkmaza recessus costomediastinalis anterior, arka tarafta ise recessus costomediastinalis posterior denir. Ön çıkmaza ön kenarı, arka çıkmaza arka kenarı oturur.

Pars mediastinalis'in pars diaphragmatica'ya geçtiği yerde oluşan çıkmaza ise recessus phrenicomediastinalis denir.

Cupula pleura :

Pars costalis ve pars mediastinalis'lerin apex pulmonis'i kaplayan parçasıdır.

PLEURA'NIN DAMAR VE SİNİRLERİ :

Pleura visceralis'in arter, ven, sinir ve lenfatikleri akciğer ile aynıdır.

Arterleri:

Aa.intercostales, a.thoraeica interna ve a.musculophrenica'dır.

Venleri:

Toraks duvarındaki sistemik venlere dökülür.^{49,55,59}

Lenfatikleri:

Nodi lymphatici intercostalis, nodi lymphatici parasternales, nodi lymphatici mediastinales posteriores ve nodi lymphatici diaphragmaticus'tur.

Sinirleri:

Pars costalis ve pars diaphragmatica'nın periferik kısmı nn.intercostales, pars mediastinalis ve pars diaphragmatica'nın santral kısmı ise n.phrenicus'dan dallar alırlar. Pleura parietalis'in ağrı duyusu bu sinirler boyunca toraks ve karın ön duvarına, boynun alt kısmına ya da omuza yansır.

Visceral pleura'nın sinirleri plexus pulmonalis'ten gelirler. Visceral pleura'da ağrı duyusu yoktur.⁴⁹

3-AKCIĞERLERİN HİSTOLOJİSİ

Akciğerler göğüs boşluğunda birbirinden mediastinum ile ayrılmış sağ ve solda yerleşik bir çift organdır.⁶¹

Akciğerler sağda iki derin yarıkla üç loba, solda tek yarıkla iki loba ayrılmıştır. Akciğerlerin yüzeyi seröz bir membran olan visseral pleura ile örtülüdür. Visseral pleura interlobar yarıklar içine girerek; interlobar yüzeyleri de örter. Akciğerlerde sıkı bağ dokusu ile sarılı primer bronkus ve büyük pulmoner arterlerin girdiği, ven, lenf damarları ve sinirlerin çıktığı bir hilus (hilum) bulunur. Hilusdaki birimlerin tümüne pulmoner kök denir. Hilusda visseral pleura, pariyetal pleura'ya dönüşür.^{49,53,61}

Akciğer lobları bağ dokusu bölmeleriyle segmentlere ayrılırlar. Bunlara bronkopulmoner segmentler denir. Sağ akciğerde 10, sol akciğerde 8 bronkopulmoner segment vardır.

Segmentler çok ince bağ dokusu bölmelerle lobçuk denilen piramit biçimli bölümlere ayrılırlar. Lobçuklar tepeleri akciğer hilusuna, tabanları ise akciğer yüzeyine dönük olarak düzenlenmişlerdir. Lobçukları ayıran bağ dokusu bölmeler fetüste kolaylıkla izlenebilmesine karşın; erişkinde kesin olarak ayırt edilemez. Ancak visseral pleura altındaki lobçuklar arasındaki bağ dokusu bölmelerde karbon taneciklerinin birikmesiyle sınırlar belirgin hale gelir.^{53,61,62}

Her akciğerde havanın iletildiği yolların oluşturduğu bir bronkus ağacı ile kan-hava arasındaki gaz alışverişinin yapıldığı ve bronkus ağacın son dalları çevresinde yerleşik bir solunum alanı bulunur.^{49,53}

BRONKUS AĞACI (ARBOR BRONCHIALIS):

Bronkus ağacı trakea'nın ikiye dallanması ile oluşan sağ ve sol primer bronkuslarla başlar. Bronkus ağacı; akciğerler dışında kalan hava yollarındaki bölgede ekstrapulmoner primer bronkus ve hava yollarının akciğer içine girişindeki bölgede intrapulmoner primer bronkus, sekonder (lobar) bronkus, tersiyer bronkus, bronkiyolus ve terminal bronkiyoluslardan oluşmaktadır.^{49,53,61}

Akciğer içinde, kan-hava arasındaki gaz değişiminin yapıldığı solunum alanı ise respiratuvar bronkiyoluslar, alveolar kanallar, keseler ve alveollerden oluşmaktadır.^{53,61,63}

Primer bronkus'ların yapıları trakea'ya benzer. Ancak akciğerlere girdiği noktada duvar yapıları ve çapları değişir. Sağ bronkus sol bronkus'tan daha diktir. Sağ bronkus sağ akciğerdeki üç loba giren 3 dala, sol bronkus ise sol akciğer'in iki lobuna giren 2 dala ayrılır. Bu dallar lobar ya da sekonder bronkustur. Sekonder bronkuslar'da her biri bir akciğer segmentine giren tersiyer ya da segmental bronkuslara ayrılır. Tersiyer bronkuslar; sağ akciğerde 10, sol akciğerde ise 8 adettir. Segmentlere gelen bronkus ve damarlar komşu segmentlerle ağızlaşma yapmazlar. Bu da klinik olarak akciğer cerrahisinde önemlidir.^{49,53,61,63}

Tersiyer bronkus'ların uç dallarının çapı 1 mm'nin altına düştüğünde bronkiyoluslar oluşur. Bronkiyoluslar yaklaşık 12 kez dallandıktan sonra akciğer içi hava iletim yolunun son dallan olan terminal bronkiyolusları oluştururlar. Terminal bronkiyolus'larda 1-2 ya da daha fazla dallanıp gaz değişiminin olaylandığı solunum bölümünün ilk dalları olan respiratuvar bronkiyolusları

yaparlar. Respiratuvar bronkiyoluslarda 2-11 arası değişen sayıda kanallara ayrılır. Bunlara alveolar kanallar (ductus alveolaris) denir. Bunlarda alveolar keseler (sacculus alveolaris) ve alveoller'le (alveolus pulmonis) devam ederler.^{61,62,63}

Primer, sekonder ve tersiyer bronkusların duvarları histolojik olarak içten dışa 3 katmandan oluşur:

1-Mukoza

2-Fibroelastik doku içine gömülü kıkırdaklar

3-Adventisya

Mukoza:

Epitel, lamina propria, muskularis mukoza ve submukoza katmanlarından oluşmuştur.

Epitel: Yalancı çok katlı prizmatik kinosilyalı epiteldir. Epitelde altı tip hücre bulunur.

1-Silyalı prizmatik hücreler:

Epiteldeki hücre sayısının %30'unu oluştururlar. Çekirdek oval ve bazale yakın yerleşmiştir. Apikal yüzde mikrovillus ve kinosilyalar içerirler. Apikal sitoplazma mitokondriyondan zengindir ve gelişkin bir Golgi kompleksi (Golgi C 1844-1926)⁶⁴ bulunur. Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum ve az ribozom kapsarlar.

2-Goblet hücreleri:

Epitel hücrelerinin %30'unu oluştururlar. Bu hücreler mukus salgırlar. Goblet hücrelerinin bazal bölümleri dar, apikal bölümleri içerdikleri salgı granülleri nedeniyle geniştir. Elektron mikroskopik resimlerde çekirdek ve

organeller bazal sitoplazmada yerleşiktir. Bu bölgede zengin bir ağdan oluşan granüllü endoplazmik retikulum, tubulusları iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda mitokondriyon ve serbest ribozom bulunur. Apikal sitoplazma değişik çaplarda, polisakkaritten zengin mukus granülleriyle doludur. Apikal hücre zarında az miktarda kısa mikrovillus vardır.

3-Bazal hücreler:

Epitelyum hücrelerinin %30'unu oluştururlar. Bazal lamina üzerine yerleşiktirler. Ancak apikal yüzleri lümene ulaşmaz. Bu hücrelerin; Goblet hücreleri, kinosilyalı prizmatik ve mikrovilluslu hücreler için kök hücre oldukları düşünülmektedir.

4-Mikrovilluslu hücreler (küçük granüllü müköz hücreler):

Epitel hücrelerinin %3'ünü oluştururlar. Bunlar apikal hücre zarları üzerinde mikrovillus içeren dar prizmatik hücrelerdir. İşlevleri tam olarak bilinmemektedir. Ancak sinir sonlanmaları içerdiklerinden bazılarına göre duyu reseptörleri olarak kabul edilirken, bazı araştırmacılara göre salgısını boşaltmış Goblet hücreleri olarak değerlendirilmektedirler.

5-Seröz hücreler:

Epitel hücrelerinin %3'ünü oluştururlar. Prizmatik hücrelerdir. Apikal yüzleri mikrovilluslu ve yoğun salgı ürünü içeren granüller bulundurlar. Bu granüllerin içeriği bilinmemektedir.

6-DNES hücreleri:

Epitel hücrelerinin yaklaşık %3-4'ünü oluştururlar. Küçük granüllü hücreler olarak bilinirler. Nöral kristadan köken alırlar. Bazal sitoplazmalarında 100-300 µm

apında çok sayıda granül vardır. Salgılarını bağ dokusuna verirler. ekirdekleri bazal bölgededir. Katekolaminleri salgırlar.^{53,63}

Lamina propria:

İki kat halinde düzenlenmiştir. İte kan ve lenf damarlarından zengin gevşek bağ dokusu katmanı, dışta ise uzunlamasına dizilmiş elastik liflerden zengin fibroelastik bir membrandan oluşur.⁵³ Kanallarla epitel yüzeyine açılan müköz ve ser-müköz bezler ile lenf follikülleri, lenfositler ve nötrofilleri içerir.

Muskularis mukoza:

Lamina propria'nın dışında trakea'da bulunmayan, bronkusların sonuna değin izlenen düz kas katıdır. Bu katta düz kaslar düzenli değildir. Bronkus çevresinde bazen sağ bazende sol yanı açık olan halkasal yapılarıdır. Düz kas demetleri arasında çok sayıda elastik fibriller bulunur.⁵³

Submukoza:

Kas katmanının dışında yer alan ve seröz ve müköz bezleri içeren bağ dokusudur. Bezler salgılarını kısa kanallarla epitel yüzeyine verirler. Kan ve lenf damarlarından zengindir.^{36,53,63}

Fibroelastik doku içine gömülü kıkırdaklar :

Hiyalin tipteki kıkırdaklar primer bronkuslarda st üste dizilmiş arka uçları açık, at nalı biçimindedir. Bu kıkırdaklar akciğer içi bronkuslarda at nalı şekillerini yitirirler. Tüm bronkus'un çevresini saran düzensiz kıkırdak levhalar halini alırlar. Aralarında fibroelastik doku bulunur. Hiyalin kıkırdak zamanla fibrzleşebilir.

Adventisya:

Bronkus duvarının en dış katmanıdır. Bol elastik lif içeren sıkı bağ dokusudur. İçinde kan ve lenf damarları, sinirler, lenfosit toplulukları ve makrofajlar bulunur.⁵³

Primer bronkus'larda epitel yalancı çok katlı prizmatik kinosilyalıdır. Lamina propria, elastik liflerden zengin ve daha sıkı yapıdadır. Muskularis mukoza belirlemeye başlamıştır. Submukoza'da müköz ve serö-müköz bezler vardır. Düzenli olarak alt alta sıralanmış olan C veya at nalı şeklinde kıkırdaklar kapsar. Bunun altında ise elastik lifler içeren sıkı bağ dokusu bulunur.

Sekonder bronkus'larda epitelde Goblet hücreleri azalır. Lamina propria incelikir. Kıkırdak levhalar izole ya da adalar şeklinde görülür. Submukoza bezleri azalır.^{53,61,62}

Tersiyer bronkus'ların duvarları incelikir. Bronkiyoluslara geçiş bölgesine yakın tek katlı kinosilyalı prizmatik epitel olur. Lamina propria incelikir. Elastik liflerden oluşan elastik doku özelliğindedir. Kas katmanı süreklilik göstermeye başlar. Submukozada seröz ve serö-müköz bezler azalır, kıkırdak az sayıda düzensiz plaklar halindedir. Histolojik kesitlerde kasların kasılmaları bronkus mukozasına kıvrıntılı bir görünüm verir. Bronkusların çatallanma bölgelerinde bol miktarda lenf folikülleri görülür.^{62,65,66}

Bronkiyolus'ların çapları yaklaşık 0,3-0,5 mm 'dir. Bronkus ağacında 12-15. dallanma ile oluşurlar. Lamina propriada bezler, duvarlarda kıkırdak plaklar yoktur. Büyük bronkiyoluslarda Goblet hücreleri görülür. Küçük bronkiyoluslarda ise

Goblet hücreleri bulunmaz.⁴⁹

Terminal bronkiyolus, bronkiyolusların çapı 0,5 mm'den daha az olan alt kısımlarıdır. İletici bölümün son parçasıdır. Akciğer loplarının altındaki kısımlarda bulunan akciğer asinuslarına hava sağlarlar. Epitelin boyu alçak silyalı tek katlı prizmatik ya da kübiktir. Epitelde 2 tip hücre bulunur. Bunlar silyalı ve silyasız hücrelerdir. Silyasız olan kübik hücrelere Clara (Clara M 1899-1966)⁶⁴ hücreleri ya da bronkiyolar hücreler denir. Bu hücreler lümene doğru kabarıklık yapan hücrelerdir. Apikal hücre zarı seyrek mikrovillusları içerir. Çekirdek iridir. Bazal sitoplazmasında iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, serbest ribozomlar, büyük mitokondriyonlar ve glikojen tanecikleri bulunur.

Apikal sitoplazmasında ise iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve zarla çevrili granüller izlenir. Bu hücrelerin bronkiyolusların yüzeyini koruyucu özellikte olan glikozaminoglikanları salgıladıkları düşünülmektedir.^{53,62,63} Lamina propria büyük oranda düz kas ve elastik liflerden yapılmış ince fibroelastik bir bağ dokusudur. Submukoza fibröz bağ doku yapısında olup adventisya ile devam eder.

Solunum alanını; respiratuvar bronkiyoluslar, alveolar kanallar, alveolar keseler ve alveoller oluşturur.

Respiratuvar bronkiyolus'lar 0,2-0,5 mm çapında olan kısa tübüllerdir. Terminal bronkiyolusların dallanmaları sonucu oluşurlar. Çapı geniş olanlarda epitel tek katlı kübiktir. Silyalı ve silyasız hücreler kapsar. Çap daraldıkça silyalı hücreler kaybolur. Clara hücrelerinin sayıları artar.^{49,53} Epiteli dıştan düz kas ve elastik bağ dokusu sarar. Respiratuvar bronkiyoluslardaki lümen aşağılara indikçe genişler, epitel ince duvarlı hale gelir.⁶²

Alveolar kanal'lar: Respiratuvar bronşiyollerin distalinde bulunurlar. Alveol kanalları, alveol keseleri (2-3 tane) ile bağlantılı olan atriumlara açılır.

Atriumların ağızları, alveol keseleri ve alveoller, elastik ve retiküler liflerden oluşan karmaşık bir ağ ile sarılıdır. Elastik lifler soluk alma ile alveollerin genişleyebilmesini, soluk verme sırasında da pasif olarak büzülebilmesini sağlar. Retiküler liflerin sağladığı destekle ince kan kapilleri ile alveol bölmelerinin aşırı gerilmesi ve hasar görmesi önlenir.^{53,62}

Lamina propria'da düz kas hücrelerinden bir ağ vardır. Düz kaslar alveolar kanalın alveollere açılma bölgesinde kaybolur.

Alveol'ler bir yanları alveolar keselere, alveolar kanallara ya da respiratuvar bronkiyolusların lümenlerine açık, ince duvarlı, yuvarlak ya da köşeli biçimde olan keseciklerdir. Duvarlarında kan ile hava arasında gaz değişimi olaylanır.⁶¹ Çapları yaklaşık 200 µm'dir. Yetişkin akciğer'inde yaklaşık 300 milyon kadar alveol vardır. Alveollerin gaz değişiminde yararlandıkları toplam yüzey yaklaşık olarak 140 mm² dir.⁶³

Alveol duvarının yapısı iç ve dış ortam arasında gaz dağılımını arttıracak şekilde özelleşmiştir. Genelde her duvar, iki komşu alveol arasında yer alır ve bu nedenle alveoller arası bölme ya da intra-alveoler septum adını alır.

Intra-alveoler septum, arasında kılcak kan damarları, fibroblastlar, elastik ve retiküler lifler ile makrofajlar bulunan iki ince yassı epitel katmanından oluşur.⁶²

İntra-alveolar septumda yer yer alveolar delik (por) denilen küçük, yaklaşık 8-10 µm çapında yapılar vardır. Alveolleri birbirine bağlayan bu delikler, bir bronkiyolus'un tıkanması halinde kollateral hava dolaşımını sağlarlar. Ayrıca bunların alveollerdeki hava basıncını da dengede tuttukları sanılmaktadır.

Kapiller ve bağ dokusu matriksi, intersitisyumu oluşturur. Burada organizmanın en zengin kapiller ağı yerleşiktir.^{61,62}

Kan-hava bariyeri:

Alveollerdeki hava ile kılcal kan damarlarındaki kan üç bileşenden oluşan bir kan-hava bariyeri ile birbirinden ayrılır. Bunlar; alveollerin yüze epiteli ve alveol hücrelerinin sitoplazması, alveol ve endotel hücrelerinin kaynaşmış ortak bazal laminası ve endotel hücrelerinin sitoplazmasıdır. Bu katmanların toplam kalınlığı 0,1-1,5 µm arasında değişir. Alveoller arası bölme içinde ağzlaşmalar yapan akciğer kılcal kan damarları, retiküler ve elastik liflerin oluşturduğu bir ağla desteklenir. Alveol duvarının daralıp genişlemesine uygun bir biçimde düzenlenmiş olan bu lifler, alveollerin esas yapısal desteğidir. Bölmenin interstisyumunda lökositler, makrofajlar ve fibroblastlar da bulunur. Alveol duvarının epiteli ile endotel hücrelerince üretilen iki bazal lamina kaynaşarak; tek bir bazal zar oluştururlar.^{53,54,62}

Alveol epiteli, alveol yüzeyinde kesintisiz bir örtü yapar. 2 tip hücreden oluşur. Bunlar çok yassı olan tip I alveolar hücreler ve yuvarlağımsı daha yüksek boylu tip II alveolar hücrelerdir.^{53,62,63} Bunlar septal hücreler ya da büyük (tip II) alveolar hücreler olarak adlandırılırlar.⁴⁹

İntra-alveolar septumda 5 tip hücre gözlenir. Bunlar;

- 1-Kapiller endotel hücreleri (%30)
- 2-Tip I alveol hücreleri (% 8)
- 3-Tip II alveol hücreleri (%16)
- 4-Fibroblast ve mast hücrelerini kapsayan intersitisyel hücreler (%36)
- 5-Alveol makrofajları (% 10)

Kapiller endotel hücreleri:

Çok ince yassı hücrelerdir ve tip I alveol hücreleriyle karıştırılabilirler. Kapillerlerin endoteli sitoplazmik porlar içermez. Endotel hücreleri kapillerleri kesintisiz olarak döşer.

Çekirdek ve çevresindeki organeller bir yere kümелendiğinden sitoplazmanın diğer bölümleri gaz değişimini kolaylaştırmak için incelmıştır. Kenar sitoplazmada çok sayıda pinositik vezikül gözlemlenir.⁶²

Tip I alveol hücreleri : (Yassı alveolar hücreler - membranöz hücreler - tip I pnömositler - küçük alveol hücresi)

Alveol yüzeyinin %95'ini döşeyen yassı hücrelerdir. Sitoplazma kalınlığı yaklaşık 80 µm kadardır. Çekirdek bölgesi çok geniştir ve hücre organellerinin çoğu burada bulunur. Golgi kompleksi, az granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, az sayıda mitokondriyonlar izlenir. İnce kenar sitoplazmaları sürfaktan dönüşümü ve küçük taneciklerin oluşturduğu kirlilikten yüzeyin temizlenmesinde işlev gören çok sayıda pinositik veziküller içerir. Hücreler birbirleriyle sıkı bağlantılar yaparlar. Böylece doku sıvısının alveol lümenine sızması engellenmiş olur. Her bir alveolar delik, 2 ayrı alveole ait olan tip I alveolar hücrelerin zarlarının kaynaşması ile oluşur. Bu hücrelerin esas görevleri

gazların geçişine uygun olan ince bir bariyer oluşturmaktır.^{61,62,65}

Tip II alveol hücreleri ; (Septal hücreler - büyük alveol hücresi - granüler pnömosit - Tip II pnömosit)

Desmozomlar ve sıkı bağlantı birimleriyle tip I alveol hücrelerine tutunarak onların aralarına serpilmiş olan hücrelerdir. Alveolar hücre sayısının %60 kadarını oluştururlar. Ancak alveolar yüzeyinin %5-10'unu kaplarlar. Kübik hücreler olup genelde alveollerin birleştikleri yerlerde 2 ya da 3 hücreden oluşan gruplar şeklinde bulunurlar. Tüm hücreler bazal lamina üzerine otururlar. Alveol boşluğuna doğru kabarıklık yapacak şekilde yerleşirler. Bu hücrelerin lümene bakan yüzlerinde kısa mikrovilluslar vardır. Çekirdekleri merkezde yerleşiktir. Sitoplazmaları bol granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, çok iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve mitokondriyonları vardır. Bu hücreler tipik salgı hücrelerine benzerler. Sitoplazmalarında ayrıca sürfaktanı içeren 1-2 mm çapında, koyu osmiyofilik cisimler olan lameller yapılar içerirler. Bunlara lameller cisimler denir. Bu granüller ekzositozla alveol yüzeyinde yayılarak yüzey gerilimi azaltan pulmoner sürfaktanı yaparlar. Sürfaktan esas olarak fosfolipitler ve protein (A,B,C,D) den oluşmaktadır.^{49,53,63}

Alveol yüzeyine salındıktan sonra protein ve lipit ayrılır. Lipit hava ile temas ederek yüzeyde fosfolipit bir yapı oluştururken, protein bu fosfolipit film ile tip II alveolar hücrelerin arasına yerleşir. Bir tür tübüler miyelin olarak bilinen kafes benzeri ağları oluşturur. Sürfaktan alveol yüzey gerilimini azaltır. Böylece solunum kolaylaşır ve alveollerin yapışması engellenir. Sürfaktan, tip II alveolar hücrelerde sürekli olarak yapılır. Ayrıca alveolar makrofajlar ve tip II alveolar hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Tip II alveolar hücreler salgılama ve fagosite etme işlevini birlikte yaparlar. Tip II alveolar hücrelerin ek bir işlevi de alveolar epitelin korunması ve hasar olduğunda onarılmasıdır. Tip I hücreler hasar

gördüğünde, tip II hücre sayısı artar ve bunlar farklanarak tip I alveolar hücre benzeri hücrelere dönüşürler. Sürfaktan olmazsa alveoller soluk verme sırasında kapanabilirler.^{53,62,63}

Fetüs gelişiminde sürfaktan, son haftalarda belirmeye ve tip II alveolar hücrelerde lameller cisimler görülmeye başlar.⁵³

Alveol makrofaiarı:

Alveolün lümene bakan yüzeyine göç eden serbest hücrelerdir. Kemik iliği kökenli monositlerden kaynaklanırlar.⁵³

Bu hücreler hava yollarında doğrudan solunan ve müköz örtüyle tutulamayan tozlar ve bakterileri fagosite ettikleri için “toz hücreleri” olarak da adlandırılırlar ve akciğerde steril bir ortam oluştururlar. Mikroorganizmaların metabolizma ürünlerince uyarıldığında makrofajlar; makrofajlara bağlanmış antijenleri etkisiz hale getiren, lökositlerin endotelden geçerek göç etmelerini sağlayan kemotaktik faktörler salgırlar.

Alveoler makrofajlar, alveollerden bronşların yüzeyine göç ederler ve sillerin hareketi ile tükürük ile yutulacakları farinkse taşıırlar.³⁶

Vakuollü ve vakuolsüz olarak 2 tip makrofaj vardır. Vakuollü olanların sitoplazmalarında lipit damlaları bulunur. Preparatlarda lipit erir ve sitoplazma vakuolü köpük şeklinde gözlemlenir. Makrofajlar genelde karbon partiküllerini fagosite ederler. Kalp hastalarında alveolar makrofajlar, kırmızı kan hücrelerinin fagositozu ve onların hemoglobininin ayrışımı sonucunda hemosiderin ile dolu birçok vakuol kapsarlar. Makrofajlar 15–40 µm çapındadır. Düzensiz şekilli

çekirdekleri ve belirgin çekirdekçikleri vardır. Sitoplazmada küçük bir Golgi kompleksi, az sayıda mitokondriyon, seyrek granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, serbest ribozom ve bol miktarda primer uzanan glikojen granülleri içerirler. En belirgin özellikleri hücre yüzeyinde görülen ayakçıklarıdır.^{36,53}

Fibroblast, mast hücreleri ve kasılabilir intersitisyum hücreler :

Alveolar septumda bulunan fibroblastlar kollagen lif, elastik lif ve ara maddeyi sentezlerler. Kollagen lifler toplam liflerin %20'sini oluşturur. Temel olarak tip I ve tip III kollagenler bulunur. Kasılabilir intersitisyel hücreler alveolar epitelin bazal yüzüne bağlanırlar. Anti-aktin ve anti-miyozinle etkileşirler ve alveol tümenini daraltırlar.^{63,65,66}

4-AKCIĞERLERİN FİZYOLOJİSİ

Solunum sisteminin görevi canlılığın sürdürülebilmesi için gerekli olan oksijen'in sağlanması ve hücrelerin metabolik aktiviteleri sonucu açığa çıkan karbondioksit'in vücuttan atılmasıdır.^{49,67}

Solunum sistemi; gaz değişim organı olan akciğerler ve akciğerlere hava giriş-çıkışını (ventilasyon) sağlayan bir pompadan oluşur. Bu pompa; göğüs kafesi, göğüs boşluğu hacmini arttıran ve azaltan solunum kasları, kasları beyine bağlayan sinirler ve kasları denetleyen beyin bölgelerinden oluşur.

Dinlenim anında normal bir insan dakikada 12-15 kez solur. Her bir solukta 500 ml veya 6-8 L/dk hava alınır ve verilir. Bu hava alveollerdeki gaz ile karışır ve basit difüzyonla oksijen, akciğer kapillerlerindeki kana geçerken karbondioksit alveol boşluğuna verilir. Bu yolla dakikada 250 ml oksijen vücuda alınır ve 200 ml karbondioksit dışarı atılır.^{49,68}

Oksijenden zengin hava burundan geçerken burun boşluğunda üç olay gerçekleşir. Hava ilk olarak konkalar ve burun septumunun toplam alanı 160 cm²'yi bulan geniş yüzeyce ısıtılır, ikinci olarak nemlendirilir. Daha sonra solunan hava ile alınan büyük kir partikülleri burnun girişinde bulunan özel kıllar ile süzülür. Bunların tümüne üst solunum yollarının havayı düzenleyici işlevi denir.⁶⁸

Burunda ısıtılan, nemlendirilen ve süzülen hava terminal bronkiyoluslara değin tüm hava yollarının iç yüzeyini örten mukus katmanı ile özelliklerini koruyarak gelir. Mukus, kısmen epitel katmanındaki Goblet (kalisiform-kadeh) hücrelerinden kısmen de submukoza katındaki bezlerden salgılanır. Mukus havayı nemlendirirken epitel yüzeyindeki silyalar küçük toz partiküllerini dış ortama

atmak için hareket ederler.

Silyalar terminal bronkuslara kadar tüm hava iletim yollarının epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde bulunurlar. Her epitel hücresi yaklaşık 200 civarında silya içerir. Bunlar saniyede 10-20 kez sürekli çarpma hareketi yaparlar. Bu hareketin yönü farinks'e doğrudur. Silyaların farinks'e olan hareketi ile mukus dakikada 1 cm hızla itilir. Daha sonra mukus ve içinde tutulu küçük kir partikülleri yutulur ya da öksürükle dışarı atılır.⁴⁹

Solunum yollarının en önemli özelliği havanın alveollere giriş-çıkışını kolaylıkla sağlayacak şekilde açık tutulmasıdır. Trakea ve bronkusların yapışmasını önleyen üst üste dizilmiş kıkırdak halkalarıdır. Bunlar trakea 'nın çevresinin yaklaşık 5/6'sini oluşturur. Ayrıca çevrelerinde kıkırdağın yanı sıra az miktarda da düz kas vardır. İç yüzeyleri seröz ve müköz bezler içeren silyalı bir epitel tabakası ile kaplıdır. Bronkiyoluslarda kıkırdak ve bezler yoktur. Bunların duvarlarında düz kaslar bulunur. Hava iletim yollarının son birimlerinde yapışmayı önleyen herhangi bir destekleyici yapı yoktur. Bunlar alveolleri genişleten transpulmoner basınçla genişlerler. Böylece solunan hava buradan alveolar kanallarla alveollere kadar iletilmiş olur.⁶⁸

Alveoller, gaz değişiminin yapıldığı küçük hava kesecikleridir. Üzüm salkımına benzeyen alveoller tek katlı yassı epitelden oluşan ince bir hücre duvarı ile çevrilidirler. Bu duvar, alveol'ü dıştan çevreleyen akciğer kapillerlerinin endoteli ile çok yakın ilişkidir. Bu nedenle alveol havası ile akciğer dolaşımı arasındaki gaz değişimi akciğerin uç kısımlarının membranları arasında olur. Bu membranlara topluca solunum ya da akciğer membranı ya da kan-hava bariyeri denir.

Kan-hava bariyerini oluşturan yapılar;

- 1-Alveolleri örten ve yüzey gerilimini azaltan sıvı (sürfaktan)
- 2-Çok ince hücrelerden oluşan alveol epiteli
- 3-Alveol epitelinin bazal membranı
- 4-Alveol epiteli ve kapiller endoteli arasında çok ince olan bir boşluk
- 5-Alveol bazal membranı ile kaynaşan kapiller bazal membranı
- 6-Kapiller endoteli

Çok sayıda katmandan oluşmasına karşın kan-hava bariyerinin kalınlığı ortalama 0,5 μm olup bazı yerlerde 0,2 μm 'ye kadar iner. Gazlar bariyerden pasif difuzyonla geçerler.^{49,53}

AKCİĞER HACİMLERİ VE KAPASİTELERİ

Akciğer'in işlevsel özelliklerini belirlemek için hacimleri spirometre ile ölçülür. Akciğerlerde 4 ayrı hacimde hava bulunmaktadır.

-Soluk hacmi (tidal volüm): Bir solukla alınan ve çıkarılan hava miktarıdır (500 ml).

-Yedek soluk alma hacmi (inspiratuvar rezerv volümü): Normal solukla alınan solunum havası dışında ek olarak alınabilen hava miktarıdır (3500 ml). Egzersiz esnasında kullanılır.

-Yedek soluk verme hacmi (ekspiratuvar rezerv volüm): Normal bir solukla çıkarılan solunum havası dışında zorunlu bir ekspirasyonla dışarı atılabilen hava miktarıdır (1500 ml).

-Artık hacim (rezidüel volum): Maksimum bir ekspirasyondan sonra akciğerlerde kalan hava miktarıdır (1000 ml).

Akciğerlerin kapasiteleri;

-Inspiratuvar kapasite: Akciğerlerin en yüksek düzeyde şişirilmesiyle alınan hava hacmidir (Yaklaşık 3500 ml).

-Fonksiyonel rezidüel kapasite: İstirahat halinde ekspirasyon düzeyinde göğüste kalan hava hacmidir (Yaklaşık 2300 ml).

-Vital kapasite: Maksimum bir inspirasyonda akciğerlerden atılabilen en yüksek hava hacmidir (Yaklaşık 4600 ml).

-Total akciğer kapasitesi: En zorlu inspirasyonla alınan hava hacmidir (Yaklaşık 5800 ml).

Akciğer hacim ve kapasiteleri kadınlarda erkeklere göre % 20-25 küçüktür. İri yapılı insanlarda ve sporcularda daha yüksektir.^{49,68}

Akciğer ventilasyonu (dakika akciğer volümü) ve alveolar ventilasyonu

Ventilasyon, havalandırma demektir. Soluk alıp vermede alveollerin hacmi çok az değişir. En çok hacim değiştirenler alveolar kanallardır.

Solunumla; alveoller ile akciğer kapillerleri arasında oksijen-karbondioksit alış veriş olur. Akciğer ventilasyonu ile alveolar ventilasyon aynı değildir. Akciğer ventilasyonu belli bir sürede (1 dk.) solunum sistemine giren ve çıkan hava hacmidir. Örneğin; bir insan her solunumda 500 ml hava alıp verse ve dakikada 12 kez solunum yapsa, akciğer ventilasyonu dakikada 6000 ml ($500 \times 12 = 6000$ ml) olur. Ancak bu havanın tümü alveollere girmez ve gaz alış verişinde kullanılmaz. Taze havanın önemli bir kısmı burun, farinks, trakea ve bronkusları doldurur. Bu nedenle bu hava yollarını kapsayan yere ölü aralık, havaya ölü aralık havası denir. Ölü aralığın hacmi insanda 150 ml kadardır. Yani bir insanın solunum hacmi 500ml ve solunum sayısı dakikada 12 ise alveolar ventilasyonu $500 - 150 = 350$ ml alveollere ulaşan hava hacmidir. $350 \times 12 = 4200$ ml dakikadaki alveolar ventilasyondur.^{49,69}

GAZ DEĞİŞİMİ

Kanda oksijenin %3'ü plazmada eriyik halde, %97'si eritrositlerde hemoglobin'e bağlı olarak bulunur. Normal arter kanında ortalama 100 mm Hg basınçta, hemoglobin'e bağlı olarak 20 ml, çözünmüş halde ise 0,3 ml oksijen vardır.^{49,53,69}

Hemoglobin; oksijeni akciğerlerden alıp dokulara götüren ve dokulardan karbondioksiti alıp akciğerlere getiren bir proteindir. Demir taşıyan 4 adet hem molekülü ve protein olan globin molekülünden oluşur. Her bir hem molekülü bir molekül oksijen bağlar. Akciğerlerde oksijenle yüklenmiş olan hemoglobin dokulara geldiğinde esas olarak gevşek bağladığı oksijeni serbest bırakır. Oksijen eritrositlerdeki hemoglobin'e bağlandığında oksihemoglobin oluşur.^{53,69}

Oksijenin hemoglobinden ayrılmasını etkileyen bazı etkenler vardır. Besinlerin doku hücrelerinde okside edilmeleri bazı asitlerin (karbonik asit ve laktik asit) oluşmasına neden olur.

Bu asitler proton'u (H^+) serbest bırakırlar. Ortamda hidrojen iyonu ne kadar çok ise; hemoglobin o kadar çok oksijeni serbestleştirir. (BOHR etkisi)

Eritrositlerdeki 2,3 difosfoglisarat'ın (DPG) molekül sayısı hemoglobin molekülü kadardır. DPG oksijenini bırakmış hemoglobin'e bağlanarak bunun oksijen'e olan ilgisini azaltır. Oksihemoglobin'e bağlanmaz. Fetüste bulunan hemoglobinin DPG'ye ilgisi azdır. Bu nedenle hemoglobin daha fazla oksijen bağlar. Bu da anne kanındaki oksijenin fetus kanına geçişini kolaylaştırır.

Sıcaklık ve pH'ta etkili faktörlerdendir. Sıcaklıkta bir yükselme ya da pH'ta bir düşme varsa hemoglobin'in oksijen'e olan ilgisi azalır. Karbondioksit miktarı artarsa pH düşer.

Oksijen basıncı da etkilidir. Dokuda oksijen basıncı azaldığında aktif dokulardan akan kandaki hemoglobin daha fazla oksijeni serbest bırakır ve dokuya verir. Özellikle dokuların aktiviteleri arttığında oksijen gereksinimi artar ve daha çok oksijen kullanılır.^{68,69}

Hemoglobin karbondioksiti de taşır. Hemoglobin oksijeni bırakırsa hidrojen iyonu bağlar, oksijeni bağlayınca hidrojen iyonunu bırakır. Karbondioksit bu mekanizma ile taşınır. Hücre solunumunda oluşan karbondioksitin büyük bir kısmı su ile birleşerek bikarbonat (HCO_3^-) ve proton (H^+) oluşur. Bu olayı karbonik anhidraz enzimi katalizler. Oksijensiz hemoglobin bir tampon görevi yapar. Hidrojen iyonlarını bağlarken elektriksel nötralizasyonu sağlamak için plazmadaki Cl iyonları eritrosit içine girer. Bu sırada bikarbonat iyonları plazmaya geçer. Hidrojen iyonları uzaklaştıkça karbondioksit dokudan kana geçmektedir. Hidrojen iyonu hemoglobin tarafından tutulmazsa dokudan karbondioksit alınamaz.^{68,69}

Kan akciğerlere gelince olay tersinir olur. Ortamda oksijen fazla olduğundan hemoglobinle birleşerek oksihemoglobini yapar. Bu bağlanma sırasında hidrojen iyonları serbest kalır.

Eritrosit dışına klor iyonları verilirken iyonik dengenin korunması için bikarbonat iyonları hücre içine girer. Eritrositlere giren bikarbonat iyonları potasyum'a bağlı olarak bulunur. Hemoglobin oksijenle bağlandığında hidrojen iyonları potasyum'un yerini alır ve potasyum iyonları hemoglobin'e bağlı kalır. Plazmada bikarbonat iyonları sodyum iyonuna bağlı olarak bulunur. Kan

alveollere geldiğinde çeşitli tepkimelerle hidrojen iyonu serbest kalır. Serbest kalan hidrojen iyonları bikarbonat ile birleşerek karbondioksiti ve suyu oluşturur. Serbest karbondioksit pasif difuzyonla kan-hava bariyerini geçerek alveol lümenine gelir ve soluk vermeyle dış ortama atılır. Karbonik anhidraz'ın katalizlediği bu tepkimeler tüm biyolojik tepkimelerin en hızlısı olup saniyede 500 000 karbondioksit molekülü döngüye katılır.⁴⁹

Diğer bir olayda karbondioksit'in hemoglobin'e doğrudan bağlanmasıdır. Karbondioksit oksijensiz hemoglobin'e daha çok bağlanır ve karbamino-hemoglobin'i oluşturur. Dokularda oksijenini bırakan hemoglobin'e az miktarda karbondioksit bağlanır.

Karbonmonoksit hemoglobin'i sever ve bağlandığı zaman kolay kolay ayrılmaz. Ayrıca oksijen'in bağlandığı yerden bağlanır. Onun için karbonmonoksit'e bağlı hemoglobin oksijen taşıyamaz. Sigara içimiyle oluşan karbonmonoksit hemoglobin'in oksijen taşımamasını %20 azaltır.⁶⁹

AKCİĞERLERDE YÜZEY GERİMİ:

Yüzey gerilimini azaltan (sürfaktan) madde alveollerin duvarındaki hücrelerce salgılanır. Bu madde protein, lipit ve karbonhidrat karışımı bir kimyasal yapıya sahiptir. Sürfaktan'ın esas bileşeni dipalmitoyl phosphatidylcholine'dir. Yüzey geriminin ölçü birimi din (dyne)'dir. Normal insanda alveollerin iç yüzünü kaplayan ince kat halindeki sıvının yüzey gerimi 1 cm için 40 din olmalıyken sürfaktan etkisi ile bu 1 cm için 2 din kadardır. Alveollerde sürfaktanın iki işlevi vardır:

1-İnce olan alveol duvarının yüzey gerimi nedeniyle büzülmesini engellemek,

2-Alveollerin iç yüzey gerimini azaltarak, kan plazmasının alveol boşluğuna gereğinden fazla sızmasını önlemek.

Sürfaktanın azlığı ya da yokluğunda, alveollerin içi kan kapillerlerinden gelen sıvı ile dolar. Soluk alma sırasında akciğer iç yüzeyi genişler ve daha geniş yüzeye yayılan sürfaktanın yüzey gerimi etkisiyle azalır. Bu olay akciğerin gereğinden fazla şişmesini önlediği gibi, elastikiyetine yardımcı olarak soluk vermede akciğerlerin eski hallerine dönmelerini kolaylaştırır. Soluk vermede akciğer yüzeyi küçülünce belli bir alana düşen sürfaktan yoğunluğu artacağından, yüzey gerilimini daha çok azaltır. Böylece alveol ve küçük hava yollarının büzülmesini (yapışmasını) önler.

Sürfaktanın yapısında 2 tip lipit vardır. Bunlar fosfotidilkolin (lesitin) ve sfingomiyelin'dir. Bu maddeler akciğerdeki tip II alveol hücrelerince sentezlenerek fetüste akciğerleri dolduran sıvı içine salınır. 28. haftaya değin bu 2 lipit akciğer sıvısında eşit oranda bulunur. 35. haftada lesitin miktarı artmaya başlar ve 38. haftada sfingomiyelinden 20 kat daha fazla olur. Amnion sıvısında lesitin miktarı düşükse akciğer gelişiminin normal olmadığı anlaşılır.

Doğacak çocuğun soluk alıp vermesiyle akciğerler genişler. Sürfaktan genişleyen akciğerlerin yeniden kapanmasını engeller. Lesitin miktarı az olan bebeklerde yüzey gerilimi çok yüksek olduğundan akciğerlerin birçok bölgesinde alveoller yapışmıştır. Bu hiyalin membran hastalığı (respiratuvar distress sendromu-RDS) olarak bilinir. Bu olgularda fosfolipit ve protein tedavisiyle iyi sonuçlar alınmaktadır.^{49,68,69}

AKCİĞERLERİN DİĞER İŞLEVLERİ :

Akciğerlerin gaz alış verişi dışında metabolik işlevler ve hormon aktivasyonu gibi görevleri de vardır. Akciğer dokusu sürfaktanı sentezler ve kullanır. Akciğer dokusu gerilirse prostaglandin E ve F'yi sentezler, depo eder ve kana verir. Ayrıca akciğerlerden histamin ve kallikrein sentezlenerek kana verilir.

Bazı önemli maddeler akciğer dokusunca parçalanıp ortadan kaldırılır. Örneğin kendi sentezlediği prostaglandin E ve F'leri bradikinin, serotonin, norepinefrin ve asetilkolin'i gerektiğinde parçalayıp etkisiz hale getirir.

Angiotensin I kanda bulunan inaktif bir hormondur. Akciğer dokusundan geçerken aktif olan angiotensin II haline dönüştürülür. Akciğerler fibrinolizis ile yükümlü enzimleri de taşıdıkları için, damar içi (intravasküler) tromboz şekillenince, trombozu eritme işlevi yaparlar.⁴⁹

SOLUNUMUN SİNİRSEL DENETİMİ:

Solunum sisteminin hareketleri ve akciğer ventilasyonu, bir grup özelleşmiş nöronların ritmik olarak uyarılmasıyla olaylanır.

Solunum merkezlerindeki nöronlar genellikle 3 yolla aktive edilir.

1-Nöronların bulunduğu ortamda yerel kimyasal değişikliklerle (örneğin; CO₂ ve H⁺ yoğunluklarındaki değişiklikler)

2-Merkezlerin dışında ve vücudun çeşitli yerlerinde bulunan reseptörlerden gelen uyarılarla refleks yoluyla (örneğin: kemoreseptörler, gerilme reseptörleri)

3-İstikle beyin korteksi'nden solunum merkezlerine gelen emirlerle

SOLUNUM MERKEZLERİ :

Solunum ile ilgili merkezler pons ve medulla oblongata'da bulunurlar. Çeşitli merkezlerin kesin sınırları tam olarak belirlenememiştir. Ancak belli bölgelerde yayılmış haldedirler.

İstekle yapılan solunumda beyin korteksindeki çeşitli merkezlerden solunum merkezlerine gelen impulslar solunumu isteğe uyacak şekilde değiştirir. Medulla oblongata'da soluk alma ve soluk verme merkezleri bulunur.

Bu merkezlerin ritmik solunumu oluşturmada 2 faktör etkilidir:

- 1-Pons cerebri'deki merkezlerden bu merkezlere ritmik olarak impuls gönderilir.
- 2-Nervus vagus yoluyla akciğer gerilme reseptörlerinden gelen ve soluk alma verme evrelerine göre değişen afferent impulsların bu merkezlere ulaşması.

Pons cerebri'nin aşağı kısmında merkez bulunmaktadır. Bu merkez n.vagus'un impulslarını baskılar. N.vagus kesilip inhibisyon ortadan kalkarsa apnöstik merkez sürekli olarak soluk alma merkezini uyarır ve uzun süreli soluk alma görülür.

Pnömotoksik merkezlerde kendiliğinden impuls yaratmazlar, ancak soluk alma merkezlerinden buraya gelen impulslarla ritmik aktivite gösterirler.

Kandaki CO₂ miktarı solunum merkezlerine uyarıcı etki yapar ve apnöstik merkez soluk alma merkezine uyarılar gönderir. Buradan da soluk alma

kaslarına kasılmaları için emir verilir. Soluk alma başlar. Soluk alma merkezi aynı zamanda pnömotoksik merkeze de impuls göndererek soluk almayı başlattığı bilgisini verir. Solunum belli bir düzeye ulaşınca gerilme reseptörlerinden n.vagus yoluyla apnöstik merkeze impuls gelir. Apnöstik merkez aktivitesi ve soluk alma merkezini uyaran impulslar durur. Soluk almayı olaylatan impulslar durunca pasif olarak soluk verme başlar.

Egzersiz sırasında ya da başka nedenlerle solunum güçlüğü varsa soluk verme; soluk verme merkezlerinden soluk verme kaslarına impuls göndermesiyle başlatılır.^{49,67,68,69}

III- GEREÇ VE YÖNTEM

1.Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden sağlanan Wistar Albino cinsi, 30 adet, 100-130 gram ağırlığında, genç dişi sıçan kullanıldı.

Denekler Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde ısı 21-23 °C ve ışık/zaman ayarı 14/10 saat olarak bakıma alındı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 5 gruba ayrıldılar:

1. Grup (Kontrol grubu) (n:6) : 20 gün süresince 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg fosfat tamponlu salin (PBS) uygulandı.

2. Grup (Siklofosfamid grubu) (n:6): 20 gün süresince 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

3. Grup (Siklofosfamid + Askorbik asit grubu) (n:6): 20 gün süresince her gün oral olarak 200 µg/kg askorbik asit ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz, intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

4. Grup (Siklofosfamid + α-tokoferol grubu) (n:6): 20 gün süresince her gün oral olarak 150 µg/kg α-tokoferol ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

5. Grup (Siklofosfamid + selenyum grubu) (n:6): 20 gün süresince her gün

oral olarak 40 µg/kg selenyum ve 1., 2., 7., 14. ve 20. günlerde tek doz intraperitoneal (İ.P) 75 µg/kg siklofosfamid uygulandı.

Yirminci günün sonunda denekler intraperitoneal ketamin (44mg/kg) ve ksilazin enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın bölgeleri açılarak akciğerleri alındı. Alınan dokular elektronmikroskopik inceleme için pH 7,4'de 1/15 µ fosfat tamponlu % 2,5'luk gluteraldehit tespit solüsyonu içine konuldular. Işık mikroskopik inceleme için 1 cm³ büyüklüğünde kesilen doku parçaları %10'luk nötral formalinde 72 saat, tespit edildiler. Daha sonra alışılagelmiş izleme yöntemlerden geçirilerek parafine gömüldüler.

2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait akciğer dokusu bloklarından polilizinli camlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada akciğerde yaşam sinyallerini belirleyebilmek için Thermo PCNA (PC10)-fare monoklonal primer antikor (Cat: MS-106-P1ABX, Lot: 106P602A) ile apoptozisin izlenmesi amacıyla Neomarkers Caspase- 9 (LAB6/Ab- 4) tavşan poliklonal antikor (Cat: RB- 1205-P, Lot:1205P306), Neomarkers Caspase- 8 tavşan poliklonal antikor (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C) uygulandı. Sekonder kit olarak Ultravision Detection System Anti-Rabbit HRP (RTU) (Cat: TP- 125 HL, Lot: PBN70509, Lab Vision, Fremont, USA) ve HRP/AEC (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565) kullanıldı. Ayrıca damarsal değişimleri belirlemek için Zymed Universal kit (Cat: 85-9043, Lot: 1396691) ile indirekt immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak, Santa Cruz AT₁ fare primer antikor (Cat: SC-57036, Lot: D0307) ile boyama yapıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6.0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lot: 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. AT₁ primer antikoru immün boyamasında retriver aşaması gerekmediğinden bu aşama uygulanmadı. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB70803, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan Caspase-8 (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C), Caspase-9 (Cat: RB-1205-P, Lot: 1205P306) primer antikolarına etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Camlar 60 dakikanın sonunda 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat:TR-125-BN, Lot: RBN70115, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS-125- HR, Lot: SHR70515, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565, Lab Vision, Fremont,

USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, USA) kullanıldı ve camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision, Fremont, USA) ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3. Elektron Mikroskopik Yöntem

Tespit:

Sorenson' un fosfat solüsyonu:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4).....	0.098gr
Distile su.....	100ml
Sol. B: Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	1.188gr
Distile su.....	100ml
18.2ml Sol. A + 81.8ml Sol. B = 100ml (pH: 7.4)	

Gluteraldehit tespit solüsyonunun hazırlanması:

9.2cc Sorenson fosfat tamponu + 0.8cc Gluteraldehit = 10cc

Dokular, bu solüsyona 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, 1mm küplük parçalara bölünüp ve 1 saat daha gluteraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (OsO_4).....	0.1gr
Distile su.....	5cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1 'lik osmiyum tetroksit solüsyonuna 1 saat etkin bırakıldılar. Böylece tespitleri ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidrasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla tespitten sonra, fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki etil alkol serilerinden geçirildiler.

%50'lik alkol..... 10 dakika

%60'lık alkol..... 10 dakika

%70'lik alkol..... 10 dakika

Uranil asetat..... 30 dakika (1gr uranil asetat + 50ml %80 'lik alkol, karışım hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletildi)

%80 'lik alkol.....2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi

%90 'lık alkol..... 10 dakika

%96 'lık alkol..... 10 dakika

%100 'lük alkol..... 15 dakika

Propilen oksit..... 30 dakika

Propilen oksit + gömme materyali..... 30 dakika (gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı)

Daha sonra dokular;

Araldit CY 212..... 10cc

DDSA..... 10cc içinde 1 gece 40°C 'de bekletildiler.

Bir gün sonra,

Gömme materyali:

Araldit CY 212.....	10cc
DDSA.....	10cc
BDMA.....	0.4cc
Dibütil fitalat.....	1cc

Bu karışıma alınan dokular 2 saat rotatörde oda ısısında, 2 saat 40°C 'de etüvde bekletildiler. Son olarak dokular aynı karışım ile 00 numara jelatin kapsüle gömüldüler. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen kapsüller, polimerizasyon için 24 saat 45 derecede , 48 saat 60 derecede etüvde bekletildi. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerine soğumaya bırakıldılar.

Hazırlanan bloklarda LKB Leica ultramikrotom ile 1µ'luk kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Germany) ile incelenen kalın kesitler resimlendirildi ve belirlenen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2-0.5µ'luk ince kesitleri alındı. Alınan kesitler kontrast sağlamak için, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskopta değerlendirilerek resimlendirildiler.

4. İstatistiksel Yöntem

Tüm kontrol ve deney gruplarına ait akciğer kesitlerinde PCNA, AT₁, kaspaz-8 ve kaspaz-9 primer antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda her bir camda X400 büyültmede rasgele beş alan seçilerek tutulumlar yoğunluk ve tutulum miktar yüzdesi olarak değerlendirildi. Tutulum

yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0,tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ + , orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak skorlandırıldı. Tutulum miktarı immünreaktivitenin bulunduğu hücre/ yapıların toplam hücre/ yapılara oranlanması ile; 1 (%0 – 10 arası, yerel), 2 (%11 – 50 arası, bölgesel) ve 3 (%51-100 arası, yaygın) olarak skorlandı. Her bir cam için bulunan yoğunluk ve miktar skorları birbiri ile çarpıldı, bu sonuçlar toplanarak o cam için tek bir değere ulaşıldı.

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (25-75) persentil olarak gösterildi.

Gruplar arasında sırasıyla; PCNA, AT₁, kaspaz-8 ve kaspaz-9 ortanca değerleri yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda anlamlı farka neden olan grup veya grupları tespit etmek amacıyla çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı.

Sürekli değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı birlikteliğin olup olmadığı Spearman'ın korelasyon testi ile araştırıldı. $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinde küçük büyültmelerde plevra, bronkioluslar, alveoler keseler, alveoler yapı ve damarlar normaldi. Büyük büyültmelerde PCNA işaretlemesinde, bronkiolus epitelinde tutulumun genelde çekirdek düzeyinde olduğu belirlendi. Yine bağ dokuda da bazı hücre çekirdeklerinin oldukça kuvvetli işaretlendiği görülmüyordu (Resim 1).

Siklofosfamid uygulanan grubun PCNA boyanmasında yine çekirdeklerin aktif olarak boyandığı dikkati çekti. Bu durum hem epitel hücre düzeyinde hem de lenfosit topluluklarında izleniyordu. Alveol lümeninde de makrofajların oldukça kuvvetli boyanma gösterdikleri ayırt ediliyordu. Siklofosfamid grubuna ait akciğer kesitlerinin küçük büyültmeli resimlerinde, bağ dokuda yaygın PCNA pozitif boyanan lenfosit infiltrasyonu gözleniyordu (Resim 2).

Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan grupta; bronkiolus epitelinde tutulumunun; yalnızca siklofosfamid uygulanmış gruba karşın biraz daha az olduğu ayırt ediliyordu. Az sayıdaki bağ doku ve epitel hücresinde yoğun tutulum izleniyordu. Küçük büyültmeli resimlerde damar duvarlarında bazı endotel hücre çekirdeklerinde tutulum gözlenirken, damar çevresindeki lenfosit yığınlarının yoğun PCNA pozitif reaksiyon verdiği gözleniyordu (Resim 3).

Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan grupta; genelde lenfosit infiltrasyonunun çok az olduğu gözlenirken, epitelde ve bağ dokusunda immün

tepkime gözlenmekle birlikte; siklofosfamid grubu ile karşılaştırıldığında daha az olduğu dikkati çekiyordu (Resim 4).

Siklofosfamid ve selenyum uygulanan grupta ise, PCNA tutulumunun diğer gruplarla uyumlu olduğu dikkat çekti. Epitel dokuda az olmak üzere, lenfosit topluluklarında yoğun tutulum ayırt edildi (Resim 5).

Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta, PCNA tutulumunun sadece siklofosfamid uygulanan gruba eşdeğer olduğu dikkat çekiyordu (Resim 6).

Kontrol grubuna ait AT₁ immün boyamasında; bronkiolus epitelinde, lümeninde ve bağ dokuda orta dereceli sitoplazmik tutulumun varlığı gözleniyordu. Alveol duvarında ise tip 1 alveol hücre sitoplamasında az buna karşın tip 2 alveol hücre sitoplamalarında biraz daha fazla immünreaktivite ilgiyi çekiyordu (Resim 7).

Siklofosfamid uygulanan ve AT₁ immünboyaması ile değerlendirdiğimiz gruba ait akciğer dokularında ise visseral plevra hücreleri de dahil olmak üzere; bronkus, alveol ve damar endotelinde yaygın tutulum izleniyordu. Alveol duvarının yer yer bütünlüğünün bozulduğu, alveoler gerginliğin azaldığı, duvarın büzüldüğü, bazı alveol lümenlerinin döküntü hücrelerle dolduğu ve bu hücrelerin oldukça yoğun immünreaktivite gösterdiği ayırdediliyordu. Bazı alveol lümenlerinde kan hücrelerinin varlığı ve bunların AT₁ ile kuvvetle pozitif reaksiyon verdikleri gözlemleniyordu (Resim 8).

Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan grupta; genel yapı siklofosfamid uygulanmış gruba karşı daha çok korunmuştu. Tip 1 alveol hücrelerinde zayıf; bazı tip 2 alveol hücrelerinde orta kuvvette ancak alveoller makrofajlarda kuvvetli immünreaktivite gözlemlendi (Resim 9). Alveol yapısı korunmuş, duvarlar genelde normaldi. Aynı gruba ait bronkiolus kesitlerinde ise epitel hücrelerinde, bazı bağ doku hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde tutulum orta dereceliydi (Resim 10).

Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan grupta alveoler yapı siklofosfamid uygulanan gruba karşı biraz daha normal olmakla birlikte; immünreaktivitenin tüm bronkiolus ve alveol epitelinde oldukça kuvvetli olduğu ayırt ediliyordu (Resim 11).

Siklofosfamid ve selenyum uygulanan grupta, alveoler yapının biraz daha korunmasına karşı yine bronkiolus epitelinde, alveollerde, alveol ve damar duvarlarında kuvvetli AT₁ boyanması gözlemlendi. Yine bazı kan hücrelerinin bağ dokuya infiltrasyonu dikkat çekiciydi (Resim 12).

Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta, genel yapı bozuktu. Alveol duvarı ve bağ dokuda; AT₁ boyanma yoğunluğu sadece siklofosfamid uygulanmış gruptan daha az buna karşı, siklofosfamid ve tek bir antioksidan uygulanan gruplardan daha fazlaydı (Resim 13).

Kontrol grubuna ait Kaspaz-8 immünboyamasında, bronkus epitel hücrelerinde, çok ender hücrenin tutulum gösterdiği ayırt edilirken bazılarında hiç tutulum olmadığı gözlemlendi (Resim 14). Yine alveol duvarında bazı hücrelerde, bağ ve kas dokusunda çok az immünreaktivite dikkat çekti (Resim 15).

Siklofosfamid uygulanan grupta yaygın tutulum tüm akciğer yapılarında gözleniyordu. Bronkiolus epitelinde kuvvetli; düz kas hücreleri ve bağ dokuda zayıftan ortaya değişen, alveol duvarında ve lenfosit yığınaklarında orta dereceli immünreaktivite ayırt ediliyordu (Resim 16,17).

Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan grupta; boyanmanın genelde kontrole eşdeş olduğu gözlemleniyordu (Resim 18,19). Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan grupta ise Kaspaz-8 boyanmasının yalnızca siklofosfamid uygulanan grupla karşılaştırıldığında biraz daha az olduğu ilgiyi çekiyordu (Resim 20,21).

Siklofosfamid ve selenyum uygulanan grupta ise boyanmanın; yalnızca siklofosfamid uygulanmış gruba benzer olduğu gözleniyordu (Resim 22,23). Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta ise Kaspaz-8 tutulumunun yaygın olduğu belirlendi (Resim 24,25).

Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinde, Kaspaz-9 tutulumu bazı epitel hücreleri, düz kas hücreleri, alveoller ve damar duvarı endotelinde orta dereceliydi (Resim 26,27). Diğer tüm gruplara karşın Kaspaz-9 immünreaktivitesinin tüm uygulamalardaki akciğer yapılarında oldukça kuvvetli olduğu ayırt edildi (Resim 28, 29,32,33,34,35,36). Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan grupta ise immünreaktivitenin daha az olduğu ilgi çekiciydi (Resim 30,31).

4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait akciğer dokusunda alveol duvarında tip 1 ve tip 2 alveoler hücreler, makrofajlar ve damarlar normal ince yapı sergiliyordu. Büyük büyültmelerde tip 1 alveol hücrelerine ait sitoplazmik yapının normal olduğu, organellerin korunduğu; tip 2 alveoler hücrelerde lamellar cisimlerin yaygınlığı, çekirdeğin normal yapıda olduğu ve bazal laminaların belirginliği ayırt ediliyordu (Resim 37,38).

Siklofosfamid uygulamasında alveol duvarında tip 1 hücre yapısının genelde korunmuş olduğu, buna karşın tip 2 alveoler hücrelerin sitoplazmalarında, mitokondriyonlarda vakuolleşme ve kristolizisin yaygın olduğu, lamellar cisimlerin vakuoler yapıya dönüştüğü ve lamellar düzenin bozulduğu ilgiyi çekiyordu (Resim 39,40). Bazı tip 2 alveoler hücrelerin ise apoptozise gittiği, alveoler lümenin yer yer kaybolduğu dikkati çekerken bağ dokusunda yaygın fibrozis gözlemleniyordu (Resim 41).

Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan grupta, fibrozisin biraz daha az düzeyde olduğu, mitokondriyal yapının daha düzgün olduğu ancak çekirdek zarında yer yer görülen açılma ve lamellar cisimlerdeki defektlerin halen sürdüğü izleniyordu (Resim 42,43).

Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan grupta ince yapı genelde siklofosfamid grubunun ince yapısına benziyordu (Resim 44,45). Selenyumun ise ince yapı düzeyinde olumlu bir etkisinin olmadığı gözlemlendi (Resim 46,47). Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta yapı yine siklofosfamid grubuna eşdeşti (Resim 48,49).

4.3. İstatistiksel Bulgular

Çalışmamızda istatistiksel olarak deney grupları arasında PCNA, AT₁, kaspaz-8 ve kaspaz-9 tutulumlarının H-skorları karşılaştırılarak boyanma şiddetine göre bir fark gösterip göstermedikleri değerlendirildi. Çalışmamızda yer alan gruplar analiz aşamasında sırasıyla: Kontrol grubu; Grup I, siklofosfamid uygulaması yapılan deney grubu; Grup II, siklofosfamid ve α -tokoferol uygulaması yapılan deney grubu; Grup III, siklofosfamid ve askorbik asit uygulaması yapılan deney grubu; Grup IV, siklofosfamid ve selenyum uygulaması yapılan deney grubu; Grup V ve siklofosfamid ile birlikte her üç antioksidanın uygulandığı grup ise Grup VI, olarak isimlendirildi.

Yapılan ölçüm ve değerlendirmeler sonucunda; H skor değerlerinin immünohistokimyasal bulguları desteklediği saptandı (Tablo 1,2, Şekil 1,2,3,4) ($p < 0.05$).

Kruskal-Wallis testi verilerine göre PCNA antikoru ile yapılan değerlendirmede; gruplar arasında PCNA yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.001$). Grup I'in PCNA düzeyi sırasıyla; Grup II, IV, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$). Ayrıca, Grup III'ün PCNA düzeyi sırasıyla; Grup II, IV, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$). Diğer olası tüm ikili grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (Şekil 1) ($p > 0,05$).

Gruplar arasında AT₁ antikoru yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.001$). Grup I'in AT₁ düzeyi sırasıyla; Grup II ve VI'ya göre

istatistiksel anlamlı olarak daha düşük ($p<0.001$ ve $p=0.009$), Grup III ve Grup V'e göre ise istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0.006$ ve $p=0.041$). Grup II'nin AT₁ düzeyi sırasıyla; Grup III, IV ve V'e göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). Grup IV'ün AT₁ düzeyi sırasıyla; Grup III ve V'e göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek ($p<0.001$ ve $p=0.009$), Grup VI'ya göre ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p=0.041$). Ayrıca Grup VI'nın AT₁ düzeyi grup III ve Grup V'e göre anlamlı olarak daha yüksek idi (Şekil 2) ($p<0.001$ ve $p<0.001$).

Gruplar arasında kaspaz-8 antikoru yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$). Grup I'in kaspaz-8 düzeyi sırasıyla; Grup II, IV, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). Ayrıca, Grup III'ün kaspaz-8 düzeyi sırasıyla; Grup II, IV, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). Diğer olası tüm ikili grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (Şekil 3) ($p>0,05$).

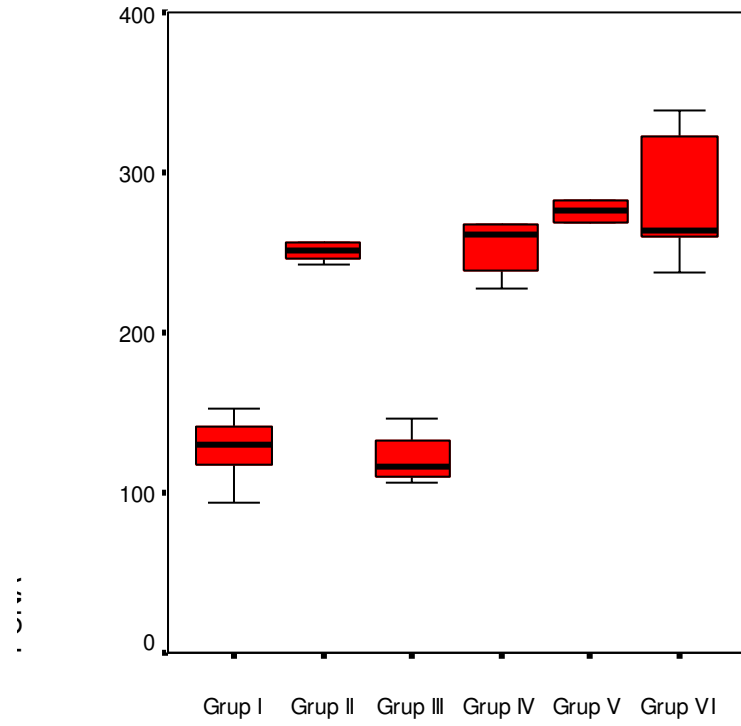
Kaspaz-9 antikoru ile yapılan değerlendirmede; Gruplar arasında kaspaz-9 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$). Grup I'in kaspaz-9 düzeyi sırasıyla; Grup II, IV, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.004$ ve $p<0.001$). Grup II'nin kaspaz-9 düzeyi sırasıyla; III, V ve VI'ya göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p<0.001$, $p<0.001$, ve $p=0.019$). Grup III kaspaz-9 düzeyi; Grup IV ve VI'ya göre ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Grup IV'ün kaspaz-9 düzeyi sırasıyla; Grup V'e göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi (Şekil 4) ($p=0.012$).

Tablo 1: Tüm gruplar için antikorlara ait tanımlayıcı istatistiksel median (25-75) değerleri

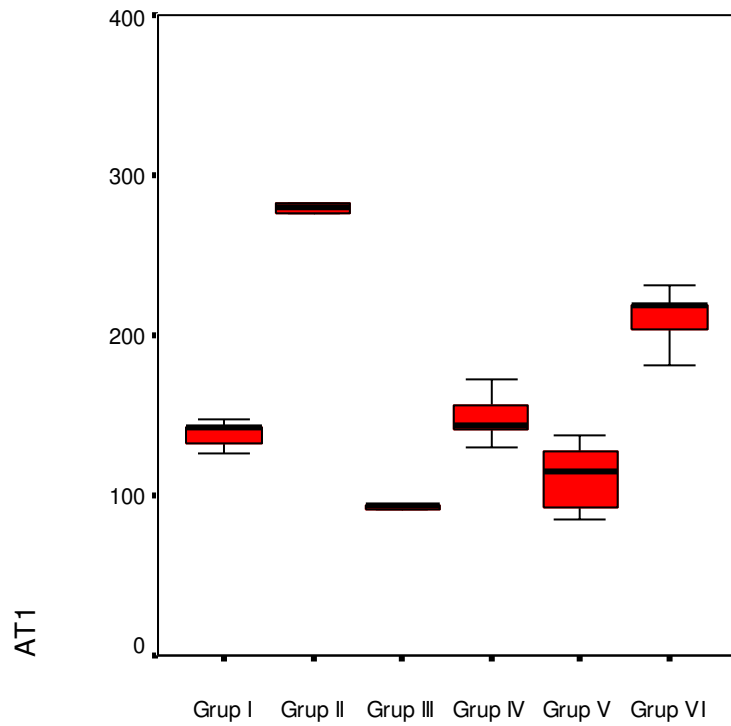
Descriptives							
GRUPLAR		Statistic					
		Mean	Std. Deviation	Median	Interquartile Range	Minimum	Maximum
PCNA	1,00	127,1600	22,63643	129,6000	41,3000	94,20	152,80
	2,00	268,9600	44,92269	251,2000	58,0000	242,40	348,80
	3,00	122,2800	16,57564	115,8000	30,6000	106,80	146,40
	4,00	264,4800	38,35247	261,6000	64,0000	227,20	326,40
	5,00	278,4800	24,61934	276,8000	40,6000	248,40	316,00
	6,00	284,4800	43,47910	264,0000	81,6000	237,60	338,40
AT1	1,00	138,2400	8,65956	142,8000	15,6000	126,00	147,00
	2,00	286,7200	27,42028	280,0000	39,2000	261,60	333,60
	3,00	94,9200	5,40666	93,6000	7,5000	91,20	104,40
	4,00	148,6400	16,45746	144,0000	29,2000	129,60	172,80
	5,00	111,2000	22,52110	114,4000	44,0000	84,80	137,60
	6,00	210,5600	19,37751	218,4000	33,2000	180,80	231,20
KASPAZ8	1,00	38,5000	5,54527	37,0000	10,7500	32,00	44,50
	2,00	179,2500	38,72499	182,2500	70,5000	120,75	215,25
	3,00	51,4000	8,01093	55,5000	15,2500	42,00	59,00
	4,00	162,9000	14,65286	162,7500	28,8750	145,50	179,25
	5,00	172,0500	27,47806	174,7500	51,7500	135,00	204,75
	6,00	160,9500	19,54754	169,5000	34,8750	132,75	182,25
KASPAZ9	1,00	75,4800	4,47795	76,2000	7,8000	68,40	79,80
	2,00	255,6800	29,96852	261,6000	53,2000	208,80	283,20
	3,00	88,8000	12,26703	87,6000	21,0000	75,60	108,00
	4,00	213,1200	27,92332	232,0000	50,4000	175,20	235,20
	5,00	146,8800	20,93495	143,2000	35,6000	124,80	180,00
	6,00	192,0000	25,38661	201,6000	43,2000	151,20	215,20

Tablo 2: Tüm gruplar için antikorlara ait tanımlayıcı istatistiksel persentil değerleri

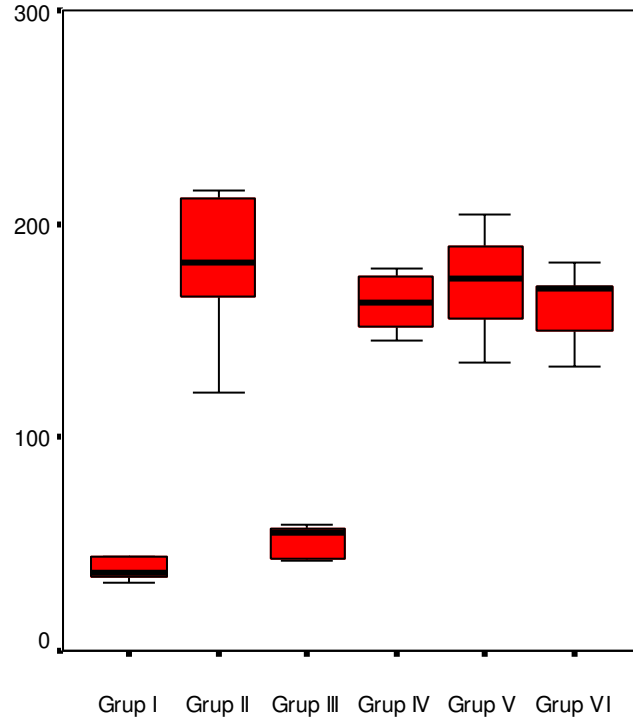
Percentiles				
GRUPLAR		Tukey's Hinges		
		Percentiles		
		25	50	75
PCNA	1,00	117,6000	129,6000	141,6000
	2,00	246,4000	251,2000	256,0000
	3,00	110,4000	115,8000	132,0000
	4,00	239,2000	261,6000	268,0000
	5,00	268,8000	276,8000	282,4000
	6,00	260,0000	264,0000	322,4000
AT1	1,00	132,6000	142,8000	142,8000
	2,00	276,0000	280,0000	282,4000
	3,00	91,8000	93,6000	93,6000
	4,00	140,8000	144,0000	156,0000
	5,00	92,0000	114,4000	127,2000
	6,00	203,2000	218,4000	219,2000
KASPAZ8	1,00	35,0000	37,0000	44,0000
	2,00	165,7500	182,2500	212,2500
	3,00	43,5000	55,5000	57,0000
	4,00	151,5000	162,7500	175,5000
	5,00	156,0000	174,7500	189,7500
	6,00	150,0000	169,5000	170,2500
KASPAZ9	1,00	74,4000	76,2000	78,6000
	2,00	246,4000	261,6000	278,4000
	3,00	81,6000	87,6000	91,2000
	4,00	191,2000	232,0000	232,0000
	5,00	135,2000	143,2000	151,2000
	6,00	184,8000	201,6000	207,2000



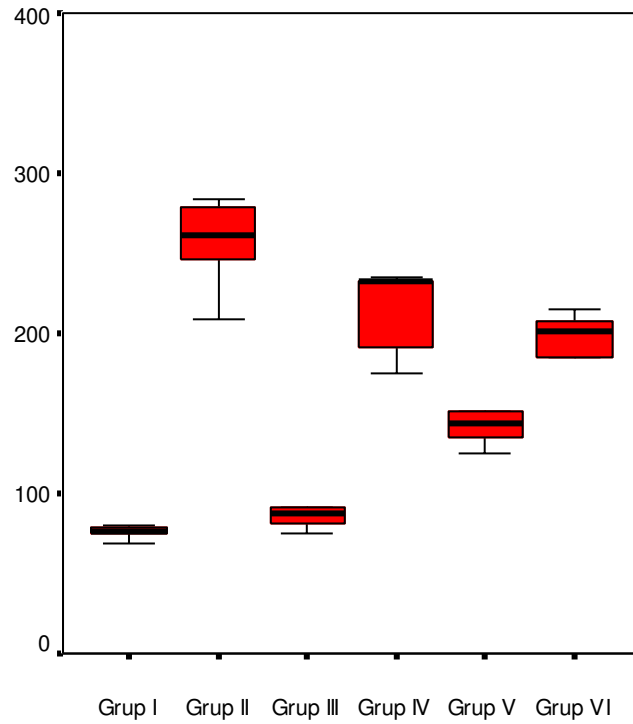
Şekil 1: Gruplar arasındaki PCNA antikorü immünreaktivitesi karşılaştırması



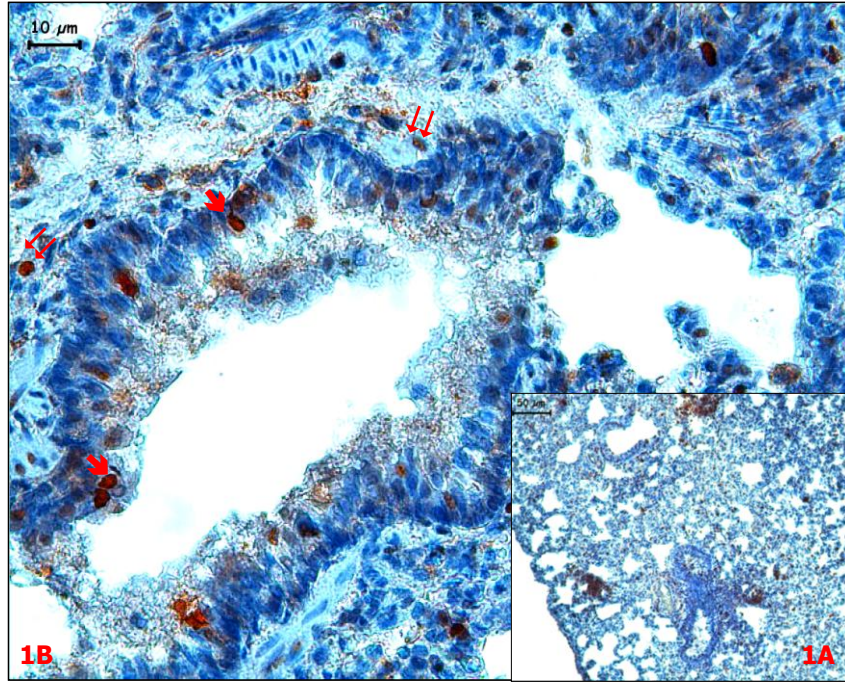
Şekil 2: Gruplar arasındaki AT₁ antikorü immünreaktivitesi karşılaştırması

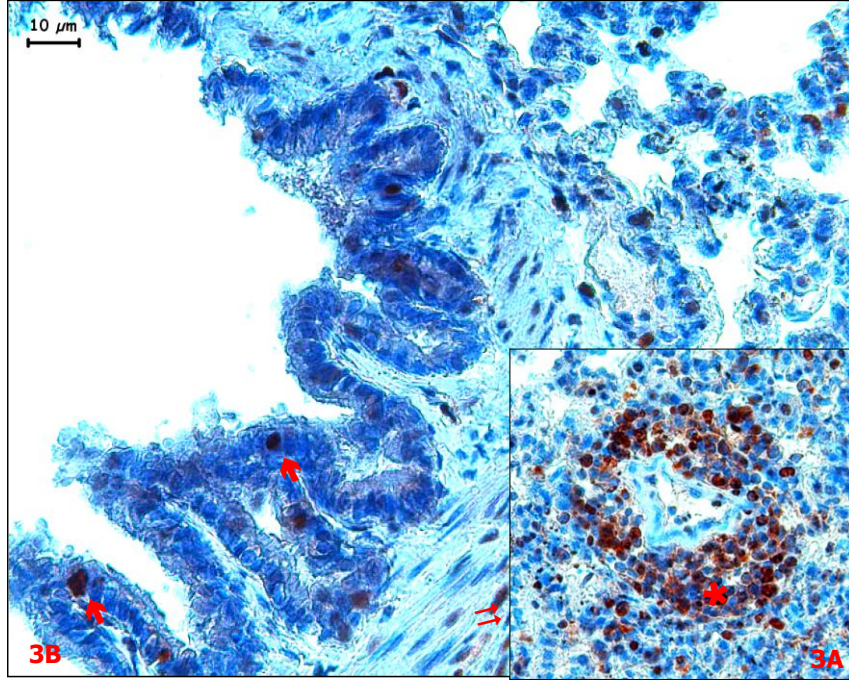


Şekil 3: Gruplar arasındaki kaspaz-8 antikor immunreaktivitesi karşılaştırması

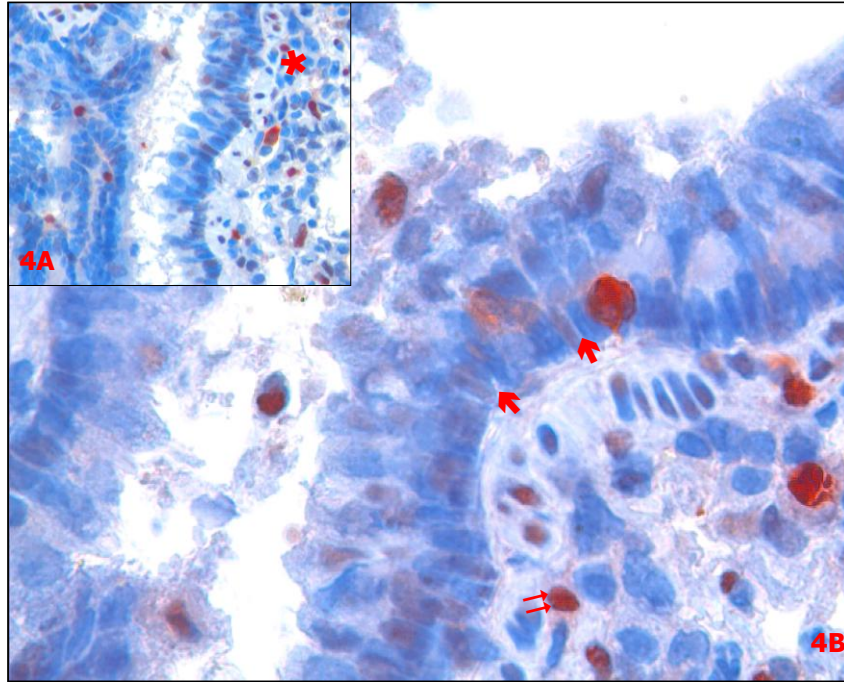


Şekil 4: Gruplar arasındaki kaspaz-9 antikor immunreaktivitesi karşılaştırması

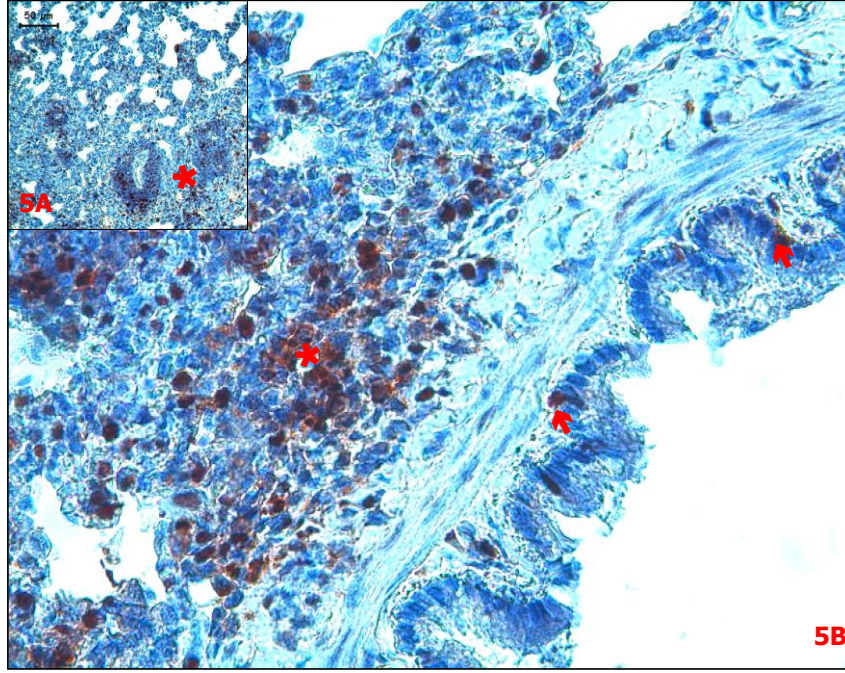




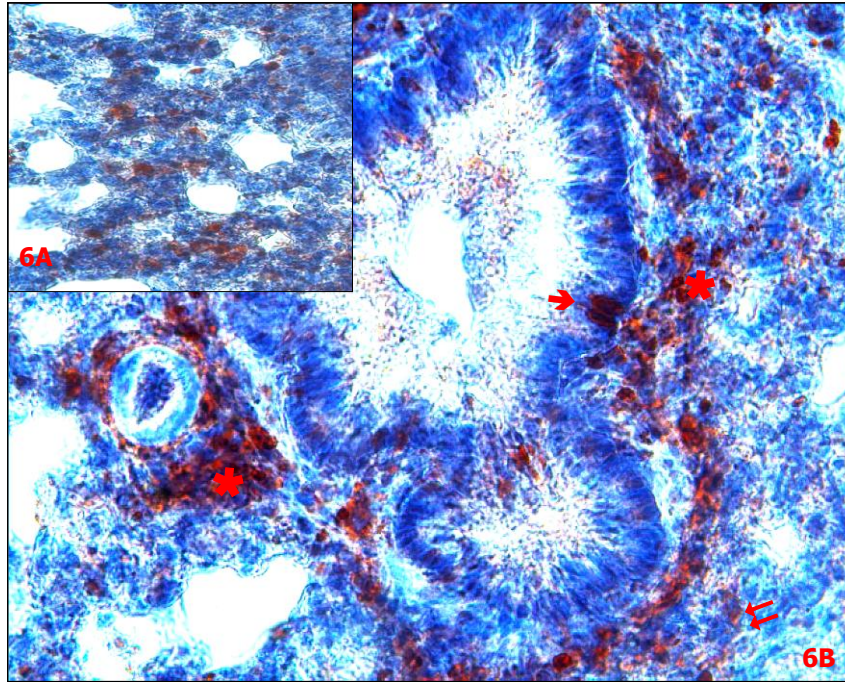
Resim 3: PCNA primer antikorı ile yapılan işaretlemede, Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, lenfosit hücre grupları (★) (3Ax100), bronkiolus epitel hücre çekirdekleri (➔), bağ dokuda bulunan bazı hücre çekirdekleri (⇔) görülüyor (3Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



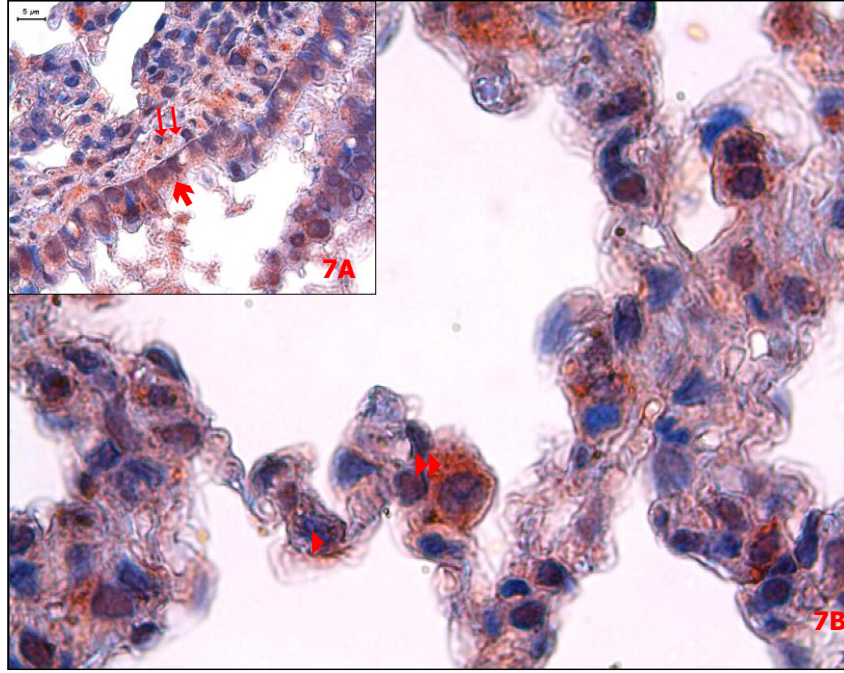
Resim 4: PCNA boyaması yapılan Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, lenfosit hücre grupları (★) (4Ax400), bronkiolus epitel hücre çekirdekleri (➔), bağ dokuda bulunan bazı hücre çekirdekleri (⇔) izleniyor (4Bx1000) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



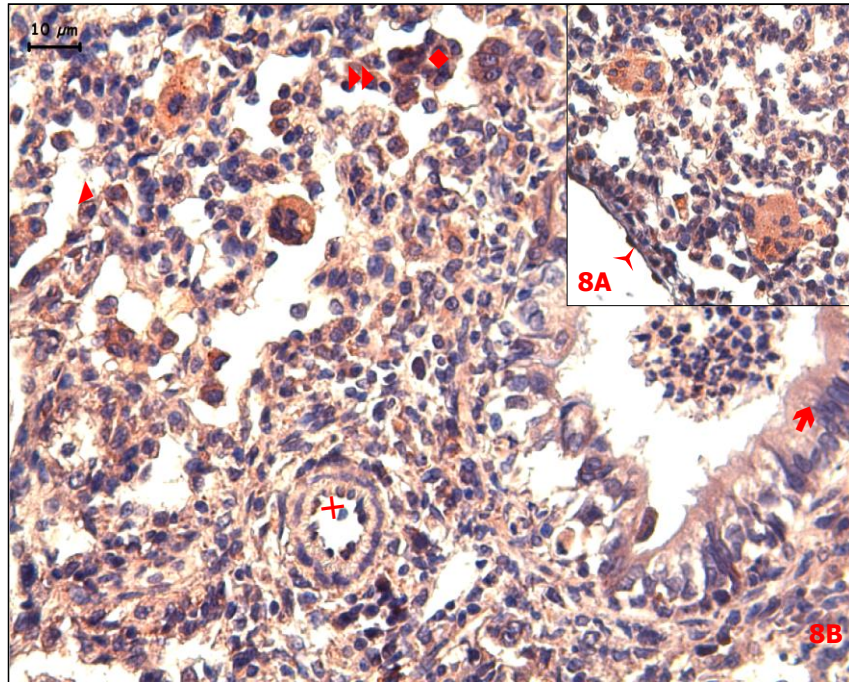
Resim 5: PCNA boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, lenfosit hücre grupları (★) (5A $\times$ 100), bronkiolus epitel hücre çekirdekleri (→) gözlemleniyor (5B $\times$ 100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



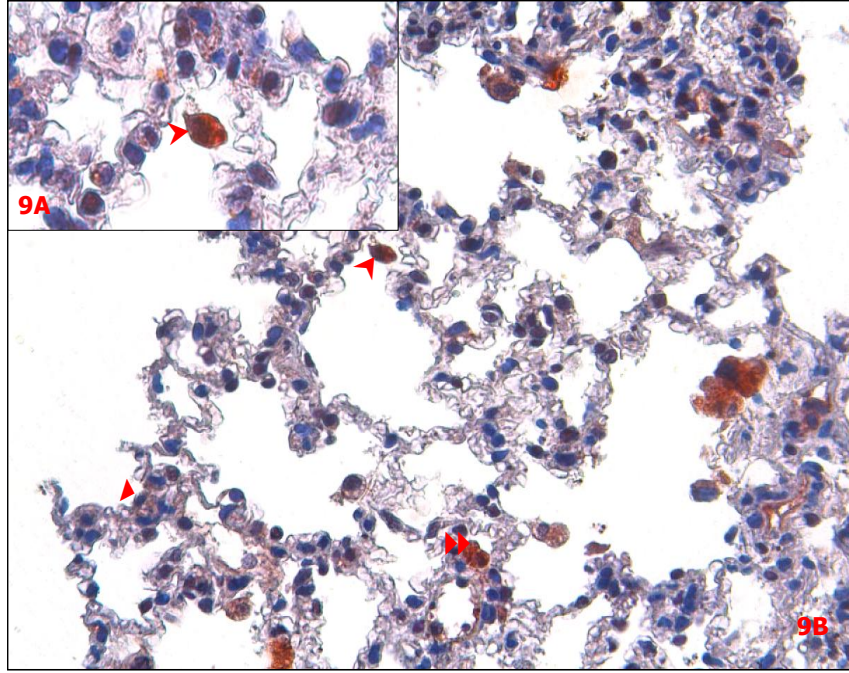
Resim 6: Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer kesitlerinde küçük büyültmeli resimde PCNA immünreaktivitesi gözleniyor (6A $\times$ 100). Bu grubun büyük büyültmeli incelemelerinde bronkiolus epitel hücre çekirdeklerinin (→), bağ dokuda bulunan bazı hücre çekirdeklerinin (★), lenfosit hücre gruplarının (★) oldukça kuvvetli PCNA tutulumu gösterdikleri ayırt ediliyor (6B $\times$ 400) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



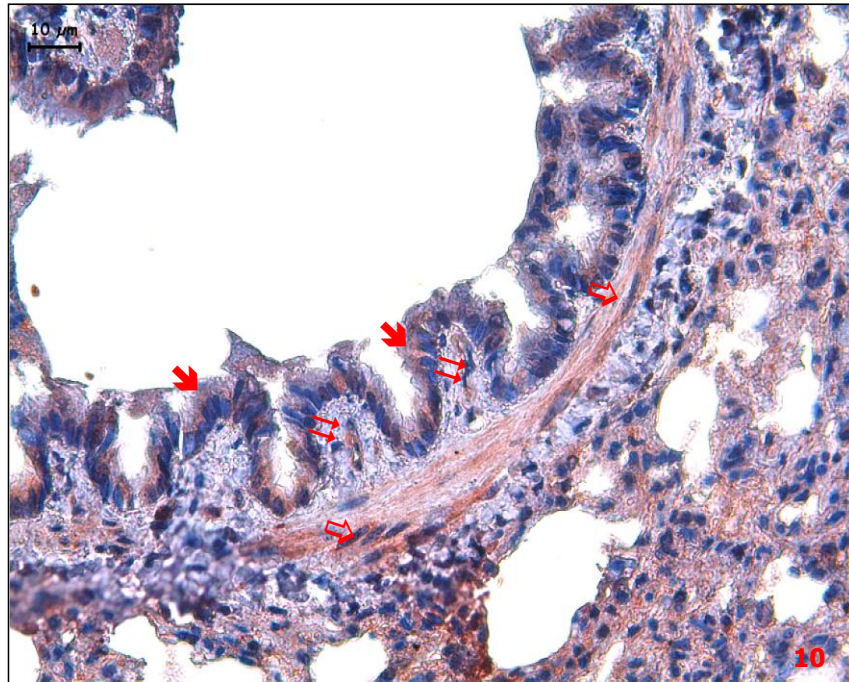
Resim 7: Kontrol grubunda AT₁ primer antikoru ile yapılan değerlendirmede, bronkiolus epitel hücrelerinde (→), bağ dokuda bulunan bazı hücrelerde (⇨) (7Ax400), tip 1 alveoler (▶) ve tip 2 alveoler hücrelerinde (▶▶) belirgin tutulum izleniyor (7Bx1000) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



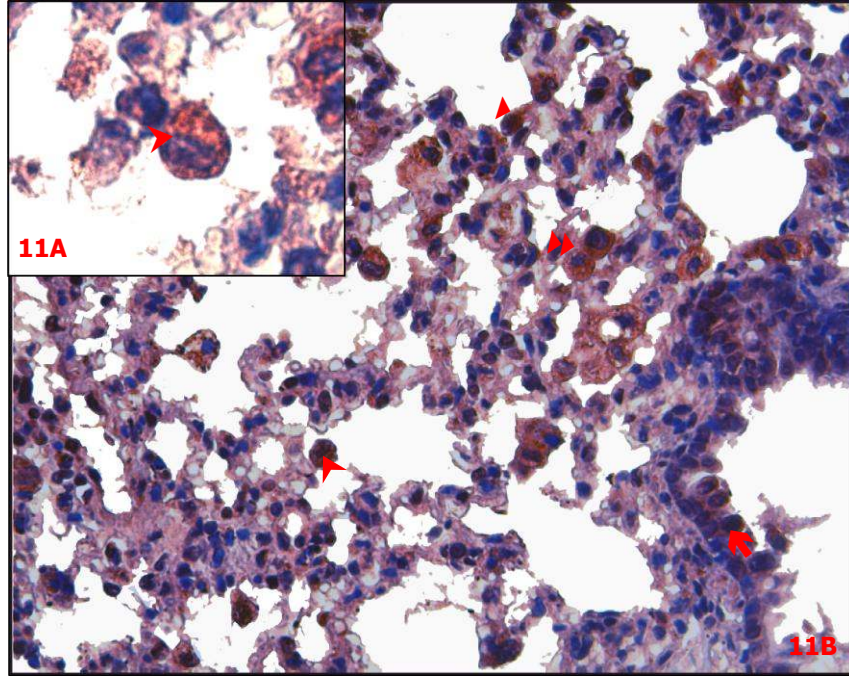
Resim 8: Siklofosfamid uygulanan grupta akciğer kesitlerinde küçük büyültmeli resimde visseral plevra (▲) (8Ax100), büyük büyültmeli resimde bronkiolus epitel hücreleri (→→), tip 1 alveoler (▶) ve tip 2 alveoler hücrelerinde (▶▶), alveol lümeni (◆) ve damar endotelinde (+) kuvvetli AT₁ immünreaktivitesi dikkati çekiyor (8Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



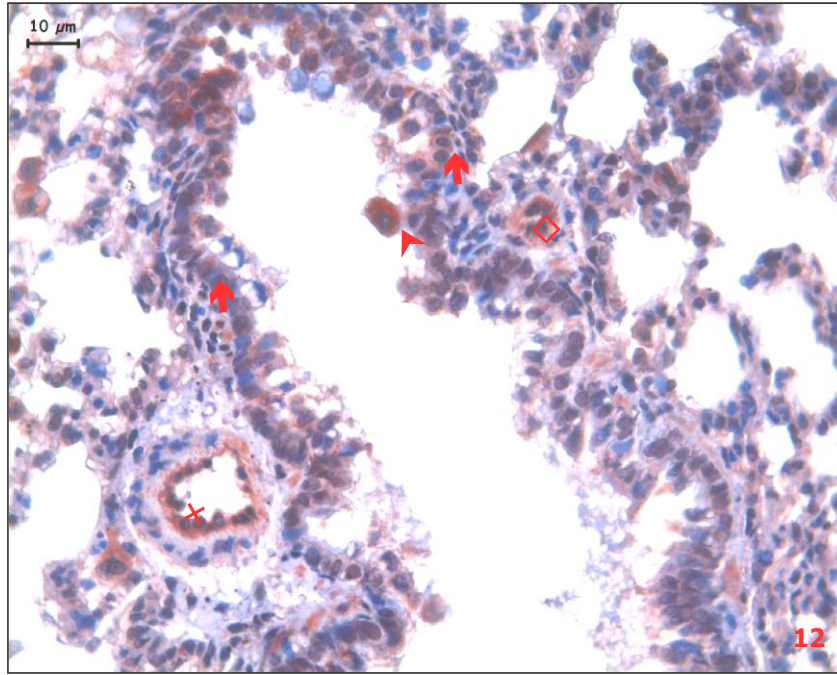
Resim 9: AT₁ primer antikoru ile yapılan işaretlemede Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, tip 1 alveoler (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶ ▶) (9Bx400) ve alveoler makrofajlar (▲) izleniyor (9Ax100, 9Bx400) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



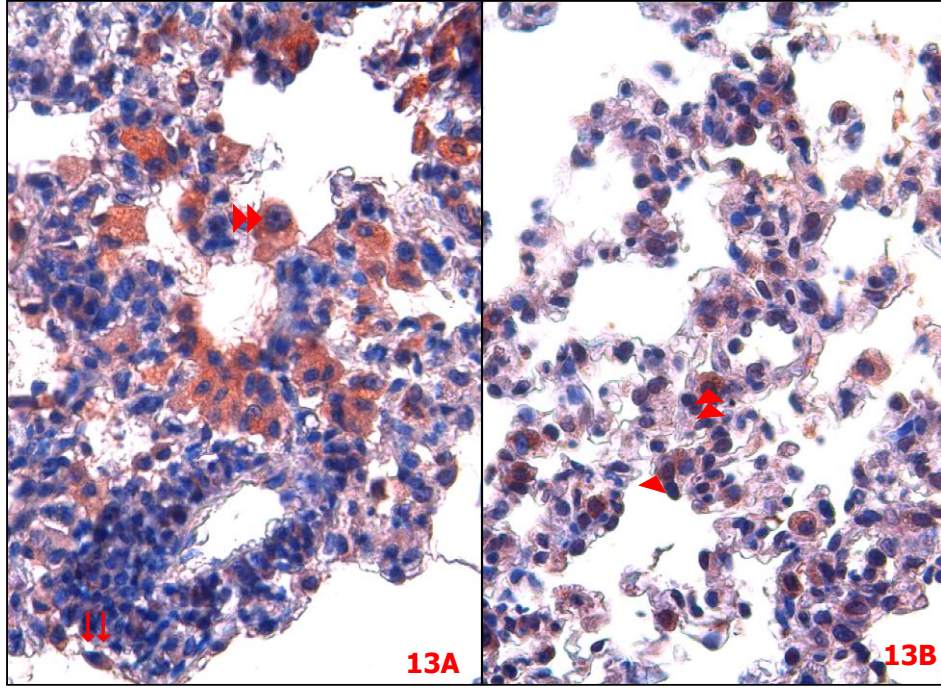
Resim 10: AT₁ boyaması yapılan Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesiti küçük büyültmesinde, bronkiolus epitel hücreleri (➡) ve bağ dokusunda bulunan bazı hücreler (⇔) görülüyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



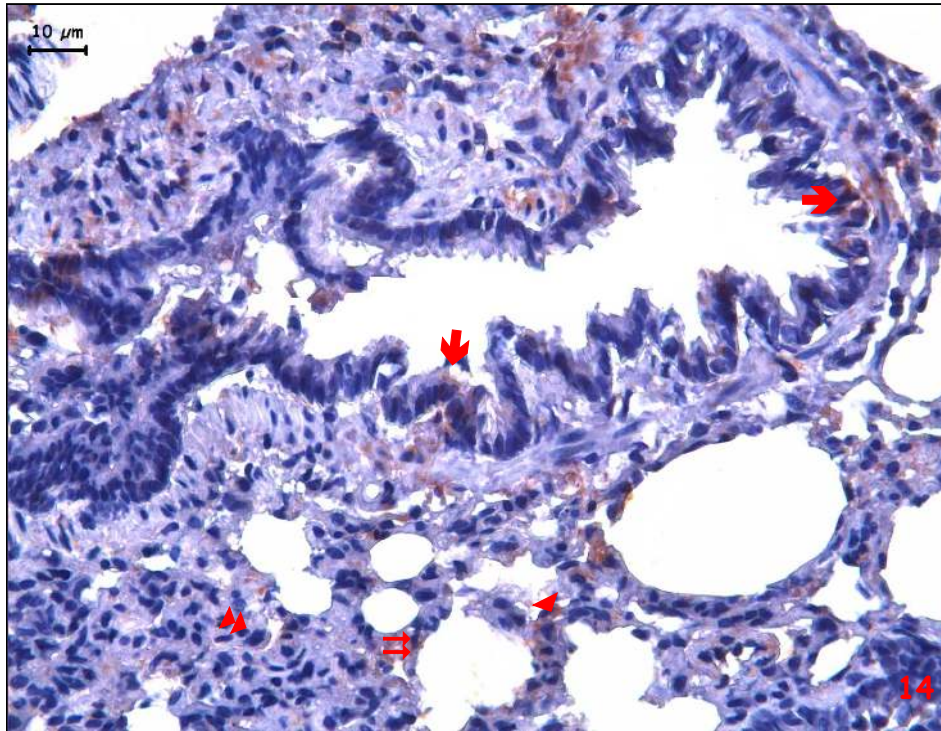
Resim 11: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, AT₁ immünreaktivitesi gösteren alveoler makrofajlar (▲) görülürken (11Ax1000), akciğer dokusunun panoramik görüntüsünde AT₁ tutulumu gösteren bronkiolus epitel hücreleri (➔), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreleri (▶▶) ayırt ediliyor (11Bx400) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



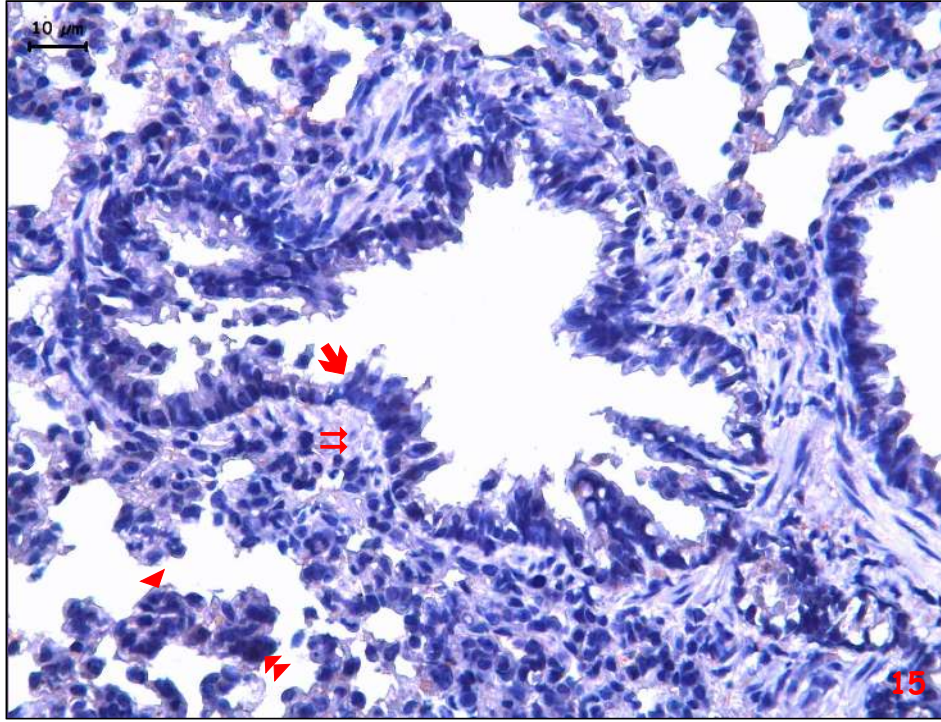
Resim 12: AT₁ boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), alveoler makrofaj (▲), damar endoteli (+), bağ dokuya infiltrate olan kan hücreleri (◇) görülüyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



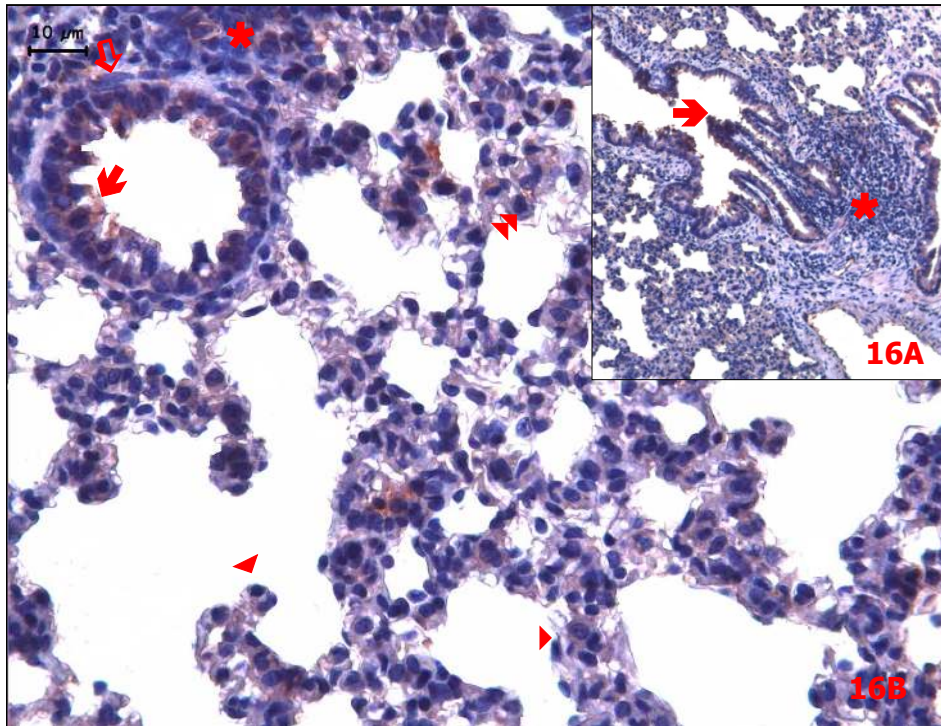
Resim 13: AT₁ primer antikoru ile yapılan immün boyamada Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer kesitlerinde, bağ doku hücreleri (↗), tip 2 (⇔) ve tip 1 alveoler hücreler (↗) izleniyor (13A, 13Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



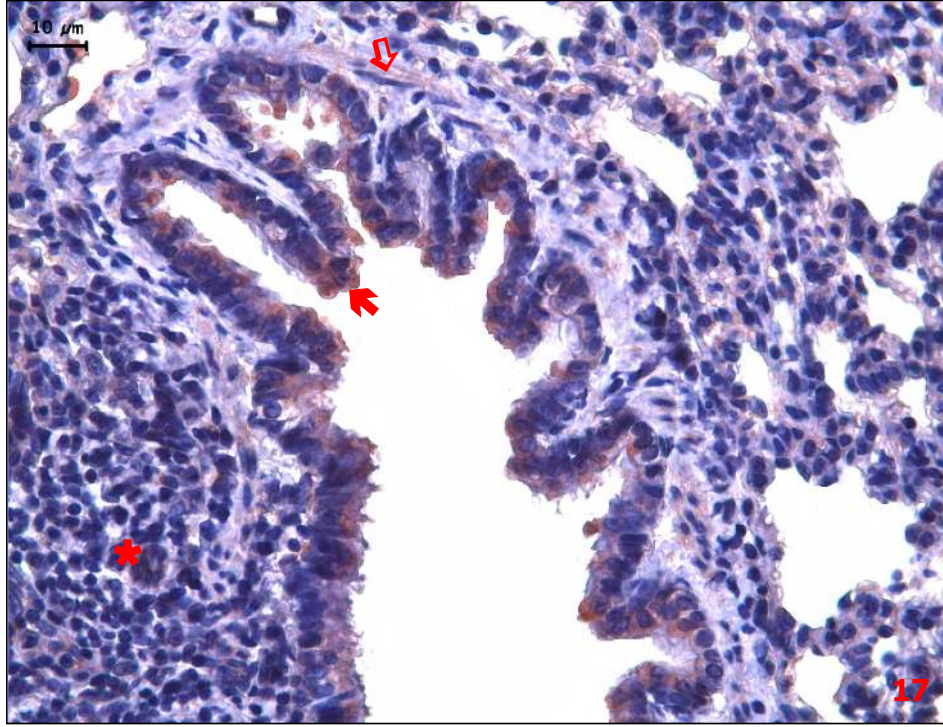
Resim 14: Kontrol grubunda Kaspaz-8 primer antikoru ile yapılan değerlendirmede, bronkiolus epitel hücreleri (↗), bağ dokuda bulunan bazı hücreler (⇔) ve tip 1 (↗) ve tip 2 alveoler hücrelerin (↗) çok az Kaspaz-8 immünreaktivitesi gösterdikleri dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilenx100).



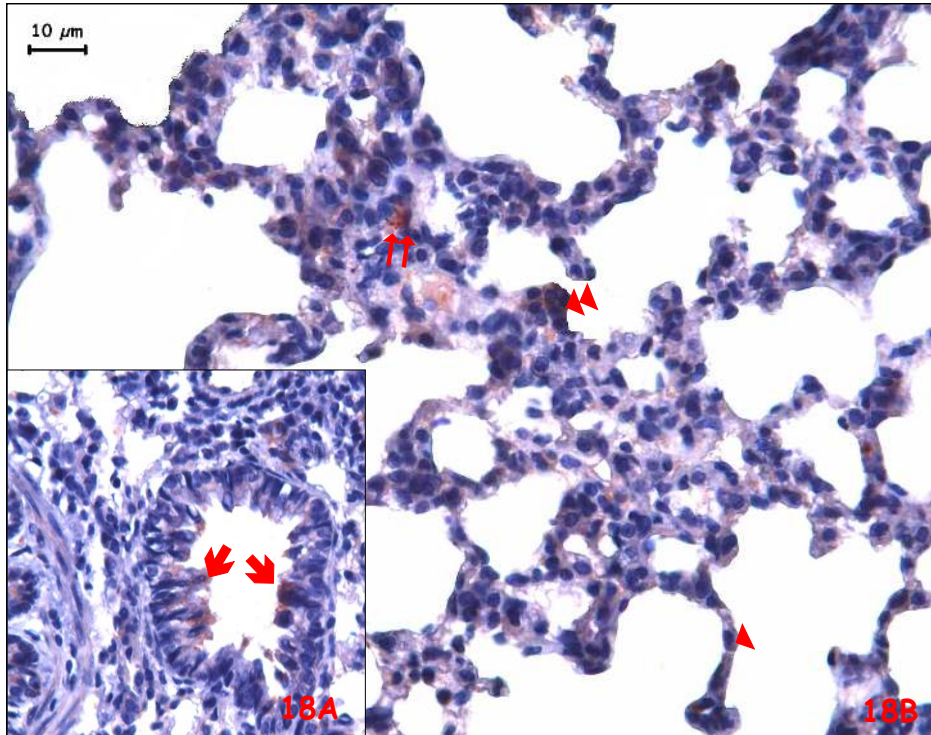
Resim 15: Kontrol grubunda Kaspaz-8 primer antikoru ile yapılan incelemede, küçük büyültmeli resimde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bağ dokuda bulunan bazı hücreler (⇔), tip 2 alveoler hücrelerin (▶▶) ve alveoler makrofajların (▲) çok az Kaspaz-8 tutulumu gösterdikleri izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



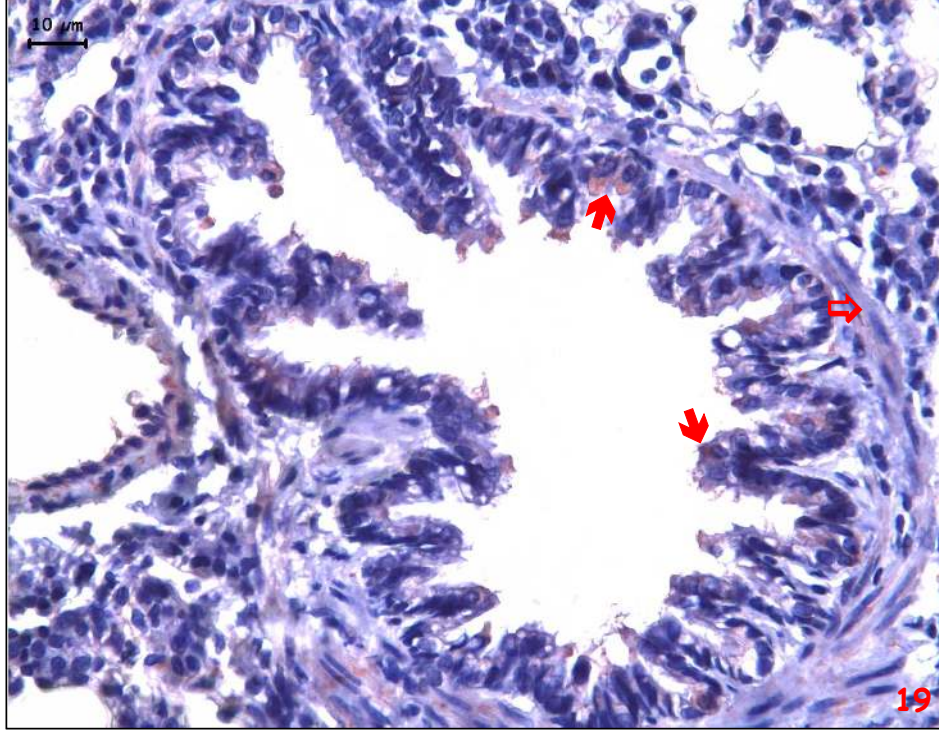
Resim 16: Siklofosfamid uygulanan grupta akciğer kesitlerinde, kaspaz-8 ile immünreaktivite gösteren bronkiolus epitel hücreleri (➔), lenfosit hücre grupları (★)(16Ax40, 16Bx100) görülürken, büyük büyültmeli resimde tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) ve bronkiolus düz kas hücreleri (⇔) ayırtediliyor (16Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



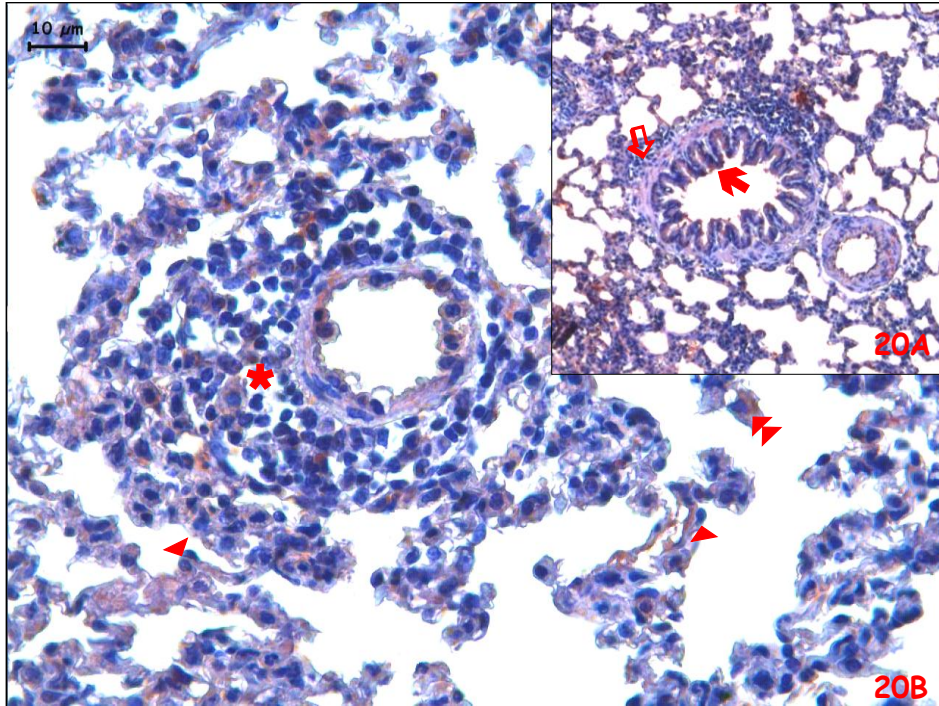
Resim 17: Siklofosfamid uygulanan grupta akciğer kesitlerinde, kaspaz-8 primer antikor tutulumu gösteren bronkiolus epitel hücreleri (➔), lenfosit hücre grupları (*) ve bronkiolus düz kas hücreleri (⇨) görülüyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilenx100).



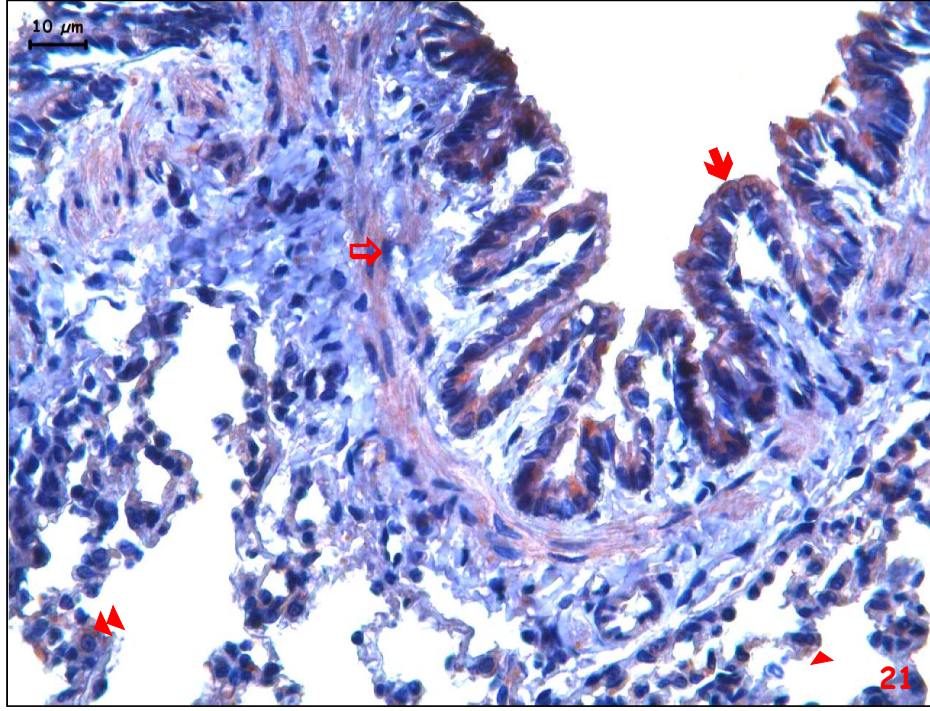
Resim 18: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔) (18Ax100) ,bağ doku hücreleri (⇨), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) görülüyor (18Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



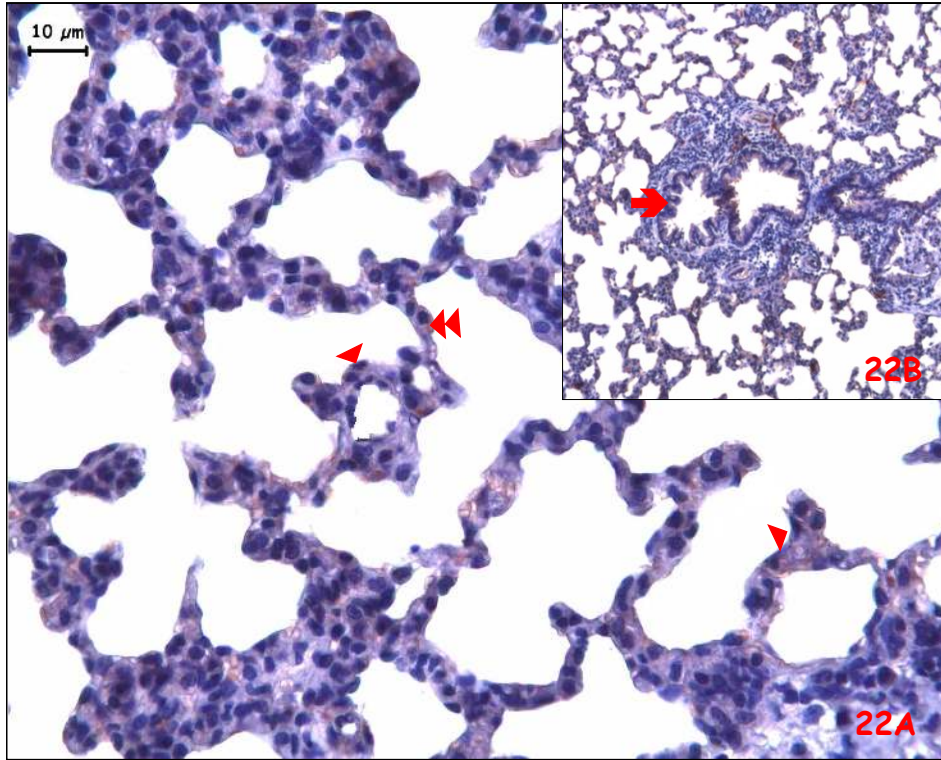
Resim 19: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bronkiolus düz kas hücreleri (⇨) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



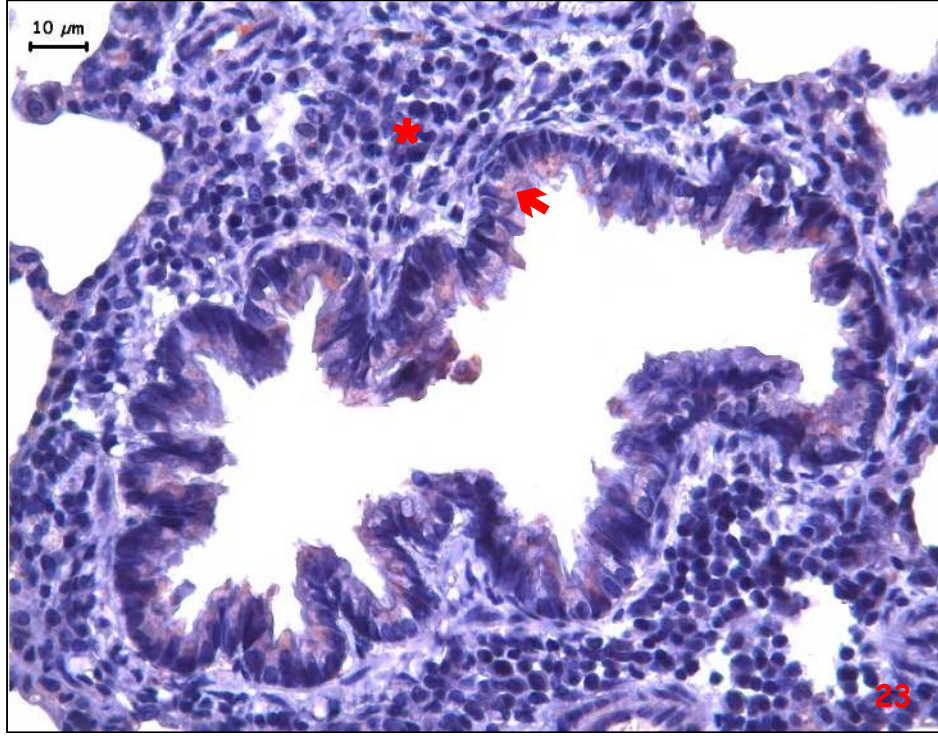
Resim 20: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bronkiolus düz kas hücreleri (⇨) (20Ax40), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) ve lenfosit hücre grupları (*) görülüyor (20Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



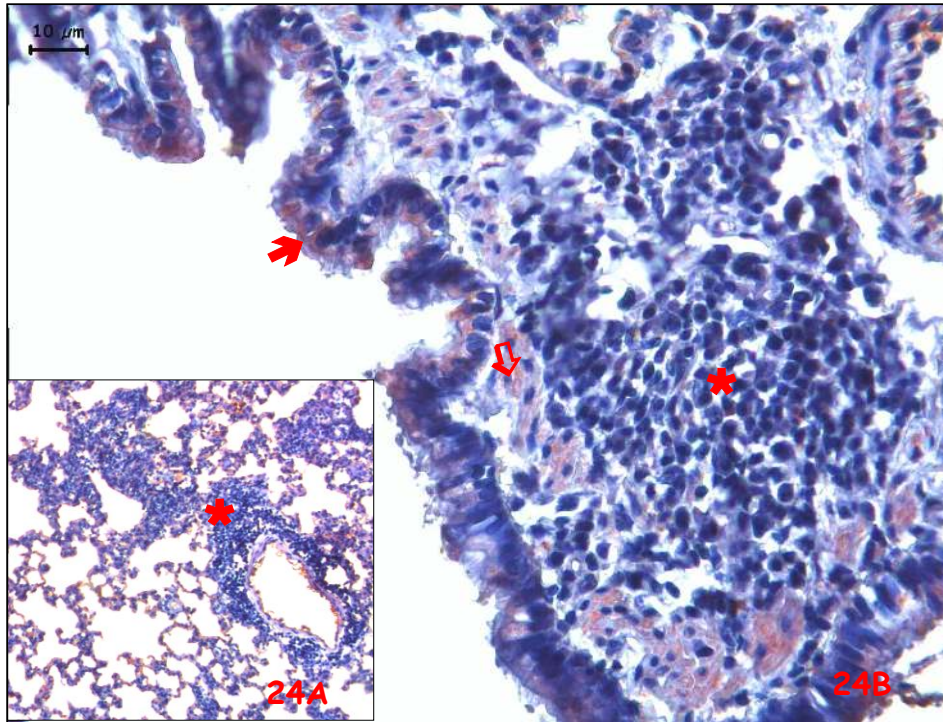
Resim 21: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bronkiolus düz kas hücreleri (⇔), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) ayırdediliyor (x100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



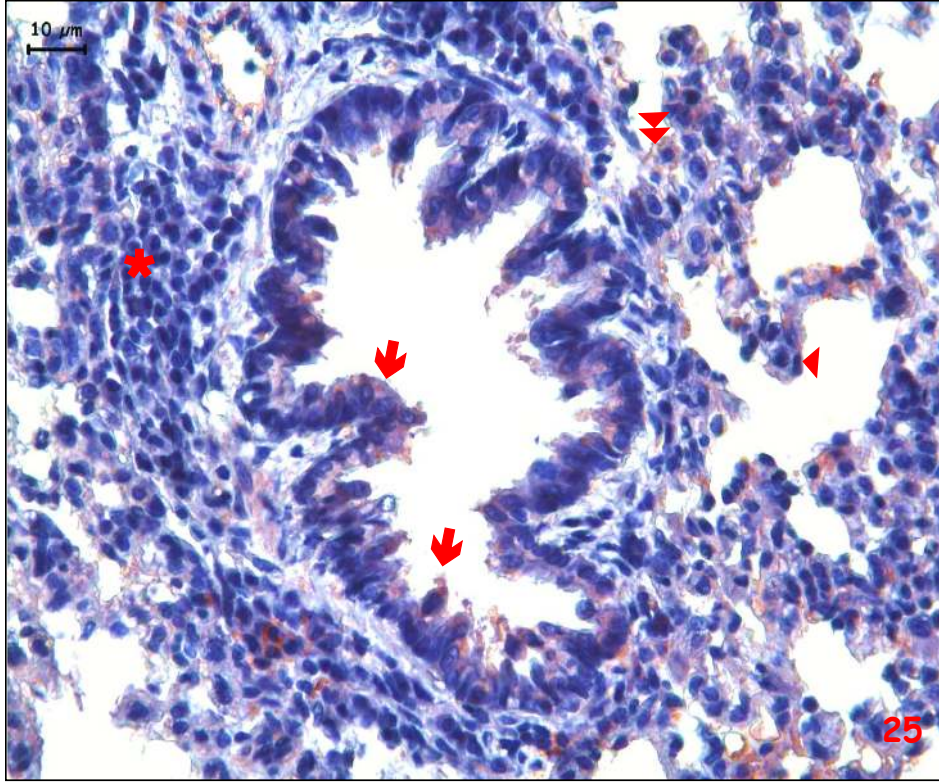
Resim 22: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔) (22Bx40), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) ayırdediliyor (22Ax100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



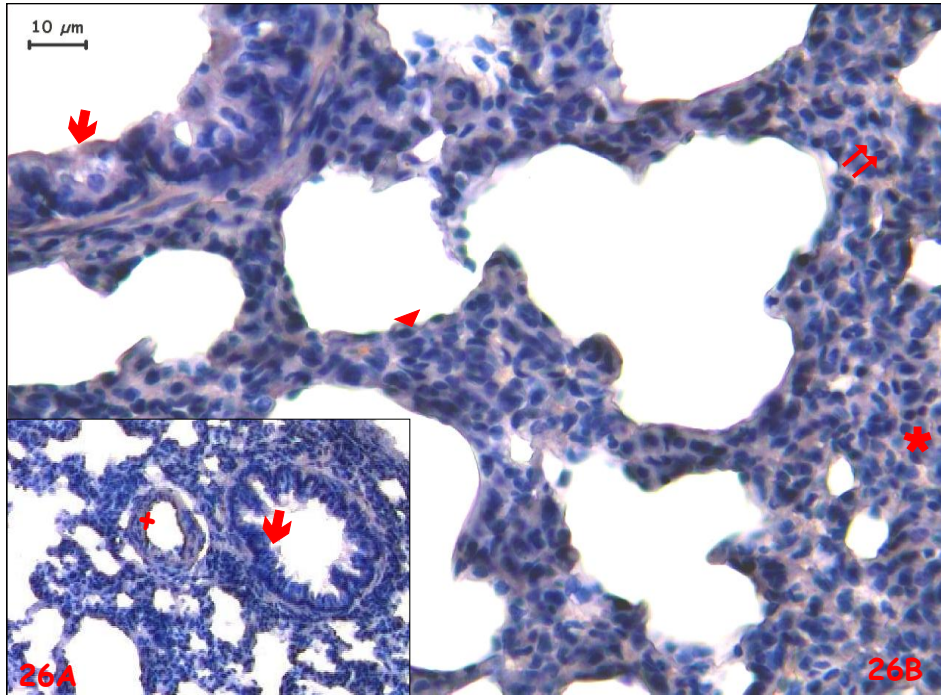
Resim 23: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔) ve lenfosit hücre grupları (*) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



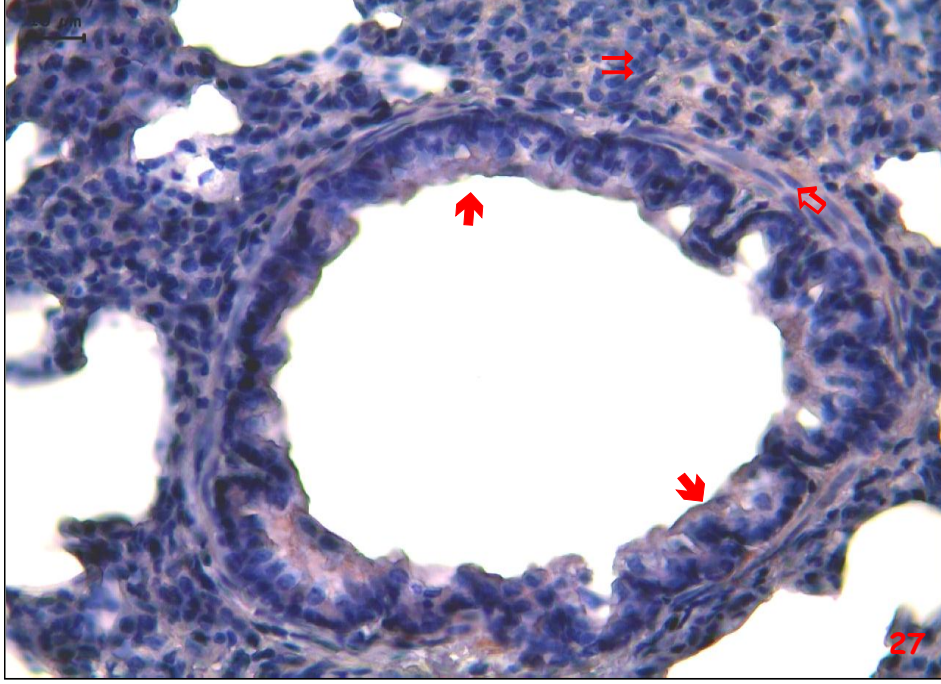
Resim 24: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer kesitlerinde, lenfosit hücre grupları (*) (24Ax40, 24Bx100), bronkiolus epitel hücreleri (➔) ve düz kas hücreleri (⇨) gözleniyor (24Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



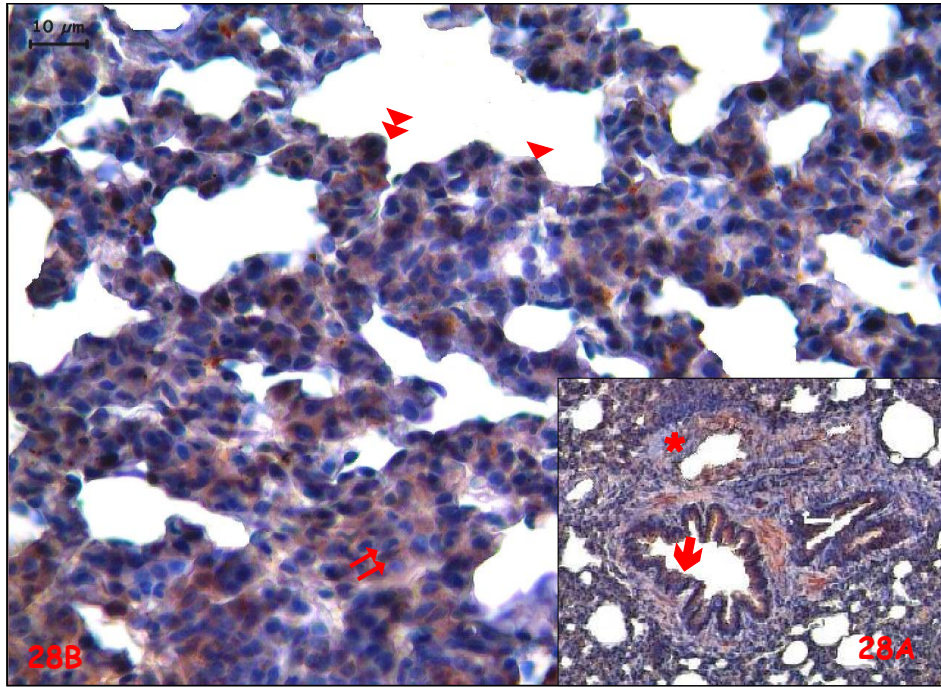
Resim 25: Kaspaz-8 boyaması yapılan Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer kesitlerinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), tip 1 (▸) ve tip 2 alveoler hücreler (▸ ▸) ve lenfosit hücre grupları (*) ayırdediliyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilenx100).



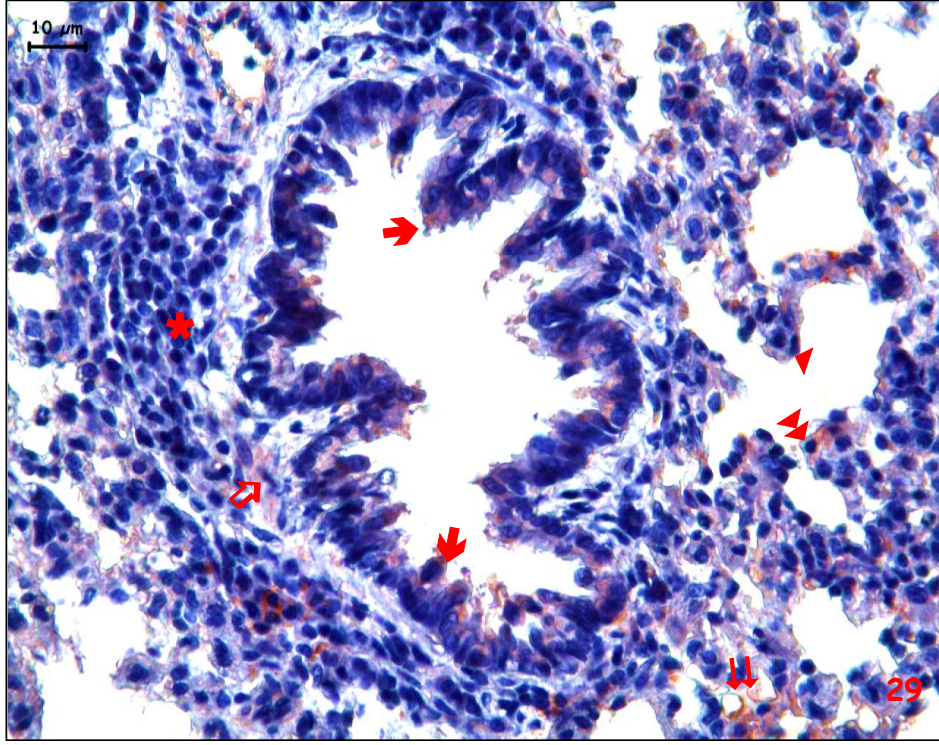
Resim 26: Kontrol grubunda Kaspaz-9 primer antikor ile yapılan değerlendirmede, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bağ doku hücreleri (⇌) ve damar endoteli (+), tip 1 alveol hücreleri (▸) ve lenfosit hücre gruplarında (*) orta dereceli tutulum izleniyor (26Ax40, 26Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



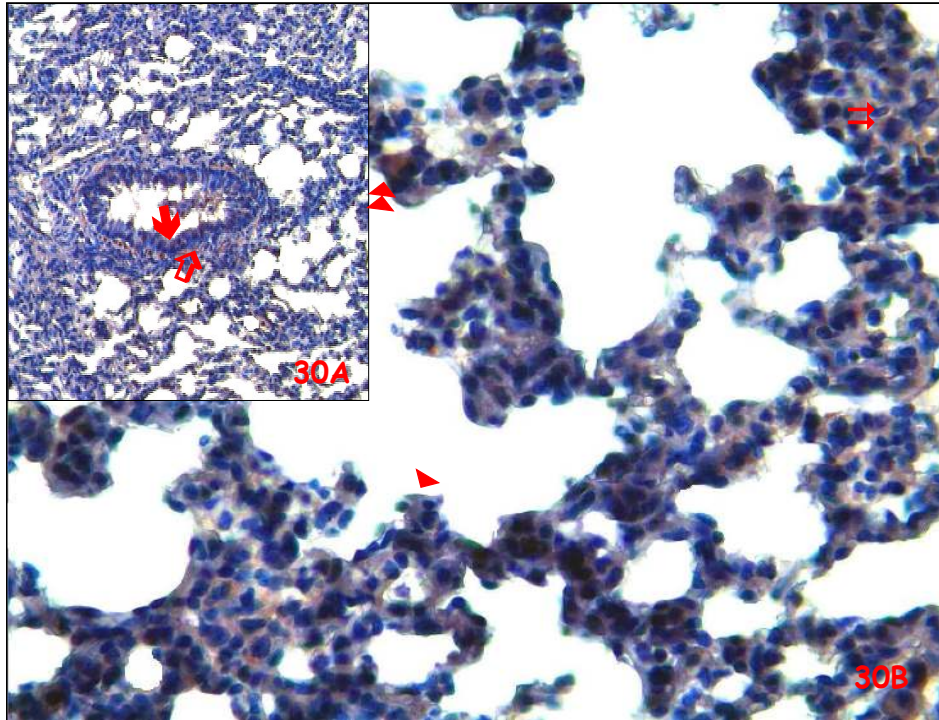
Resim 27: Kontrol grubunda Kaspaz-9 primer antikoru ile yapılan immünboyamada, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bağ doku hücreleri (⇔) ve bronkiolus düz kas hücreleri (⇨) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



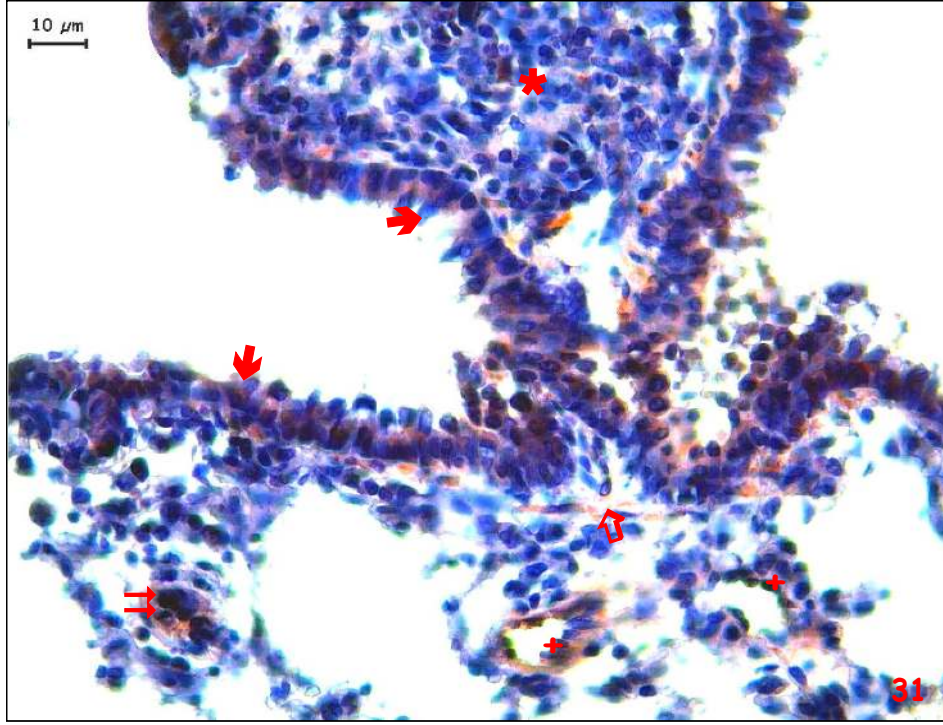
Resim 28: Siklofosfamid uygulanan grupta akciğer kesitlerinde, Kaspaz-9 immünreaktivitesi gösteren bronkiolus epitel hücreleri (➔), lenfosit hücre grupları (*) (28Ax40), bağ doku hücreleri (⇔), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreleri (▶▶) görülüyor (28Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



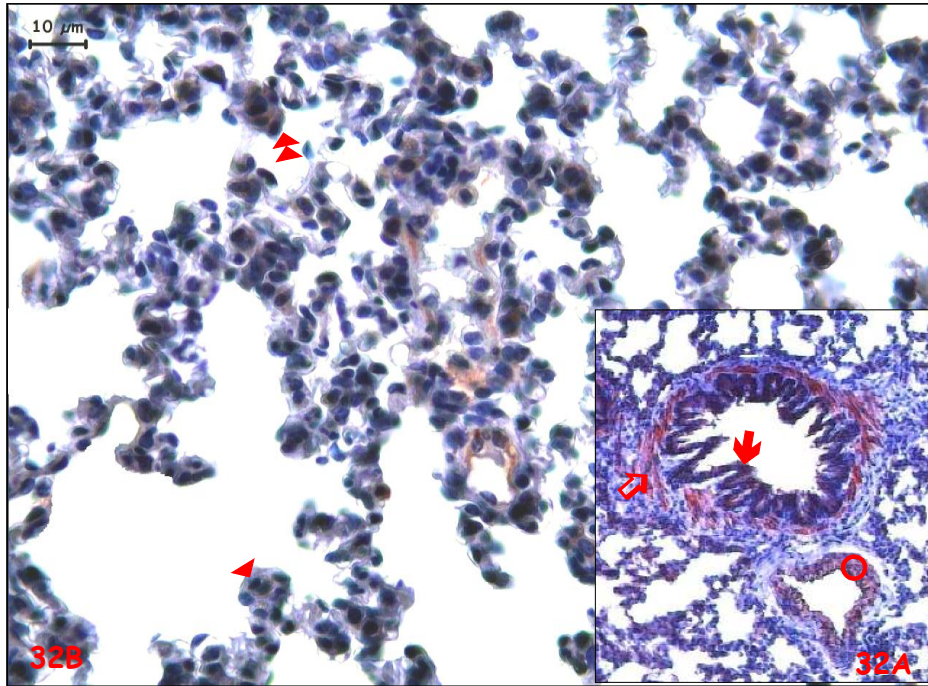
Resim 29: Siklofosfamid uygulanan grupta akciğer kesitlerinde, Kaspaz-9 tutulumu gösteren bronkiolus epitel hücreleri (→), lenfosit hücre grupları (*), bağ doku hücreleri (⇔), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) ve düz kas hücreleri (⇔) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilenx100).



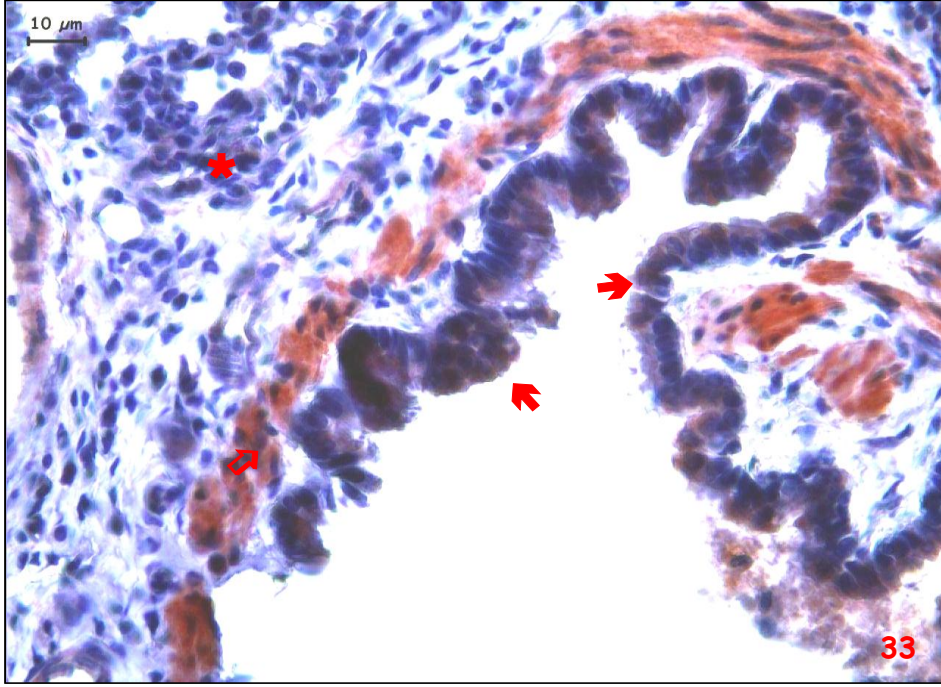
Resim 30: Kaspaz-9 boyaması yapılan Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (→), bronkiolus düz kas hücreleri (⇔) (30Ax40), bağ doku hücreleri (⇔), tip 1 (▶) ve tip 2 alveoler hücreler (▶▶) görülüyor (30Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



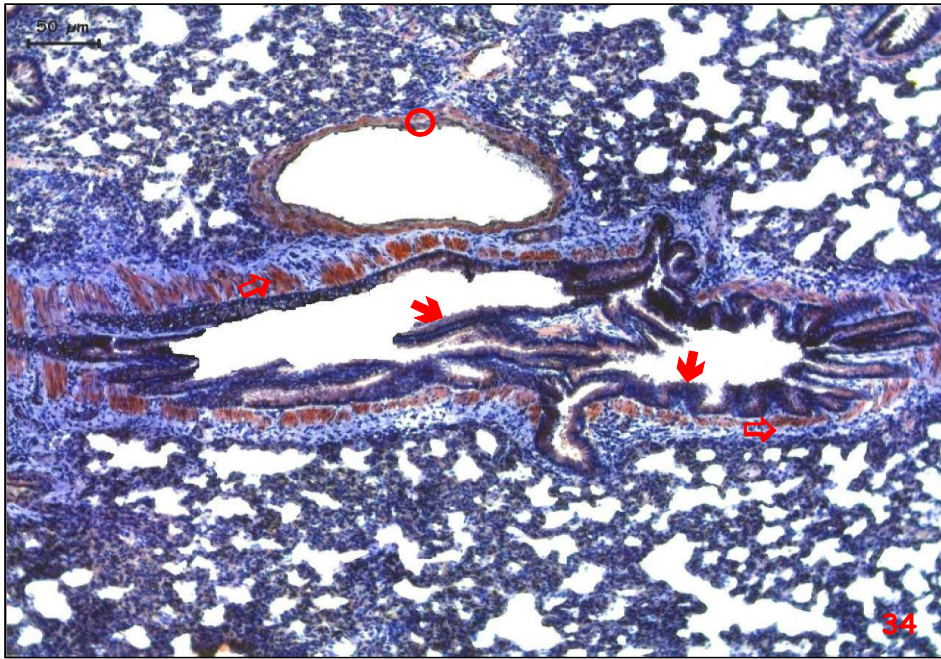
Resim 31: Kaspaz-9 boyaması yapılan Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), bronkiolus düz kas hücreleri (⇨), lenfosit hücre grupları (*), bağ doku hücreleri (⇨) ve damar endoteli (+) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



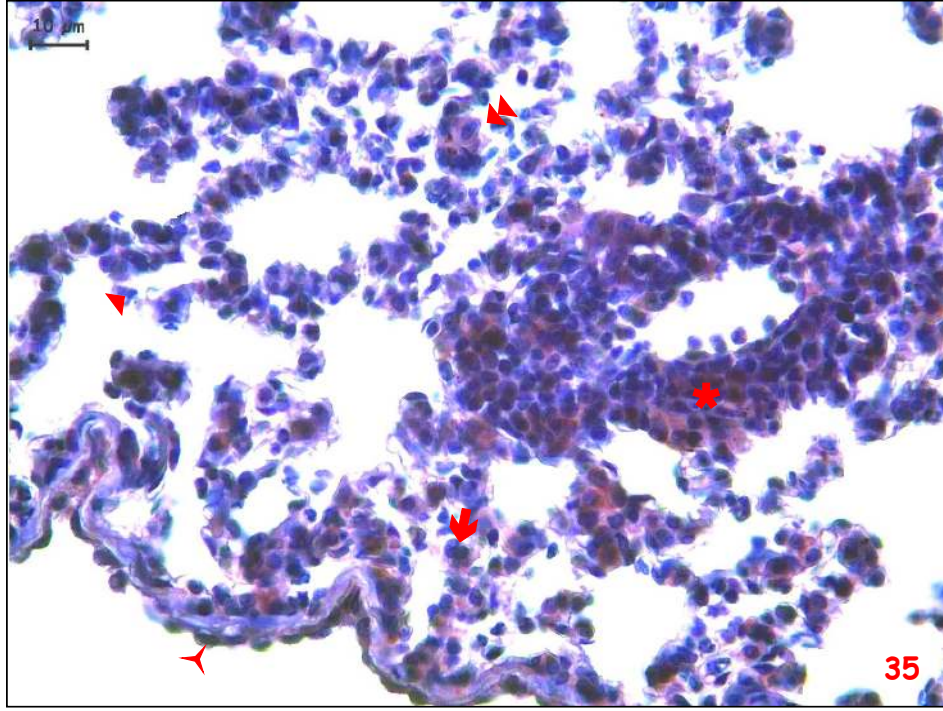
Resim 32: Kaspaz-9 boyaması yapılan Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel (➔) ve düz kas hücreleri (⇨), damar düz kas hücreleri (O) (32Ax40), tip 1 (▸) ve tip 2 alveoler hücreleri (▸ ▸) izleniyor (32Bx100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



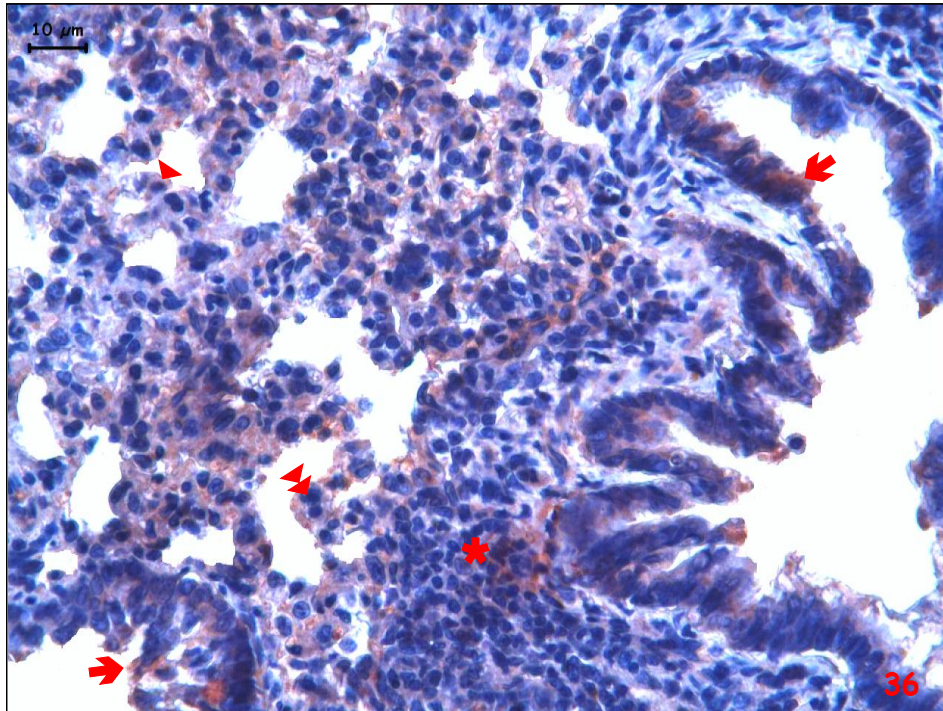
Resim 33: Kaspaz-9 boyaması yapılan Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel (→) ve düz kas hücreleri (⇨), lenfosit hücre grupları (*) görülüyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



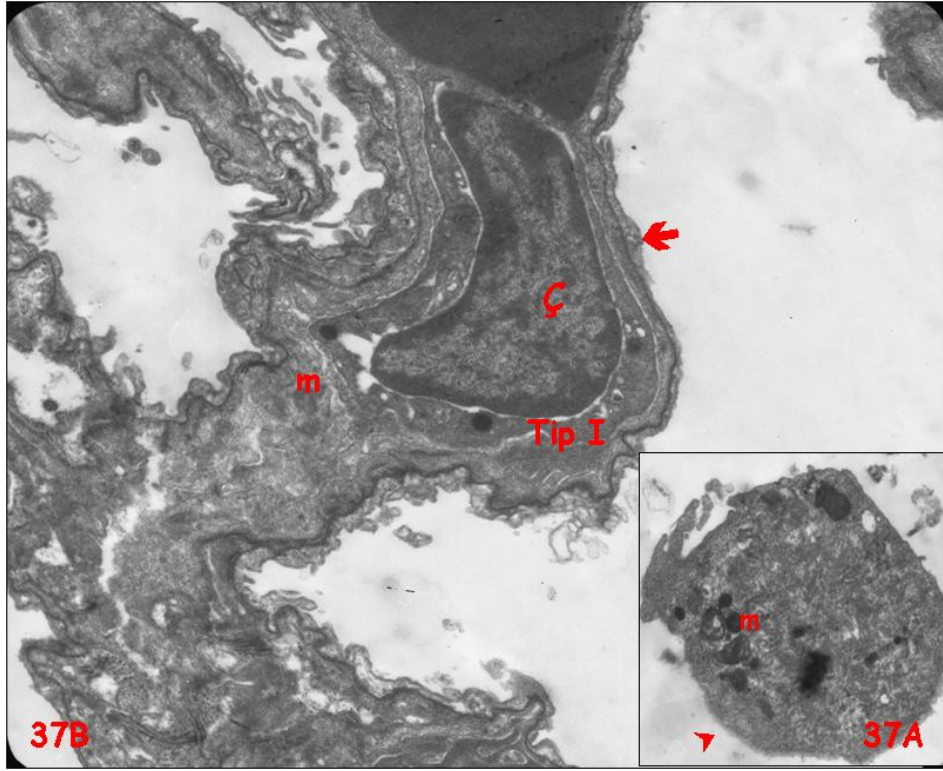
Resim 34: Kaspaz-9 immün boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde küçük büyültmede, bronkiolus epitel (→) ve düz kas hücreleri (⇨), damar düz kas hücreleri (O) izleniyor (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x40).



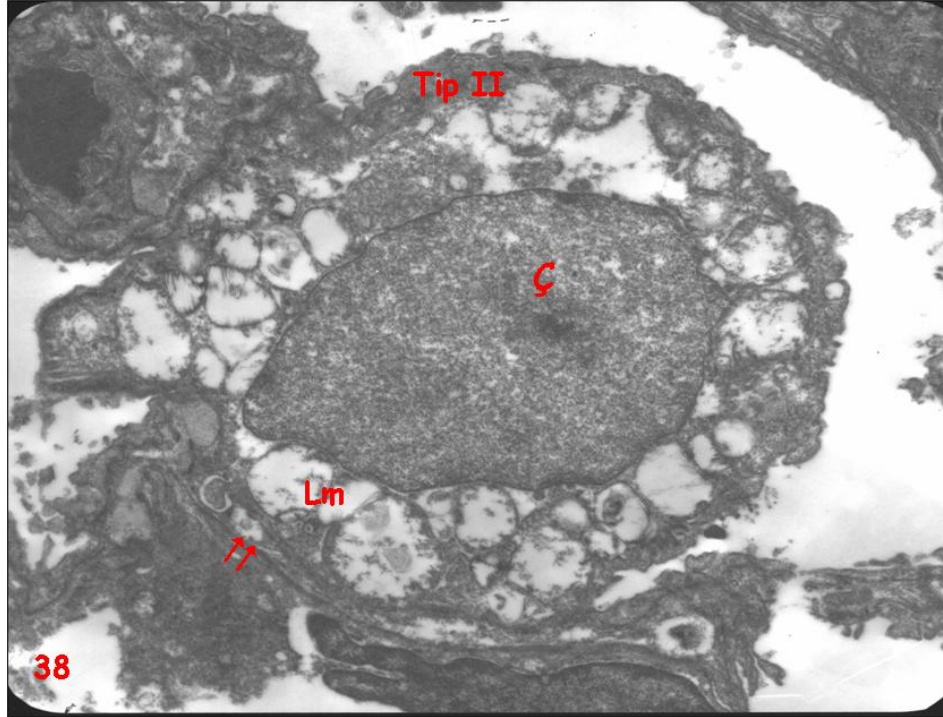
Resim 35: Kaspaz-9 boyaması yapılan Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu kesitinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), lenfosit hücre grupları (*), tip 1 (▸) ve tip 2 alveoler hücreler (▸ ▸) ve visseral plevra (⋈) görülüyor (x100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen x100).



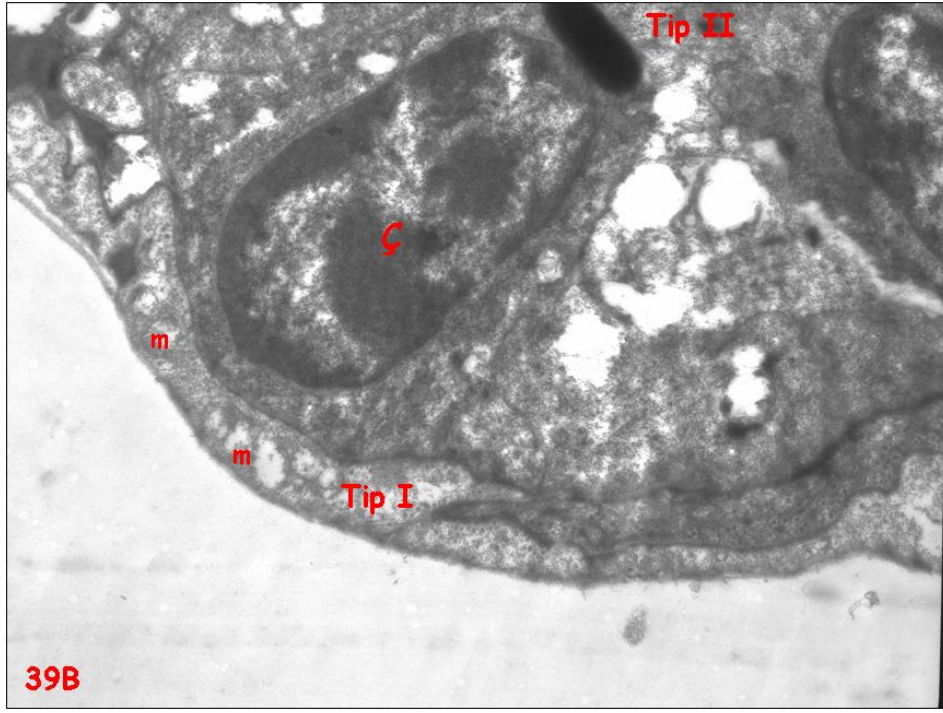
Resim 36: Kaspaz-9 immün boyaması yapılan Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer kesitlerinde, bronkiolus epitel hücreleri (➔), tip 1 (▸) ve tip 2 alveoler hücreleri (▸ ▸) ve lenfosit hücre toplulukları (*) izleniyor (x100) (İmmünperoksidaz& Hematoksilen).



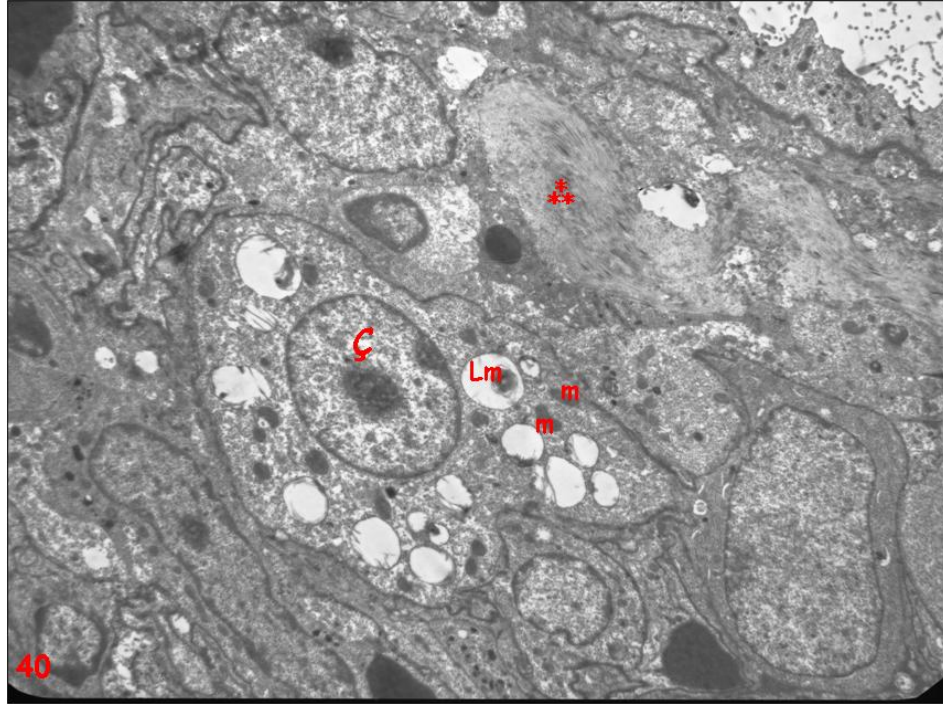
Resim 37: Kontrol grubuna ait akciğer dokusunda elektron mikroskopik incelemelerde alveoler makrofaj (▲) (37Ax12000), mitokondriyonlar (m), sitoplazma (→), tip 1 alveoler hücre (tip I) ve çekirdek (Ç) ayırdediliyor (37Bx7000) (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata).



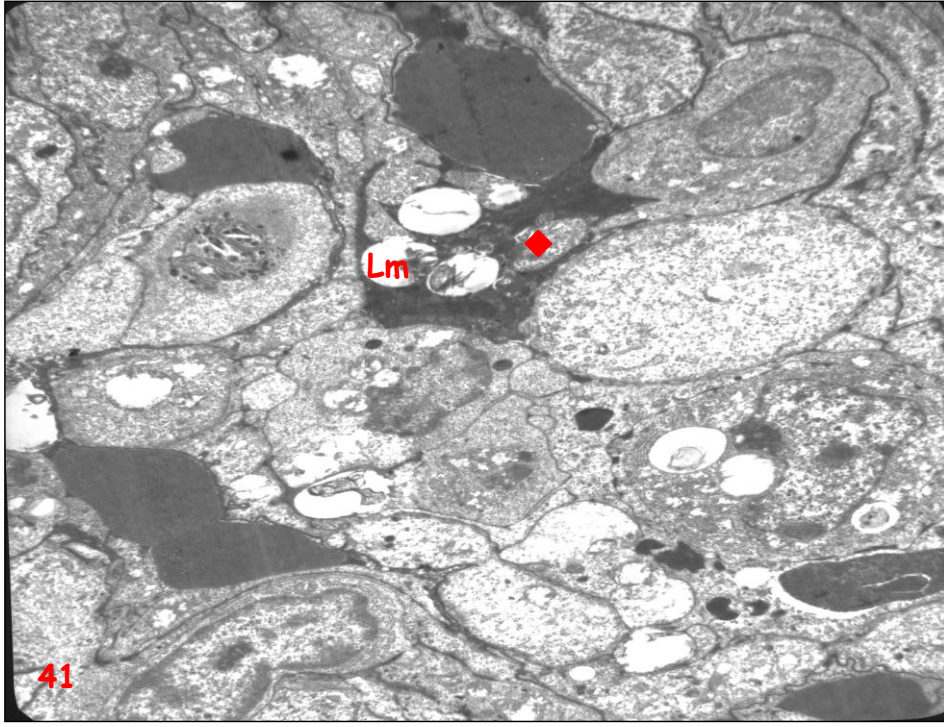
Resim 38: Kontrol grubuna ait akciğer dokusunda ince yapı düzeyinde yapılan değerlendirmede, bazal lamina (⇔) mitokondriyon (m), tip 2 alveoler hücre (tip II), lamellar cisim (Lm) ve çekirdek (Ç) görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x7000).



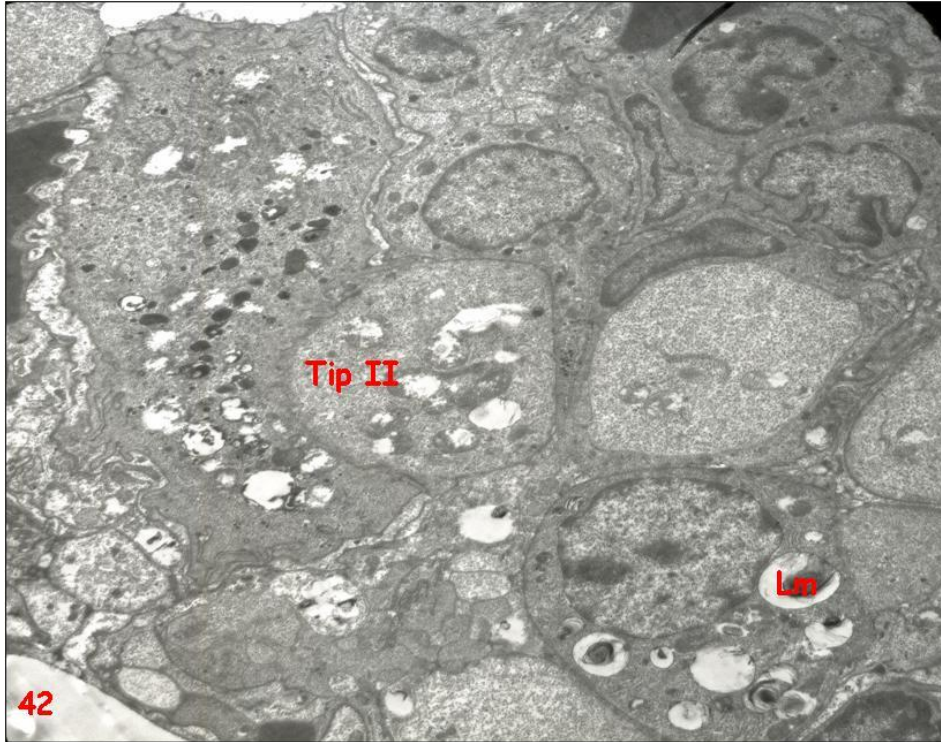
Resim 39: Siklofosfamid uygulanan grubuna ait akciğer ince kesitlerinde, tip 2 alveoler hücre (tip II), lamellar cisim (Lm) (39Ax7000), mitokondriyon (m), çekirdek (Ç) (39A,B) ve tip 1 alveoler hücre (tip I) (39Bx7000) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat).



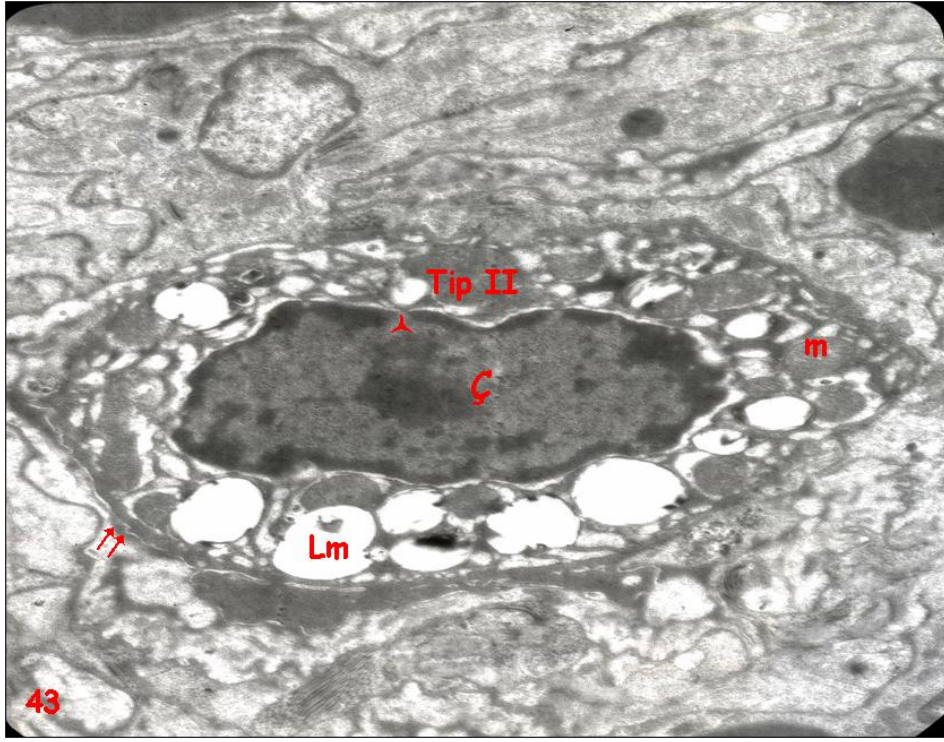
Resim 40: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer dokusund elektron mikroskopik incelemelerde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç), lamellar cisim (Lm) ve fibrozis (✱) ilgiyi çekiyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x3000).



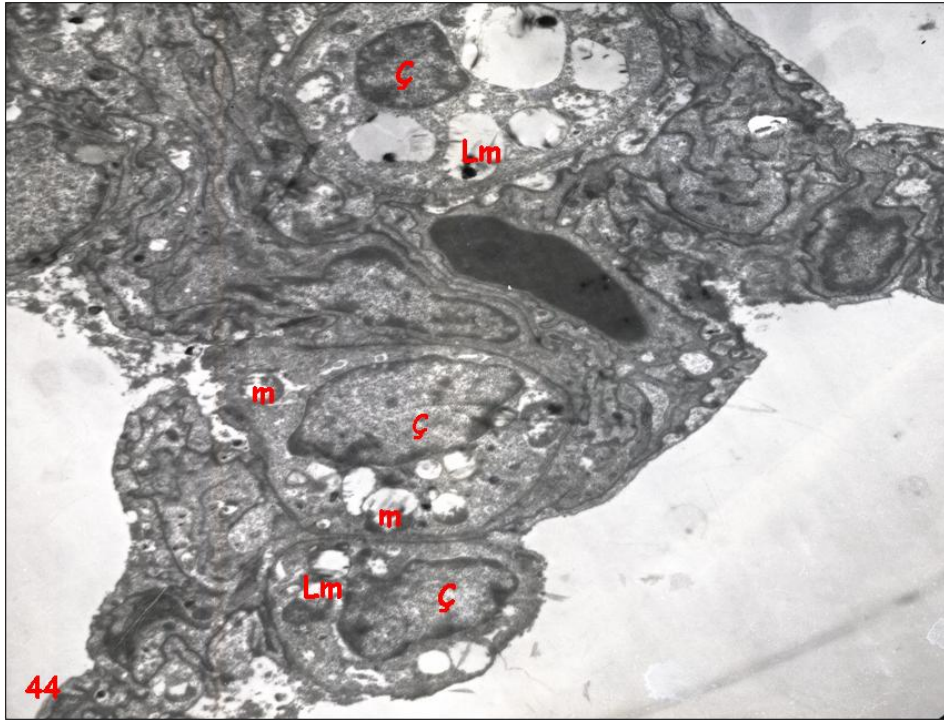
Resim 41: Siklofosfamid uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde, apoptozis (◆) ve lamellar cisimler (Lm) gözlemleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x3000).



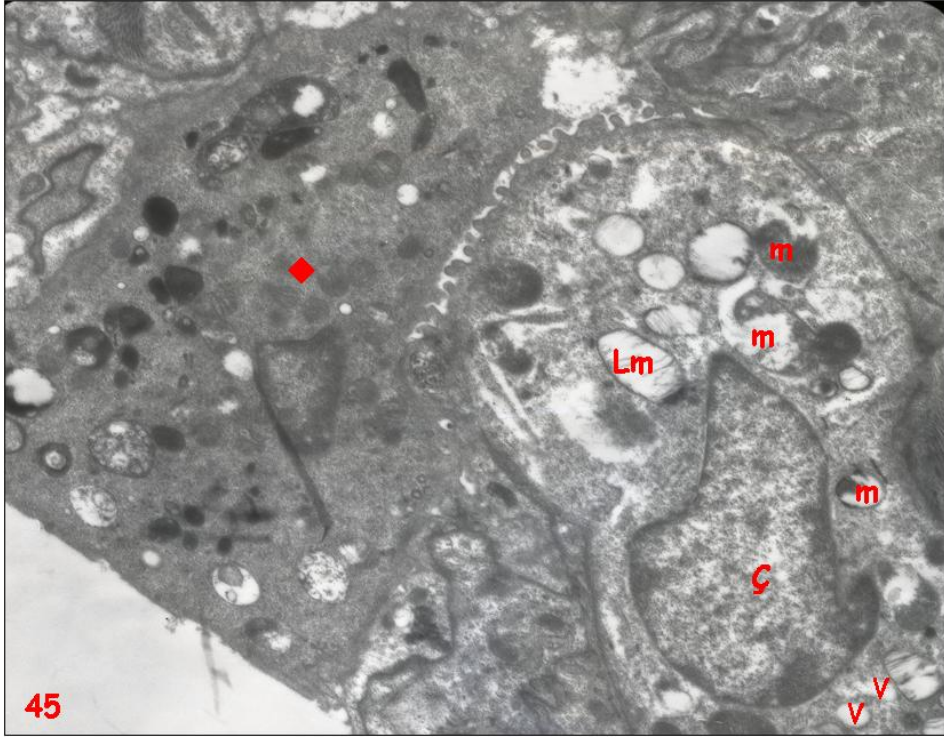
Resim 42: Siklofosfamid ve α - tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu elektron mikroskopik incelemesinde, tip 2 alveoler hücre (tip II) ve lamellar cisimler (Lm) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 3000).



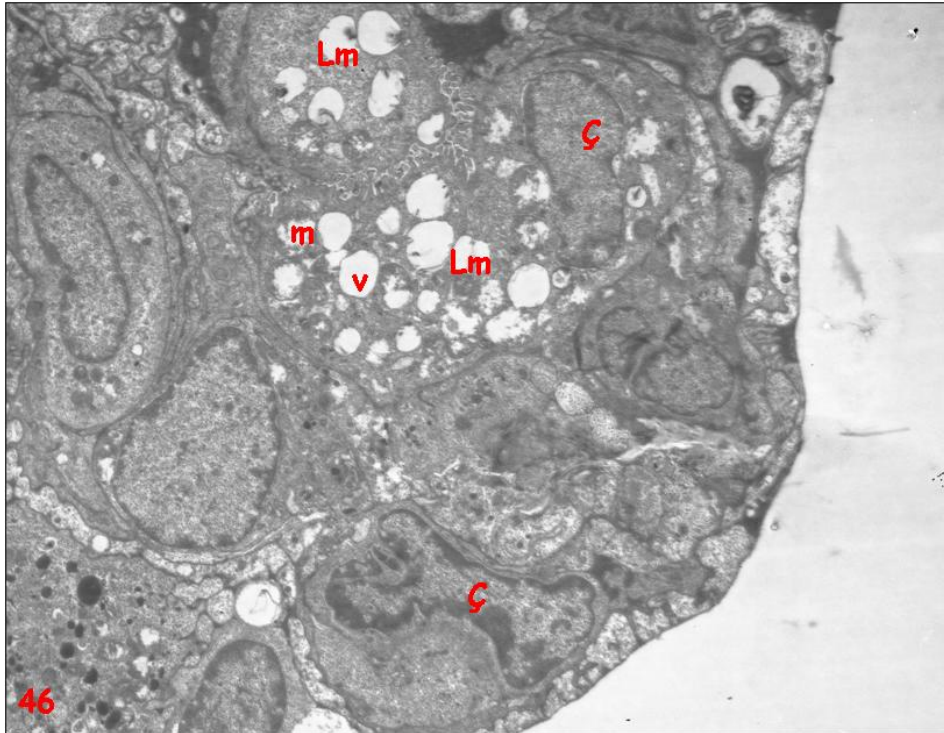
Resim 43: Siklofosfamid ve α -tokoferol uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde, mitokondriyonlar (m), çekirdek (Ç), lamellar cisim (Lm), tip 2 alveoler hücre (tip II), bazal lamina (⇔) ve çekirdek zarındaki açılma (^) ilgiyi çekiyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 7000).



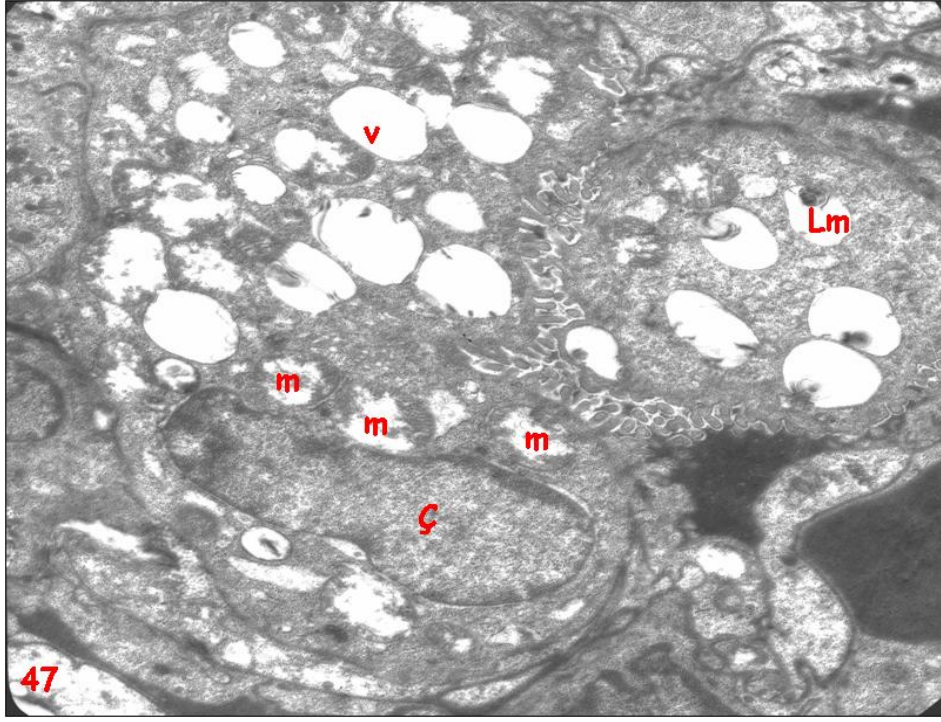
Resim 44: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu elektron mikroskop incelemesinde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç) ve lamellar cisim (Lm) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 3000).



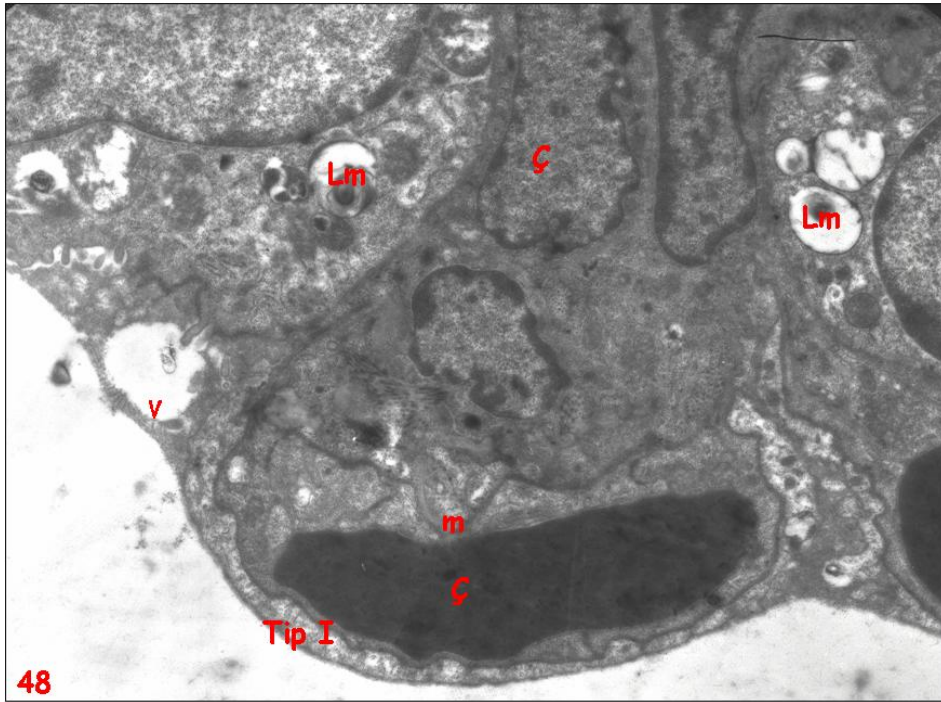
Resim 45: Siklofosfamid ve askorbik asit uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç), lamellar cisim (Lm), vakuol (V) ve yoğun sitoplazmalı apoptozise (◆) giden hücre ilgiyi çekiyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 7000).



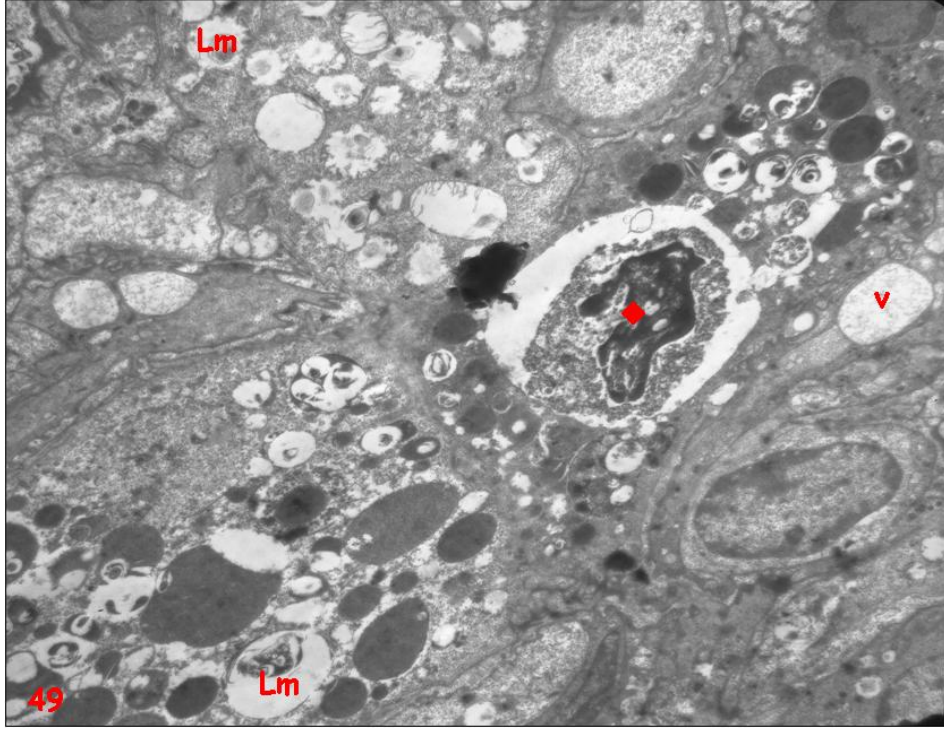
Resim 46: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç), lamellar cisim (Lm) ve vakuoller (v) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 3000).



Resim 47: Siklofosfamid ve selenyum uygulanan gruba ait akciğer dokusu ince kesitinde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç), lamellar cisim (Lm) ve vakuoller (v) görülüyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 7000).



Resim 48: Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer dokusu ince kesitlerinde, mitokondriyon (m), çekirdek (Ç), tip 1 alveoler hücre (tip I), lamellar cisim (Lm) ve vakuoller (v) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 7000).



Resim 49: Siklofosfamid ve her üç antioksidanın birlikte uygulandığı grupta akciğer dokusu elektron mikroskop değerlendirmesinde, lamellar cisim (Lm), vakuol (v) ve apoptozise (◆) giden hücreler ilgiyi çekiyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat x 7000).

V. TARTIŞMA

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunudur. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında her yıl 250-350 kişiden biri kansere tutulmaktadır. 60 yaşın üzerinde ise kanser sıklığı çok artmakta 300 kişide 4–5'e yükselmektedir. Ülkemizde kesin istatistikler bulunmamakla birlikte dağılımın bunun yarısı kadar olduğu düşünülmektedir.⁷⁰

Kanserin tedavi yöntemleri genelde kemoterapi, radyoterapi, cerrahi ve immünoterapi olup, kanser tanısı konulan hastaların bireysel özellik ve hastalık evresine göre bu yöntemlerden bir ya da birkaçı kullanılmaktadır.^{1,70}

İntraperitoneal kemoterapi; sadece çok ciddi olgularda genel durumun hızlı bir şekilde iyileştirilmesi için kullanılmaz, aynı zamanda yalnızca peritoneal metastazlarla seyreden tümörlerin tedavisinde de önemli bir rol oynar. Bu tedavi şeklinin etkinliği 1999 yılında Alberts ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ortaya konulmuştur.^{20,21}

Birçok kimyasal madde, özellikle sitotoksik etkiye sahip olan kemoteröpatik ilaçlar akciğerde sistemli bir şekilde hasara neden olur.⁷¹

Akciğerlere olan toksik etkisi in vivo ve in vitro deneylerle belirlenmiş bir antineoplastik ilaç olan siklofosfamid, araştırmalarda oldukça sık kullanılmaktadır.^{72,73} Siklofosfamid genelde tek doz olarak uygulanmaktadır.^{74,75}

Sıçanlarla yapılan bir çalışmada, siklofosfamid'in toksik etkisini, alveoler

düzeyde pnömoni, tip 1 pnömosit hücre hasarı, normal olmayan tip 2 hücresi oluşumu, kollajen miktarının artmasıyla özelleşmiş fibrozis ve alveol esnekliğinin bozulması şeklinde gösterdiği rapor edilmiştir.⁷⁶ Bu histopatolojik sonuçlar tek doz siklofosfamid uygulamasında dahi gerçekleşebilmektedir.^{77,78}

Çalışmamızda siklofosfamid uygulanan gruplarda immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik değerlendirmeleri sonucunda Patel ve ark.^{76,77,78,79} çalışmalarına koşut olarak alveoler yapının bozulması ile birlikte, alveolar gerginliğin azaldığı gözlemlendi. İnce yapı düzeyinde tip 2 alveoler hücrelerin normal sitoplazmik özelliklerini yitirdikleri, lamellar cisimlerde lamellerin kaybolduğu, cisimlerin vakuoller haline geldiği ilgiyi çekti. Hücrelerde mitokondriyonlarda yaygın kristolizis dikkati çekti. Akciğer dokusunda yer yer fibrozisi simgeleyen kollagen lif birikintileri ayırıldı.

Hiperoksi durumunda ise siklofosfamid kaynaklı hasarın ciddiyeti artmaktadır ve Patel⁷⁹ oksidatif hasar ile ilaç kaynaklı hasarın beraber seyrettiğini bildirilmiştir. Siklofosfamid hücre içinde alkilleyici ajan görevi görür ve hücre içi toksiditeye neden olur. İn vitro ortamda eğer metabolik aktivasyon sitotoksik etkiden önce olaylanırsa çok fonksiyonlu (mixed function oxidase) hücre oksidaz molekülleri, siklofosfamid'i alkilleyerek metabolize edebilirler. Ancak in vivo olarak bu rolü hangi özel enzimlerin üstlendiği açık değildir.⁴

Çok fonksiyonlu hücre oksidasyon molekülleri, siklofosfamid'in metabolize edilmesinde önemli bir yoldur. Ancak tek yol değildir. Hidroperoksit bağımsız oksidasyon (cooxidation) ile alkilenerek yükseltgenen moleküller tanınır ve bu sayede doku hasarları ve karsinogenezis engellenmiş olur.⁸⁰

Oksidasyon ajanlarından; prostoglandin-H sentaz ve lipoksijenaz akciğerde bulunmaktadır. Akciğer bu moleküllerle; siklofosfamid'i alkilleyerek metabolize etme yeteneğine sahiptir.^{7,80} Akciğerde hücre hasarı ve fibrozis önemli derecede prostoglandin-H sentaz tarafından baskılanır. İn vitro ortamda alkilleme metabolizması NADPH bağımsız olarak karaciğer veya araşidonik asit bağımsız olarak akciğer mikozomunda olaylanır.⁴

Radyoaktif işaretlenmiş timidin'in akciğer hücresi DNA'sına girerek hasara neden olması siklofosfamid tedavisinden en geç 7 gün sonra ortaya çıkar. Oksidasyon aktivitesini baskılayan antioksidanlar ile yapılan ön tedaviler ilaç kullanımı süresindeki hasarı önleyebilir.^{81,82}

Siklofosfamid uygulanan kemoterapi tedavilerinde; akciğerde fibrosarkoma oluşabilmektedir.⁷⁰ Ayrıca siklofosfamid farelerde olduğu kadar insanlarda da başlı başına bir pnömoni nedenidir.^{83,84}

Radyasyon ya da kemoterapi yöntemlerinden hangisinin öncelikli olarak kullanılması tedavinin sonucunu etkilemektedir.³ Pouzet ve Travis farelere siklofosfamid enjekte ederek etkilerini gözlemiş ve siklofosfamid'in akciğer dokusunda hızlı bir şekilde etki gösterdiğini ve bu etkinin bir yıla kadar sürebileceğini bildirmişlerdir.²

Siklofosfamid radyasyon tedavisiyle birlikte kullanıldığında; akciğer dokusunda radyasyon doz yanıtını arttırmaktadır.⁸⁵ İki tedavi biçiminin de hedefi akciğer tip 2 hücreleridir ve tek doz halinde uygulanan siklofosfamid tip 2 hücrelerince tolere edilebilirken, bölünmüş doz halinde uygulanan siklofosfamid ölüme yol açmaktadır.^{3,84,86} Rubin'e göre, iki tedavinin de hedef hücresi aynı

olabilir ancak aynı hedef hücreyi etkileyen patofizyolojik düzenekler farklıdır.⁸⁷

Travis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada siklofosfamid'in hücre hassasiyetini arttırdığı ortaya konmuştur. Aynı zamanda radyasyonun malign bölge üzerindeki iyileştirici etkisini azaltmaktadır. Aynı çalışmada, tek ya da bölünmüş doz siklofosfamid uygulaması yapılan farelerde altıncı aydan itibaren akciğer dokusunda yapısal değişiklikler olaylanmış ve hava yollarını kapatan köpüksü hücrelerin proliferasyonu gözlenmiştir. Yapısal değişiklikleri pnömoni izlemiştir.⁸⁸ Siklofosfamid akciğerde kronik ve geri dönüşümü olmayan etkiler ortaya çıkartmaktadır. Ancak bu etkiler; akciğer fonksiyon bozuklukları ile birlikte seyretmez.^{84,88,89}

Apoptotik oluşumları ve doku hasarlarını belirlemek ereğiyle kullanılan birçok immünohistokimyasal işaretleyici bulunmaktadır. Bunlardan PCNA, DNA-polimeraz deltanın yardımcı histon olmayan proteinidir ve DNA replikasyonu ile ilişkilidir. DNA tamiri PCNA ekspresyonu geç G1 fazında başlar ve S fazında 2-3 kat artar. PCNA güvenilir bir hücre proliferasyon belirtecidir.^{90,91}

Tüm kanser tipleri ve tümör oluşumlarında⁹¹ tanıda proliferasyon aktivitesi önemlidir. Yüksek proliferasyon kötü bir klinik tablo ve beraberinde yayılan ve metastaz yapan malign hücre göstergesidir.^{92,93,94,95,96,97,98}

Çalışmamızda siklofosfamid uygulanan grubun PCNA boyanmasında çekirdeklerin aktif olarak tutulum gösterdikleri dikkati çekti. Tutulum hem epitel hücre düzeyinde hem de lenfosit topluluklarında izlendi. Alveol lümeninde de makrofajların oldukça kuvvetli boyanma gösterdikleri ayırdedildi. Siklofosfamid grubuna ait küçük büyültmeli akciğer doku kesitlerinde ise, bağ dokuda yaygın

PCNA pozitif boyanan lenfosit infiltrasyonu ilgiyi çekti.

PCNA primer antikoru ile yaptığımız istatistiksel değerlendirmede; PCNA immünreaktivitesinin siklofosfamid grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptandı ($p<0.001$). Ancak siklofosfamid ile birlikte antioksidan uygulamasının yapıldığı deney gruplarında hücre proliferasyonunda anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Apoptozis ve proliferasyon; alveolar duvar hücrelerinde birçok yöntem kullanılarak saptanabilmektedir.⁹⁹ Dokuların homeostazisi, proliferasyon ve apoptozis arasındaki dengenin korunmasına bağlıdır. Artmış proliferasyon ve azalmış apoptozisin, karsinogenezde önemli rol oynadığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir.^{24,100,101}

Apoptotik mekanizma, son basamaklarında birleşen iki farklı yolak üzerinden olaylanmaktadır. Bunlardan biri dış ya da reseptör öncülüğündeki yolak diğeri ise iç ya da mitokondriyal yolaktır. Bu iki yolak birbirlerinden bağımsız öncül enzim gruplarınca denetlenir.^{27,102}

Hücre yüzey ölüm reseptörlerinin özel ligandlara (tümör nekrozis faktör, Fas ligand) bağlanması ile dış yolak çalışmaya başlar. Bunu izleyerek FADD ve kaspaz-8 uyarılır. Sonuçta bazı efektör kaspazlar (kaspaz-3, 6 ve 7) uyarılarak reaksiyona katılırlar ve hücre ölümü gerçekleşir.^{27,102}

Mitokondriyal yolakta ise tepkime mitokondriyondan sitokrom-c salınımı ile başlar. Salınım; sitotoksik sinyaller, DNA hasarı, hipoksi, büyüme faktörü

yoksunluğu gibi nedenlerle tetiklenir. Apoptozis mekanizmasında önemli rol oynayan Bcl-2 protein ailesi; baskılayıcı (Bcl-2, Bcl-Xc) ve uyarıcı (Bax, Bad) apoptotik enzimleri içermektedir.¹⁰²

Mitokondriyon dış zarındaki Bcl-2/Bax etkileşimi mitokondriyal yolakta sunucu-indükleyici görev yapmaktadır. Sitokrom-c salınımı başladıktan sonra reaksiyon geriye döndürülemez. Sitokrom-c sitozolde; apoptozom olarak adlandırılan Apaf-1, dATP ve prokaspaz-9 içeren multiprotein bileşiğine bağlanarak; bu proteinler ile etkileşir. Apoptozom oluşumu kaspaz-9 enzimini uyarır ve kaskattaki efektör kaspazlar da uyarılarak apoptozis gerçekleştirilir.²⁷

Kemoterapötikler, mitokondriyonun solunum fonksiyonunu doğrudan etkilemektedir.¹⁰³ Siklofosfamid'in etken maddesi olan akrolein; uyarıcı ve baskılayıcı apoptotik enzimler arasındaki dengeyi etkiler. Bcl-2, Bad ve Bax gibi enzimlerin sitozol ve mitokondriyon membranı arasındaki translokasyonlarını etkileyerek; mitokondri membran potansiyelini arttırmakta ve hücrenin ölüme gidişini indüklemektedir.^{27,102}

Akrolein'nin mitokondriyon üzerinden yürüttüğü apoptozis akciğerlerde en çok alveoler makrofaj hücrelerinde saptanmıştır.¹⁰⁴ Zar gerginliğinin bozulması tip-2 alveoler hücrelerin apoptozisi için kesinlikle gerekli iken; tip-1 alveolar hücrelerde kaspaz-8 aktivasyonu ile doğrudan uyarım gerçekleştiğinden gerekli olduğu söylenemez.¹⁰³

Bu araştırmalara koşut olarak; çalışmamızda siklofosfamid uygulanan deney grubunda alveolar makrofajların yanı sıra tip-1 ve tip-2 alveoler hücrelerle birlikte bağ dokudaki lenfosit hücre gruplarında da yoğun kaspaz-8

immünreaktivitesi saptandı. Uygulanan antioksidan ajanlardan α -tokoferol'ün; siklofosfamid'in neden olduğu olumsuz etkileri istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı belirlendi.

Akciğer kanseri primer oluşumu ve ilerlemesinde kaspaz-9'un önemli rolü bulunmaktadır. Park ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; kaspaz-9 ifadesinden sorumlu genin düzenleyici bölgesi polimorfizm gösterdiğinde primer akciğer kanseri oluşumuna hassasiyet geliştiğini ortaya koymuşlardır.²⁷

Çalışmamızda kemoteropatik bir ajan olan siklofosfamid'in akciğer dokusu genelinde belirgin kaspaz-9 tutulumuna neden olduğu görüldü. Yapılan istatistiksel değerlendirmede; α -tokoferol'ün siklofosfamid'in neden olduğu kaspaz-9 immünreaktivitesini anlamlı olarak azalttığı belirlendi.

Anjiyotensin II, AT₁ reseptör yolu ile erken akciğer hasarını belirlemede önemli rol oynayabilir.³⁵ Chen ve arkadaşları akciğer fibrozisine götüren erken akciğer hasarında, sıçanlarda AT₁ reseptörünü araştırmışlardır. Akciğer fibrozisi, sıklıkla ölüme götüren hasarlı alveollerin aşırı onarımından köken alan, geri dönüşümsüz bir hastalıktır.¹⁰⁵ Erken çalışmalar, akciğer interstisyumunda olaylandığını ileri sürerken son çalışmalar, fibrozisin akciğer epitel hücrelerinde oluştuğunu ortaya koymuştur. Patolojisinde anjiyotensin dönüştürücü enziminin (ACE) salınımının bozulması ile inflamatuvar hücre sızıntısını kapiller hücre hasarı ve alveoler hücre hasarı görülür.¹⁰⁶

Anjiyotensin II, ACE tarafından üretilir. ACE kan basıncı ve sodyum dengesini düzenlemede önemli bir peptittir.¹⁰⁷ Son çalışmalar anjiyotensinin, dolaşım organları¹⁰⁸ ve akciğerde¹⁰⁹ doku hasarı ve fibrozisle yakın ilişkili

olduğunu göstermiştir. Anjiyotensin II etkisinin çoğu AT₁ aracılığıyla gerçekleşmektedir.

Araştırmacılar, pulmoner fibroziste AT₁ reseptörünü fibroblastlarda, damarsal düz kas hücrelerinde, makrofajlarda ve alveoler epitelyal hücrelerde saptamışlardır.^{35,110} İn vivo sonuçlara göre ise AT₁ uyarımından sonra insan akciğer fibroblastlarının proliferasyonu ve ekstrasellüler matrikste artış gözlenmiştir.¹¹¹ Anjiyotensin II'ye yanıt olarak alveoler epitel hücrelerinin apoptozisi AT₁ aracılığıyla oluşur.¹¹²

Araştırmamızda siklofosfamid uygulamasının akciğer dokularında visseral plevra hücreleri de dahil olmak üzere; bronkiolus, alveol ve damar endotelinde yaygın AT₁ tutulumuna neden olduğu gözlemlendi. Bazı alveol lümenlerinin döküntü hücrelerle dolduğu ve bu hücrelerin de oldukça yoğun immünreaktif boyandığı ilgiyi çekti. Bazı alveol lümenlerinde kan hücrelerinin varlığı gözlemlendi. Bu hücreler de AT₁ ile kuvvetle pozitif reaksiyon vermişlerdi.

AT₁ immünreaktivitesi, gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde siklofosfamid grubunda, AT₁ primer antikör tutulumunun antioksidan uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı (p<0.001). Antioksidan uygulamalarının ise siklofosfamid'in etkisini anlamlı olarak değiştirmedığı belirlendi.

Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidan yıkıma karşı antioksidanlar olarak adlandırılan birçok koruyucu bulunmaktadır. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu önler.¹¹³

Serbest radikaller hücre membranına saldırdıklarında, membran kararlılığını yitirir; hızlı hücre ve doku bozulmaları oluşur. Buna lipid peroksidasyonu denilmektedir. Ayrıca serbest radikaller oksidatif stres olarak bilinen DNA mutasyonlarına, DNA kırılmalarına ve apoptozise neden olurlar.⁴⁸

Askorbik asit, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önlediği in vitro ve in vivo çalışmalarla gösterilmiştir.^{2,4,35,48,114}

Askorbik asit (C vitamini) hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir.¹ Jain ve arkadaşları, askorbik asitin oksidatif stres üzerindeki etkisini göstermek ereğiyle glutatyon mutant farelerde askorbik asit tedavisi uygulamışlardır. Sonuçlar elektron mikroskopta değerlendirilmiştir. Glutatyon eksikliği olgun farelerde akciğer tip 2 hücrelerinin lamellar gövdeleri ve mitokondriyonlarında hasara neden olur. Bunun göstergesi akciğerde ve bronkoalveolar bölgenin iç yüzünde fosfotidilkolin düzeyinin düşmesidir. Ayrıca glutatyon eksikliği akciğer sürfaktanının boşalmasına neden olur.¹¹⁴

Olgun fareler dokularında askorbat sentezleyebilirler. Yenidoğanlar ise askorbat sentezleyemezler. Araştırma sonucunda; yüksek dozda verilen askorbik asitin yeni doğan glutatyon mutant farelerde, yenidoğan sıçan ve kobaylarda koruyucu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.^{114,115} Askorbat, glutatyon mutant ergin farelerde ise akciğer hasarını engellemiştir. Antioksidan sistemde, askorbat ve glutatyon benzer etkiye sahiptir. Askorbat; glutatyon eksikliğinde onun yerine glutatyon peroksidazı katalizler. Koruyucu etkisi ortaya konan askorbik asitin, pratik klinik yarar sağlayabileceği öngörülmektedir.¹¹⁶

Critchfield ve arkadaşları, askorbik asitin akciğerde kollajen, elastin miktarı ve protein sentezi üzerine etkisini, araştırmak için yenidoğan sıçanlara gavaj yoluyla askorbik asit uygulaması yapmışlardır.¹¹⁷ Elastin miktarı akciğerde %10-20 oranında artmıştır. Akciğerde askorbik asit yoğunluğunun yükselmesine karşı bir savunma bulunmaktadır. Akciğer dokusu sıçanlarda yüksek yoğunlukta askorbik asit içermektedir. Askorbik asit miktarı kollajen ve elastin birikimi için önemlidir. Kollajen ve elastin miktarındaki değişiklik alveol oluşumu ve esnekliğini etkiler.^{117,118,119}

Bazı epidemiyolojik çalışmalar, diyetle bulunan C vitamini ile akciğer kanseri arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada, serum askorbik asit düzeyleri ile akciğer kanser tipleri arasındaki olası ilişki araştırılmıştır. Sonuç olarak; serum askorbik asit düzeylerinin akciğer kanserli hastalarda sağlıklıya göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Akciğer kanserli olgularda serum askorbik asit düzeyini yükseltecek C vitamini desteklerin antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirerek, tedaviye katkıda bulunabileceği öngörülmüştür.¹²⁰

Askorbik asit, akciğer kanseri insidansını azaltmaktadır.¹²¹ Bazı çalışmalar ise askorbik asitin akciğer kanseri gelişiminde sadece ek bir koruma sağlayabileceğini göstermiştir.¹²²

Fareler karaciğer dokusunda askorbik asit sentezleyebilme yeteneğine sahiptirler.^{123,124,125} Diyet çeşitliliği birçok hayvanda askorbik asit biyosentezini etkileyebilir.^{124,126} Bir askorbik asit stereoizomeri olan D-izoaskorbik asit, koyalarda askorbik asit devrini yükseltebilir.¹²⁷ Askorbik asit ağız yoluyla verildiğinde, fareler askorbik asiti karbondioksit katabolize eder ve bu vitaminin aşırı miktarı idrarla vücuttan ürün şeklinde atılır. Sadece az bir miktarı vücutta

dengeleme amacıyla depolanır.^{127,128} Yüksek dozda dışarıdan askorbik asit verilmez ise; dışarıdan askorbik asit alınması dokulardaki askorbik asit düzeyini etkilemez.¹²⁹

Çalışmamızda siklofosfamid ve askorbik asit uygulaması yapılan deney gruplarında alveolar yapı siklofosfamid grubuna karşı daha normal olmakla birlikte; tüm bronkiolus ve alveol epitelinde dejeneratif etkinin göstergesi olan kuvvetli immünreaktivite gözlemlendi. Bu doğrultuda, siklofosfamid ve askorbik asit uygulaması yapılan akciğer dokusunda C vitamininin kemoteropötik ajanın neden olduğu dejeneratif etkileri hem immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak hem de istatistiksel olarak anlamlı derecede engellemediği belirlendi.

Yüksek intraselüler askorbik asit; enerji gerektiren aktif taşıma mekanizmalarının hızlanmasını sağlamaktadır.^{130,131} Tsao ve arkadaşları farelere günlük diyetin % 0.076, %0.5, %1, %5, %8'i kadar askorbik asit takviyesi yapmışlardır. Diyete %0.076 askorbik asit eklendiğinde akciğer, kalp ve böbrekte askorbik asit düzeyinin düştüğünü ancak günlük diyete ek olarak %5 askorbik asit verildiğinde dokularda yüksek oranda askorbik asit varlığını belirtmişlerdir.¹²³

Dışarıdan verilen askorbik asit vücuttaki askorbik asit düzeylerini azaltmakta hatta sentezini durdurmaktadır. Dışarıdan ek olarak askorbik asit uygulandığında; vücutta askorbik asit geri besleme mekanizması yükselmektedir.^{132,133}

Dışarıdan askorbik asit alınması dokulardaki askorbik asit normal düzeylerini fare ve sıçanlarda düşürmektedir. Bu duruma ek olarak diyete 50 mg günlük askorbik asit eklenmesi, askorbik asit yoğunluğunun karaciğer ve

böbreklerde düşmesine neden olmaktadır.¹³⁴ Tüm bulgular; kanda veya kültür ortamındaki askorbik asit yoğunluğu dokulardaki biyosentezi etkilediğini göstermektedir^{132,133,134}

Epidemiyolojik çalışmalar; meyve ve sebzelerle alınan askorbik asidin akciğer, özefagus, mide ve ağız boşluğu kanserlerinin oluşma riskini düşürdüğünü kanıtlamıştır.¹³⁵

Deneyssel bilgiler antioksidanlar arasında etkileşimlerin varlığını ve etkilerini yenilenme (rejenerasyon) şeklinde olaylandığını göstermektedir. α - tokoferol (E vitamini) zincir parçalayan antioksidan etkin bir maddedir ve lipid peroksidasyonunu baskılar.¹³⁶

Çalışmamızda, olası koruyucu etkilerini değerlendirdiğimiz antioksidan ajanlar arasında α -tokoferol'ün akciğer dokusunda siklofosamid'in uygulaması ile ortaya çıkan apoptozis ve yapısal dejenerasyonları istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı saptandı.

Askorbik asit, E vitamininin parçalanmış tokoferol radikallerini yeniler ayrıca β -karoten (selenyum) radikallerini de düzenler.^{137,138,139,140,141}

Alfa tokoferol ise β -karoten'i otooksidasyondan korumaktadır. Buna karşın β -karoten; α -tokoferol'ün okside halini redükte hale çevirmektedir. Ancak β -karote'nin akciğerdeki metabolizması henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Retinoik asitin (A vitamini) retinol'e dönüşümünü kolaylaştırarak; askorbik asit ve α -tokoferol, β -karoten'in parçalanmasını önlemede işbirliği içinde

çalışmaktadırlar.¹³⁶

Alfa tokoferol ve A vitamini, akciğer tip 2 hücrelerinden sürfaktanla beraber salınmalarına ve düzenlenmelerine karşın; etki mekanizmaları şaşırtıcı bir biçimde birbirinden farklıdır.¹⁴²

Yapılan bir çalışmada; askorbik asit ve α -tokoferol'ün ortak çalışarak lipozomal membranlar ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)'nin oksidasyonunu önledikleri bulunmuştur. Askorbik asit, sulu radikalleri yakalayıp tokoferol'den; radikalle reaksiyona girdiğinde oluşan, tokoferoksil radikalini α -tokoferol'e yineler. Askorbik asit tek başına in vitro ortamda LDL oksidasyonunu %15 azaltmıştır. Yalnızca α -tokoferol kullanıldığında oksidasyon %50 azalmış, her ikisi birlikte uygulandığında ise LDL oksidasyonundaki azalma %78'e yükselmiştir.⁴⁸

Selenyum (β -karoten), hücrenin fonksiyonunu düzenleyen mRNA'nın yapısında bulunan temel elementtir. Selenyum alınması ile kalın bağırsak, akciğer ve prostat kanseri gelişme riskine azalma olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^{143,144,145} Ayrıca literatürde selenyum'un karaciğer, prostat, akciğer, kalınbağırsak kanserlerinin görülme sıklığını ve bunlara bağlı ölüm oranlarını azalttığı gösterilmiştir.¹⁴⁶

Selenyum, glutatyon peroksidaz enziminin katalitik kısımlarında bulunur. Bu enzim glutatyonu kullanarak hidroperoksidleri redükte eder ve proteinleri, nükleik asitleri ve membran lipidlerini peroksidlerin zararlı etkilerinden korur. Trombosit yağ asitlerinin metabolizmasında rol oynar. Araşidonik asit metabolizmasında lipooksigenaz aktiviteyi artırır; bu yolla oluşan metabolitler prostoglandin yapımını azaltır ve damar genişlemesini artırıp, trombosit

birikmesini azaltırlar. Ayrıca nötrofillerde fagositoz sonrası mikroorganizma yok edilmesinde önemi olduğu düşünülmektedir. Selenyum bilinen birkaç karsinojenik maddenin mutajenik etkisini azaltmaktadır.^{147,148}

Çalışmamızda selenyum'un kemoterapi kökenli akciğer hasarına immünohistokimyasal, ince yapı düzeyinde belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlendi. Bulgular siklofosamid grubuna eşdeşti.

Çalışmalara göre, sigara içimi vücutta selenyum (β -karoten) miktarını düşürmektedir.^{149,150} Askorbik asit sigara içiminde belirgin bir oranda düşerken, α -tokoferol (E vitamini) hafif bir miktarda azalmaktadır. Bu durum gelinciklerde (*Mustela putorius furo*)¹⁵¹ dış oksidatif parçalanmayı azaltmıştır.^{152,153,154,155,156,157}

β -karoten kararsız bir moleküldür ve sigaraya etkin kalan akciğerde serbest radikal haline gelerek oksidatif dış metabolitlerin artmasına neden olur.¹⁵⁸ Oksidatif dış parçalanma ürünleri karsinojenik süreçle oluşmaktadır. β -karoten metabolitleri DNA'ya benzopiren metabolitlerinin bağlanmasını kolaylaştırır.¹⁵⁹

β -karoten metabolitleri; sitokrom P450 enzimlerinin oluşumunu sağlama yoluyla karsinogenezle ilişkili olabilirler. Sitokrom P450 enzimleri, protokarsinojenler yoluyla karsinojenleri aktive eder ve lipid peroksidasyonunu kolaylaştırır.¹⁵¹ Birçok çalışma β -karoten metabolitleri olan β -apokarotenol'lerin mitokondriyal solunumu da engellediklerini ortaya çıkarmıştır.^{160,161} Aynı zamanda A vitamini metabolizmasını da bozar.¹⁶² β -karoten'in sigara kullanımı sırasında açıkta kalıyor olması, oksidatif stresle sonuçlanır.^{149,163,164}

Pathak ve arkadaşları; in vitro ve hayvan deneylerinde kemoteröpatik maddelerle tedavinin; tedavi antioksidanlarla desteklendiğinde etkisinin artabileceğini öngörerek;^{165,166,167} akciğerde kemoterapiyi yüksek doz antioksidanlarla (askorbik asit, α -tokoferol ve selenyum) desteklemişlerdir. Sonuç olarak, antioksidanların kemoterapi kaynaklı akciğer dokusu hasarına karşı tam bir koruma sağlayıp sağlamadığı kanıtlanamamıştır.¹⁶⁵

Çalışmamızda her üç antioksidanın birlikte uygulanmasının kemoterapi kaynaklı akciğer doku hasarına karşı tam bir koruma sağlamadığı sonucuna varıldı. Üç antioksidanın birlikte uygulanması kemoterapinin etkisini azaltıyor olabileceği kanısındayız.

Antioksidanlar ve kemoteröpatik maddelerin ortak kullanımı araştırmacılar, antioksidanların kemoterapi etkisini azaltabileceği yönünde her zaman endişe uyandırmaktadır.¹⁶⁵ Pathak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada toksidite sonuçları diğer benzer çalışmalardan farklı şekilde bulunmuştur.^{168,169}

Askorbik asit, β -karoten ve α -tokoferol gibi antioksidanlarla yapılan ön tedavide akciğer melanoma ve karsinomasında kemoterapi ve diğer kanser ajanlarının büyüme inhibitör etkilerini arttırdıkları gözlenmiştir.^{167,170} Ayrıca α -tokoferol ile birlikte radyoterapi ve siklofosfamid kullanılarak yapılan tedavide iyileşme oranı % 90'a kadar yükselmiştir.¹⁷¹

Akciğerde kemoterapi veya radyoterapiye ek olarak yapılan antioksidan uygulamaları ile ilgili klinik çalışmalar çok sınırlıdır.¹⁷² Buna karşılık rapor edilen çalışmalarda; ileri derecede ovaryum kanserli hastalarda antioksidan ek tedaviyle kemoterapi tedavisinde 3 yıl içinde tüm hastaların tamamıyla iyileştikleri ortaya

konulmuştur.¹⁷³ Ayrıca yüksek riskli göğüs kanserli 32-82 yaş arası hastalarda ek antioksidan tedavisi 18 ay uygulanmış ve metastazın önlendiği ve kanserin gerilediği kanıtlanmıştır.¹⁷⁴

Vücutta beraber bulunduklarında askorbik asit ve α -tokoferol (E vitamini); azalan β -karoten (selenyum) düzeyini normale getirirler.¹⁵¹ İn vivo ve in vitro ortamda askorbik asit, α -tokoferol ve selenyum; sinerjistik olarak antioksidan görevi görmektedirler.^{136,149,175}

VI. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda, siklofosfamid uygulanan deney grubunun akciğer doku kesitlerinde, epitel hücre düzeyi, alveolar makrofajlar, lenfosit toplulukları ve bağ dokuda PCNA tutulumunun, kontrol grubuna karşın daha yaygın ve kuvvetli olduğu belirlendi. Akciğerde erken doku hasarı ve fibrozisle ilişkisi olan AT₁ reseptörü immün boyamasında, siklofosfamid grubunda visseral plevra hücreleri de dahil olmak üzere, bronkus, alveol ve damar endotelinde kuvvetli pozitif reaksiyon gözlemlenmesine karşın, kontrol grubunda AT₁ tutulumu orta dereceliydi. Apoptotik sinyaller bakımından siklofosfamid ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, tüm akciğer yapıları, düz kas hücreleri, bağ doku, alveol duvarı ve lenfosit yığınaklarında kaspaz-8 ve kaspaz-9 immünreaktivitelerinin kontrole karşın orta-kuvvetli derecede arttığı saptandı.

Kemoteropatik ajanın akciğer dokusu üzerinde yapabileceği olumsuz etkilerin mekanizmasını saptamak amacıyla; çalışmamızda kullanılan tüm çoğalma, hasar ve ölüm sinyal molekülleri için elde edilen immünohistokimyasal bulgular, istatistiksel değerlendirme sonuçları ile de örtüştü.

Çalışmamızda siklofosfamid ve α - tokoferol'ün birlikte uygulandığı grupta bronkiolus epiteli, bağ doku endotel hücre çekirdekleri ve damar çevresi lenfosit yığınaklarında yoğun PCNA pozitif reaksiyon gözlemlendi. Buna karşın, AT₁, kaspaz-8 tutulumlarının kontrol grubuna eşdeğer, kaspaz-9 tutulumunun ise zayıf olduğu belirlendi. Akciğer dokusunda proliferasyonun artmasına karşılık yapısal hasarlanma ve apoptozisin azalması; α - tokoferol'ün kemoterapi ilacının özellikle normal dokuyu hasarlama etkisini; doku yenilenmesi yoluyla geri dönüştürebildiğini ve koruma sağlayabildiğini düşündürdü.

Çalışmamızda siklofosfamid ve askorbik asit'in birlikte uygulandığı grupta, akciğer dokusunda PCNA immünreaktivitesinin oldukça az olduğu gözlemlenirken AT₁, kaspaz-8 ve kaspaz-9 tutulumlarının orta-kuvvetli derecede olduğu dikkati çekti. Bulgular hem immünohistokimyasal hem de istatistiksel olarak hemen hemen siklofosfamid grubuna benzerlik gösteriyordu. Olgun sıçan akciğer dokusunda, askorbat biyosentezinin dışarıdan verilen askorbik asit ile birlikte geri besleme mekanizması yoluyla azalmış ya da baskılanmış olabileceği, bu nedenle de bilinen antioksidan ve koruyucu erkini yerine getiremediği sonucuna varıldı.

Çalışmamızda selenyum uygulamasının diğer gruplarla uyumlu PCNA tutulumu gösterdiği gözlemlendi. AT₁ antikoru ile yapılan değerlendirmede, siklofosfamid grubuna karşı alveolar yapının biraz daha korunmuş olduğu dikkati çekti. Kaspaz-8 ve kaspaz-9 immünreaktivitesinin ise siklofosfamid grubuna benzer olduğu belirlendi. Kararsız bir molekül olan selenyum'un tek başına uygulandığında, yoğun oksidan stres altındaki akciğer dokusunda koruyucu etkisinin hem immünohistokimyasal hem de istatistiksel bulgular ışığında yeterli olmadığı kanısına varıldı.

Çalışmamızda siklofosfamid ve her üç antioksidanın uygulandığı grupta, akciğer dokusunda siklofosfamid grubu ile eşdeğer PCNA tutulumu, siklofosfamid grubundan istatistiksel anlamlı derecede düşük olmasına karşı; yoğun AT₁, kaspaz-8 ve 9 immünreaktivitesi ve genel yapıda bozukluk gözlemlendi. Bulgulara dayanarak α -tokoferol, askorbik asit ve selenyum'un kemoteropatik ajanın yol açtığı hasarı geri çevirmede sinerjistik etki gösteremedikleri kanısına varıldı.

Çalışmamızın elektron mikroskopik incelemelerinde, siklofosamid uygulanmış akciğer dokuları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tip 2 alveolar hücre sitoplazmalarında, mitokondriyonlarında vakuolleşme ve yaygın kristolizis, vakuoler yapıya dönüşen lamellar cisimler gözlemlenirken; lamellar düzenin bozulduğu, hücrenin apoptozise gittiği bununla birlikte alveol lümenlerinin de daralıp kapandığı belirlendi. α - tokoferol uygulanan grupta ise azalmış fibrozis, düzgün mitokondriyonlar, tamamiyle kaybolmamakla birlikte azalmış zar ve lamellar cisim defektleri saptandı. Diğer grupların ise siklofosamid grubuna benzerlik gösterdikleri belirlendi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre; sıçanlarda kemoterapi uygulanması sırasında alınan antioksidanlardan yalnızca α - tokoferol'ün serbest radikalleri en az düzeye indirerek doku hasarını etkin biçimde geri dönüştürebileceği sonucuna varıldı.

VII. ÖZET

Kanser tedavisinde kullanılan kemoteropatik ilaçların toksik etkileri bilinmektedir. Bu kemoteropatiklerden birisi olan siklofosfamid, akciğerlerde; alveoler düzeyde pnömoni, tip 1 pnömosit hücre hasarı, anormal tip 2 hücresi oluşumu, fibrozis ve alveol esnekliğinin bozulmasına neden olmaktadır. Antioksidanlar ile yapılan ön tedaviler ilaç kullanımı süresindeki hasarı önleyebilmektedir.

Çalışmamızda siklofosfamid'in normal akciğer dokusunda olaylandığı dejeneratif etkiler üzerine askorbik asit, α -tokoferol ve selenyum'un olası antioksidan etkilerini immünohistokimyasal ve elektronmikroskopik düzeyde değerlendirmeyi amaçladık. Bu nedenle yapısal hasar ve gelişim moleküllerinden AT₁ ve PCNA, apoptozis sinyal moleküllerinden kaspaz-8 ve kaspaz-9 antikorlarını kullandık.

Siklofosfamid uygulanan akciğer dokusunda; epitel, alveolar makrofajlar, lenfosit toplulukları ve bağ dokuda PCNA, bronkus, alveol ve damar endotelinde AT₁, düz kas hücreleri, alveol duvarı ve lenfosit yığınaklarında ise kaspaz-8 ve kaspaz-9 immünreaktivitelerinin kontrole karşın orta-kuvvetli derecede arttığı saptandı. Siklofosfamid ve α -tokoferol'ün birlikte uygulandığı grupta bronkiolus epiteli, endotel hücre çekirdekleri, lenfosit yığınaklarında yoğun PCNA, kontrol grubuna eşdeğer AT₁, kaspaz-8 ve zayıf kaspaz-9 tutulumu belirlendi. Askorbik asit uygulanan grupta, PCNA immünreaktivitesi oldukça az, AT₁, kaspaz-8 ve kaspaz-9 tutulumları ise siklofosfamid grubuna eşdeşti. Selenyum uygulanan grupta siklofosfamid grubuna karşın PCNA ve AT₁ tutulumları az, kaspaz-8 ve kaspaz-9 immünreaktiviteleri ise siklofosfamid grubuna benzerdi. Her üç antioksidanın

uygulandığı grupta, bulgular siklofosfamid grubuna eşdeşdi.

Elektron mikroskopik bulgularımızda; siklofosfamid uygulanmış akciğer dokularında tip 2 alveolar hücre sitoplazmalarında, mitokondriyonlarında vakuolleşme, kristolizis, lamellar düzenlenimde bozukluk ve apoptozise gidiş gözlemlendi. α -tokoferol uygulanan grupta ise düzgün mitokondriyonlar, azalmış fibrozis, zar ve lamellar cisim defektleri saptandı. Diğer grupların ise siklofosfamid grubuna benzerlik gösterdikleri belirlendi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre; sıçanlarda kemoterapi uygulanması sırasında alınan antioksidanlardan yalnızca α -tokoferol'ün, doku hasarını etkin biçimde geri dönüştürebileceği sonucuna varıldı.

VIII. SUMMARY

The chemotheuropathic medicines which become used at cancer cure toxic effects is known. One of these chemotheuropathics –cyclophosphamide- in lungs, alveolar levels of pneumonia, type 1 pneumocyte cell damage, abnormal type 2 cell formation, fibrosis and alveolar flexibility has led to corruption. The pre-treatment with antioxidants prevent damage from drug use can be long.

In our study, we aimed to immunohistochemically and electronmicroscobically evaluate the possible antioxidant effects of ascorbic acid, α -tocopherol and selenium, on the degenerative effects of cyclophosphamide on normal lung tissue. To this end, we used AT₁ and PCNA as injury and developmental signal molecules; caspase-8 and caspase-9 as apoptotic signal molecules.

Following cyclophosphamide application, we observed, an increase in PCNA immunoreaction in epithelium, alveolar macrophages, lymphocytes and connective tissue, in AT₁ immunreaction in bronchus, alveolar and vascular endothelium, in caspase-8 and caspase-9 immunreaction in smooth muscle cells, the alveolar wall and lymphocytes when compared to control group. In α - tocopherol group; in bronchiolus epithelium, endotel cell nucleus and lymphocytes had showed a strong immunpositive reaction in PCNA analysis. AT₁, caspase-8 and caspase-9 immunreactions were similiar to the control group. In ascorbic acid group we observed a decrease in PCNA immunreactivity. Following cyclophosphamide and selenium application, we determined a decrease in PCNA and AT₁ immunreactivity when compared to cyclophosphamide group. Conversely in both cyclophosphamide and antioxidant treated group, results showed similarty with the cyclophosphamide group.

Following electronmicroscopic examinations, we observed vacuolization in type 2 alveolar cell cytoplasm and mitochondria, cristolysis, disorder of lamellar formation and being prepared to apoptosis. Following α -tocopherol application evidences showed that mitochondria, cytoplasm and lamellar bodies were partially normal when compared to cyclophosphamide group. But other groups were similar to the cyclophosphamide group.

According to the findings obtained in our study, rats received chemotherapy during the implementation of the antioxidant –only α -tocopherol– can be repressed or degraded of tissue injury and may return degenerative changes.

IX. KAYNAKLAR

1. Ertürk B. Akciğer kanserli hastalarda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengenin araştırılması. Doktora. İSTANBUL: Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006
2. Pouzet M. T., Travis E. L., et al. No change in repair capacity of mouse lung irradiated three months after a single dose of cyclophosphamide. *Cancer Research* 1992; 52: 1096-100.
3. Edress G., Luts A., Steward F., et al. Bladder damage in mice after combined treatment with cyclophosphamide and X-rays. The influence of timing and sequence. *Radiother Oncol* 1988; 11: 349-60.
4. Smith R. D., Kehrer J. P., et al. Cooxidation of cyclophosphamide as an alternative pathway for its bioactivation and lung toxicity. *Cancer Research* 1991; 51: 542-48.
5. Hart L. G., Adamson R. H., et al. Effect of microsomal enzyme modifiers on toxicity and therapeutic activity of cyclophosphamide in mice. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1969; 180: 391-401.
6. Sladek N. E. Therapeutic efficacy of cyclophosphamide as a function of inhibition of its metabolism. *Cancer (Phila)*. 1972; 32: 1848-54.
7. Patel J. M. Metabolism and pulmonary toxicity of cyclophosphamide. *Pharmacol. Ther.* 1990; 47: 137-46.
8. Şapçı T., Filizel F., Şensu S., Karavuş A., Karavuş M., Ertek S., Akbulut A. G., et al. Prognostik value of “Proliferating Cell Nuclear Antigen” in laryngeal squamous cell carcinoma. *K.B.B. ve B.B. Cer. Der.* 1995; 3: 247-52.

9. Baserga R. Growth regulation of the PCNA gene. *J. Cell Science*. 1991; 98 : 433-36.
10. Celis J. F., Bravo R., Larsen M. S., Fey S. J., et al. Cyclin; a nuclear protein whose level correlates directly with the proliferative state of normal as well as transformed cell. *Leukemia Res*. 1984; 8: 143-.57
11. Linden M. D., Torrex F. X., Kubus J., et al. Clinical application of morphological and immunohistochemical assessments of cell proliferation. *Am. J Clin. Pathol*. 1992; 97 (suppl 1): S4-S13.
12. Matsumoto K., Moriuchi T., Nakane P. K., et al. Molecular cloning of cDNA coding of rat proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/ cyclin. *EMBOJ*. 1987; 6: 637-42.
13. Okata K., Okata Y., Takasaki Y., Tan E. M., et al. Epitopes on proliferating cell nuclear antigen recognized by human lupus autoantibody and murine monoclonal antibody. *J Immunol*. 1987; 39: 2942-46.
14. Hall P. A., Levtson D. A., Woods A. L., et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization of parafin sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol*. 1990; 162: 285-94.
15. Bravo R., Frank R., Blundell P. A., et al. Cyclin PCNA is the auxially protein of DNA polymerase. 6. *Nature*. 1987; 326: 515-17.
16. Pkelich G., Tan C. K., Kotsura M., et al. Functional identity of Proliferating Cell Nuclear Antigen and a DNA polymerase-5 auxially protein. *Nature*. 1987; 326: 517-20.
17. Nishida C., Reinhard P., Linn S., et al. DNA Synthesis in human fibroblasts requires DNA polymerase-5. *J Biol. Chem*. 1988; 263: 501-10.

18. Shivji M. K. K., Kenny M. K., Wood R. D., et al. Proliferating cell nuclear antigen is required for DNA excision repair. *Cell*. 1992; 69: 367-74.
19. Webb G., Parsons P., Cmenek-Trench G., et al. Localization of the gene for human proliferating cell nuclear antigen/cyclin by in situ hybridization. *Hum. Genet.* 1990; 86: 84-86.
20. Alberts DS., Liu PY., Hannigan EV., et al. Phase III study of intraperitoneal (IP) cisplatin (CDDP) / intravenous (IV) cyclophosphamide (CPA) vs. IV CDDP/IV CPA in patients with optimal disease stage III ovarian cancer: a SWOG-GOG-ECOG Intergroup study (INT 0051). *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1999; 14: 273.
21. Markman M., Bundy BN., Alberts DS., et al. Phase III Trial of standard-dose intravenous cisplatin plus paclitaxel versus moderately high-dose carboplatin followed by intravenous paclitaxel and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma: An Intergroup Study of Gynaecologic Oncology Group, Southwestern Oncology Group, and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2001; 19: (4) 1001-7.
22. Kao JT., Chuah SK., Huang CC., Chen CL., Wang CC., Hung CH., Chen CH., Wang JH., Lu SN., Lee CM., Changchien CS., Hu TH., et al. P21/WAF1 is an independent survival prognostic factor for patients with hepatocellular carcinoma after resection. *Liver Int*. 2007; 27: (6) 772-81.
23. Yokohori N., Aoshiba K., Nagai A., et al. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest*. 2004; 125: 626-32.
24. Erdoğan BB., Uzaslan EK., et al. Apoptosis mechanism: Fas-FasL-mediated apoptosis in tumour development. *Arc of Pul*. 2003; 4: 165-74.
25. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell*. 1997; 88: 355-65.

26. Çelik İ. Akciğer kanserinde epidemiyoloji. In: Engin K, Özyardımcı N; eds. Akciğer kanserleri. Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti.; 2001: 50-56.
27. Park JY., Park JM., Jang JS., Choi JE., Kim KM., Cha SI., Kim CH., Kang YM., Lee WK., Kam S., Park RW., Kim IS., Lee JT., Jung TH., et al. Caspase 9 promoter polymorphisms and risk of primary lung cancer. Hum Mol Gen. 2009; 15: (12) 1963-71.
28. Kidd VJ., Lahti JM., Teitz T., et al. Proteolytic regulation of apoptosis. Semin Cell Dev Biol. 2000; 11: 191-201.
29. Vrdoljak E., Bill CA., Stephens LC., Van Der Kogel AJ., Ang KK., Tofilon PJ, et al. Radiation-induced apoptosis of oligodendrocytes in vitro. Int J Rad Biol. 1992; 62: 475-80.
30. Ojeda F., Diehl HA., Folch H., et al. Radiation induced membrane changes and programmed cell death: Possible interrelationships. Scanning Micros. 1994; 3: 645-51.
31. Kerr JF., Winterford CM., et al. Apoptosis: Its significance in cancer and cancer therapy. Cancer. 1994; 73: 2013-26.
32. Dunn SE., Hardman RA., Kari FW., Barret JC., et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) alters drug sensitivity of HBL100 human breast cancer cells by inhibition of apoptosis induced by diverse anticancer drugs. Cancer Res. 1997; 57: 2687-93.
33. Macluskey M., Baillie R., Chandrachud LM., Pendleton N., Schor AM., et al. High levels of apoptosis are associated with improved survival in non-small cell lung cancer. Anticancer Res. 2000; 20: 2123-28.
34. Ferreira CG., Span SW., Peters GJ., Kruyt FAE., Giaccone G., et al. Chemotherapy triggers apoptosis in a caspase-8-dependent and mitochondria-

controlled manner in the non-small cell lung cancer cell line NCI-H460. *Anticancer Res.* 2000; 60: 7133-41.

35. Chen FP., Gong LK., Zhang L., Wang H., Qi XM., Xiao Y., Cal Y., Liu LL., Li XA., Ren J., et al. Early lung injury contributes to lung fibrosis via AT₁ receptor in rats. *Acta Pharma Col Sin.* 2007; 28: (2) 227-37.

36. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi. (Türkçe Çeviri) Palme Yayıncılık* 2006 s: 339-62.

37. Tanaka A., Matsumori A., Wang W., Sasayama S., et al. An angiotensin II receptor antagonist reduces myocardial damage in an animal model of myocarditis. *Circulation.* 1994; 90: 2051-55.

38. Otsuka M., Takahashi H., Shirathori M., Chiba H., Abe S., et al. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by condesartan cilexetil, on angiotensin type I receptor antagonist. *Thorax.* 2004; 59: 31-38.

39. Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system. *Curr Pharm Des.* 2003; 9: 715-22.

40. Papp M., Li X., Zhuang J., Wang R., Uhal BD., et al. Angiotensin receptor subtype AT₁ mediates alveolar epithelial cell apoptosis in response to ANG 2. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 282: L713-18.

41. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson SA., et al. Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol.* 1992; 199: 493-501.

42. Schmidt R., Luboenski T., Markart P., Ruppert C., Daum C., Grimminger F., Seeger W., Günther A., et al. Alveolar antioksidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2004; 24: 994-99.

43. Kelly JF., Buhl R., Sandström T., et al. Measurement of antioxidants, oxidants and oxidation products in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir Rev.* 1999; 9: 93-98.
44. Putman E., van Golde LM., Hoaksman HP., et al. Toxic oxidant species and their impact on the pulmonary surfactant. *Lung.* 1997; 175: 75-103.
45. Holm BA., Matalon S., Finkelstein JN., Notter RH., et al. Type II pneumocyte changes during hyperoxic lung injury and recovery. *J Appl Physi.* 1988; 65: 2672-78.
46. Crim C., Longmore WJ., et al. Sublethal hydrogen peroxide inhibits alveolar type II cell surfactant phospholipid biosynthetic enzymes. *Am J Physiol.* 1995; 268: L129-L135.
47. Messent M., Sinclair DG., Quinlan GJ., Mumby SE., Gutteridge JM., Evans TW., et al. Pulmonary vascular permeability after cardiopulmonary bypass and its relationship to oxidative stress. *Crit Cor Med.* 1997; 25: 425-29.
48. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Van 2002
49. Genç Derin B. Embriyolojik gelişim sürecinde akciğerde fibronektin ve laminin reseptörü olan β 1-integrin dağılımlarının immünohistokimyasal olarak gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara 2002
50. Sadler TW. Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri) 9. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara 2005 s: 267-76.
51. Moore KL., Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi (Türkçe Çeviri) 6. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara 2002 s: 257-69.
52. Williams PL. Human Embryology. Churchill Livingstone Longman Group UK Ltd., New York 1993 p: 121-29.

53. Erdoğan D., Hatipoğlu MT., Görgün M., Ilgaz C. Özel Histoloji. Hatiboğlu Yayınevi Ankara 2007 s: 47-57.
54. Hatipoğlu MT., Hatipoğlu HG. Yüksekokullar Anatomi Ders Kitabı. Selvi Yayınları, Ankara 2006 s:145-58.
55. Sancak B., Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi, Baş-Boyun, İç Organlar. 1.Baskı ODTU Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. –METU PRESS-Yayınları, Ankara 1999 s: 142-151.
56. Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 4. Baskı Nobel Kitabevleri Ltd Şti., İstanbul 1999 s: 185-202.
57. Odar IV. Anatomi Ders Kitabı. 2. Baskı Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd Şti., Ankara 1986 s: 189-214.
58. Snell RS. Tıp Öğrencileri İçin Klinik Anatomi (Türkçe Çeviri) 5.Baskı Nobel Kitebevi ve Yüce Yayınları, İstanbul 1998 s: 75-90.
59. Drake KC., Vogl W., Mitchell AW. Gray's Anatomi (Türkçe Çeviri) Güneş Kitabevi, Ankara 2007 s: 140-152.
60. Carola R., Wynsberghe DV., Nobock CR. Human Anatomy and Physiology, Third Ed. McGraw Hill Inc., New York 1995 p: 757-87.
61. Erkoçak A. Özel Histoloji 5.Baskı, İzmir 1984 s: 259-74
62. Jungieria LC., Carneiro J., Kelley RO. Temel Histoloji (Türkçe Çeviri) 7.Baskı Barış Kitabevi, İstanbul 1993 s: 397-419.
63. Gartner PL., Hiatt JL. Colour Text Book of Histology. W.B. Saunders Company, Philedelphia 1997 p: 284-301.
64. Hatipoğlu MT. Anatomi Sözlüğü 4. Baskı Hatiboğlu Kitabevi Ankara 1996

65. Ross MH., Romrell LJ., Kaye GI. Histology, A Text and Atlas, Third Ed. Williams and Wilkins, A Warverly Company Baltimore 1995 p: 530-56.
66. Stevens A., Love J. Human Histology. Second Ed. Mosby, Baltimore 1997 p:159-177.
67. Guyton AC., Hall JE. Tıbbi Fizyoloji (Türkçe Çeviri) 9. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul 1996 s: 477-534.
68. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji (Türkçe Çeviri) 17. Baskı. Barış Kitabevi, İstanbul 1996 s: 790-835.
69. Noyan A. Fizyoloji Ders Kitabı 8. Baskı. Meteksan Matbaacılık ve Teknik Tic. A.Ş. Ankara 1993 s: 491-541.
70. Aydın A., Topuz E. Medikal Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Enstitüsü, İstanbul 2000 s: 116-149.
71. Kehrer JP., Kacew S., et al. Systemically applied chemicals that damage lung tissue. Toxicology. 1985; 35: 251-93.
72. Batist G., Andrews JL., et al. Pulmonary toxicity of antineoplastic drugs. JAMA. 1981; 246: 1449-53.
73. Wilson JKV. Pulmonary toxicity of antineoplastic drugs. Cancer Treat Rep. 1978; 62: 2003-08.
74. Cooper JAD., Jr While DA., Matthay RA., et al. Drug-induced pulmonary disease. Am Rev Respir Dis. 1986; 133: 321-40.
75. Weiss RB., Muggia FM., et al. Cytotoxic drug-induced pulmonary disease. update 1980. Am J Med. 1980; 68: 259-68.
76. Gould VE., Miller J., et al. Sclerosing alveolitis induced by cyclophosphamide. Am J Pathol. 1975; 81: 513-20.

77. Collis CH., Wilson CM., Jones JM., et al. Cyclophosphamide-induced lung damage in mice: protection by a small preliminary dose. *Br J Cancer*. 1980; 41: 901-07.
78. Kumar RK., Truscoll JY., Rhodes GC., Lykke AWJ., et al. Type 2 pneumocyte responses to cyclophosphamide-induced pulmonary injury: functional and morphological correlation. *Br J Exp Pathol*. 1988; 69: 69-80.
79. Patel JW. Stimulation of cyclophosphamide-induced pulmonary microsomal lipid peroxidation by oxygen. *Toxicology*, 1987; 45: 79-91.
80. Eling TE., Thompson DC., Foureman GL., Curtis JF., Hughs MF., et al. Prostaglandin H synthase and xenobiotic oxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1990; 30: 1-45.
81. Kehrer JP., Witschi HP., et al. Effects of drug metabolism inhibitors on butylated hydroxytoluene-induced pulmonary toxicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1980; 53: 333-42.
82. Martin FM., Witschi HP., et al. Cadmium-induced lung injury: cell kinetics and long-term effects. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1985; 81: 215-27.
83. Mark GJ., Lehimgar-Zadeh A., Ragsdale BD., et al. Cyclophosphamide pneumonitis. *Thorax*. 1978; 33: 89-93.
84. Siemann DW., Macler L., Penney DP., et al. Cyclophosphamide-induced pulmonary toxicity. *Br J Cancer*. 1986; 53 (Suppl. 8): 343-46.
85. Collis CH., Steel GG., et al. Lung damage in mice from cyclophosphamide and thoracic irradiation: the effect of timing. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1983; 9: 685-89.
86. Witschi H., Godfrey G., Frome E., Lindenschmidt RC., et al. Pulmonary toxicity of cytostatic drugs: cell kinetics. *Fundament Appl Toxicol*. 1987; 8: 253-62.

87. Rubin P., Siemann DW., Shapiro DL., Finkelstein JW., Penney DP., et al. Surfactant release as an early measure of radiation pneumonitis. *Int J Radial Oncol Biol Phys.* 1983; 9: 1669-73.
88. Travis EL., Bucci L., Fang MZ., et al. Residual damage in Mouse lungs at long intervals after cyclophosphamide treatment. *Can Res.* 1990; 50: 2139-45.
89. Morse CC., Lock SS., Hakinen PJ., Haschek WM., Witschi HP., et al. Pulmonary toxicity of cyclophosphamide: A 1-year study. *Exp Mol Pathol.* 1985; 42: 251-60.
90. Prelich G., Tan CK., Kostura MB., Mathews AG., So KM., Downey B., Stillman B., et al. Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase-delta auxiliary protein. *Nature.* 1987; 326: 517-20.
91. Bartsch C., Kvetnoy I., Kvetnaia T., Bartsch H., Molotkov A., Franz H., Raikhlin N., Mecke D., et al. Nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin and proliferating cell nuclear antigen-immunopositive tumor cells show strong positive correlations in patients with gastrointestinal and lung cancer. *J Pineal Res.* 1997; 23: 90-96.
92. Yu CCW., Woods AL., Levison DA., et al. The assessment of cellular proliferation by immunohistochemistry: a review of currently available methods and their application. *Histochem J.* 1992; 24: 121-28.
93. Kleini PJ., Alanen K., Jalkanen S., Joensuu H., et al. PCNA as a prognostic factor in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer.* 1992; 66: 739-43.
94. Cummings MC., Furnival CM., Parsons PG., Townsend E., et al. PCNA immunostaining in breast cancer. *Aust NZJ Surg.* 1993; 63: 630-36.
95. Shimizu T., Usuda N., Yamada T., Sugeno AA., Iida F., et al. Proliferative activity of human thyroid tumours evaluated by proliferating cell nuclear antigen/cyclin immunohistochemical studies. *Cancer.* 1993; 71: 2807-12.

96. Driehöfer KE., Akerman M., Willem H., Anderson C., Gustafson P., Rydholm A., et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in high-grade malignant fibrous histiocytomas: Prognostic value in 48 patients. *Int J Cancer* 1994; 59: 379-82.
97. Maeda K., Chung YS., Ohoda N., Kato Y., Nitta A., Arimoto Y., Yamada N., Kondo Y., Sowa M., et al. Proliferating cell nuclear antigen labeling index of preoperative biopsy specimen in gastric carcinoma with special reference to prognosis. *Cancer*. 1994; 73: 528-33.
98. Choong PF., Akerman M., Willem H., Anderson C., Gustafson P., Alvegård T., Rydholm A., et al. Expression of PCNA and Ki-67 in soft tissue sarcoma: Is prognostic significance histotype-specific. *Apmis*. 1995; 103: 797-805.
99. Charriaut-Marlangue C., Ben-Ari Y., et al. A cautionary note on the use of the TUNEL stain to determine apoptosis. *Neuroreport*. 1995; 7: 61–65.
100. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 1995; 267: 1456-62.
101. Nagata S., Golstein P., et al. The Fas death factor. *Science*. 1995; 267: 1449-56.
102. Tanel A., Averill-Bates DA., et al. Inhibition of acrolein-induced apoptosis by the antioxidant N-acetylcysteine. *J Pharma Exper Thera*. 2007; 321: 73-83.
103. Constantini P., Jacotot E., Decaudin D., Kroemer G., et al. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1042–53.
104. Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., Srinivasula SM., Ahmad M., Alnemri ES., et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/ caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*. 1997; 91: 479–89.
105. Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis*. 1990; 141: 765–88.

106. Geiser T. Idiopathic pulmonary fibrosis- a disorder of alveolar wound repair? Swiss Med Wkly. 2003; 133: 405–11.
107. Murphy TJ, Takeuchi K, Alexander RW. Molecular cloning of AT₁ angiotensin receptors. Am J Hypertens. 1992; 5: S236–42.
108. Tanaka A, Matsumori A, Wang W, Sasayama S. An angiotensin II receptor antagonist reduces myocardial damage in an animal model of myocarditis. Circulation. 1994; 90: 2051–5.
109. Otsuka M, Takahashi H, Shiratori M, Chiba H, Abe S. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by candesartan cilexetil, an angiotensin II type 1 receptor antagonist. Thorax. 2004; 59: 31–8.
110. Bullock GR, Steyaert I, Bilbe G, Carey RM, Kips J, De Paepe B, et al. Distribution of type-1 and type-2 angiotensin receptors in the normal human lung and in lungs from patients with chronic obstructive pulmonary disease. Histochem Cell Biol 2001; 115: 117–24.
111. Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system. Curr Pharm Des 2003; 9: 715–22.
112. Papp M, Li X, Zhuang J, Wang R, Uhal BD. Angiotensin receptor subtype AT₁ mediates alveolar epithelial cell apoptosis in response to ANG II. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2002; 282: L713–18.
113. Gök M., Yapıcı İ., Uzun K., Erdem S., Ünlü A., Büyükbaş S., et al. Aktif tüberküloz hastalarında total antioksidan kapasitesi ve MDA seviyeleri. TAD. 2006; 4 (2): 22-24.
114. Martensson J., Meister A., et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 4656-60.
115. Martensson J., Jain A., Stole E., Frayer W., Auld PAM., Meister A., et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 9360-64.

- 116.Jain A., Martensson J., Mehta T., Krauss AN., Auld PAM., Meister A., et al. Ascorbic acid prevents oxidative stress in glutathione-deficient mice: Effects on lung type 2 cell lamellar bodies, lung surfactant and skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 5093-97.
- 117.Critchfield JW., Dubick M., Last J., Cross CE., Rucker RB., et al. Changes in response to ascorbic acid administered orally to pups: lung collagen, elastin and protein synthesis. *J Nutr.* 1985; 115: 70-77.
- 118.O'Dell, BL., Kilburn KH., McKenzie WN., Thurston RJ., et al. The lung of the copper deficient rat. *Am. J. Pathol.* 1973; 91: 413-32.
- 119.Lefevre M., Heng H., Rucker HB., et al. Dietary Cd, Zn and Cu: effects on chick lung morphology and elastin cross-linking. *J. Nutr.* 1982; 112: 1763-69.
- 120.Atay A., Barsal G., Kılıç S., Erciyas F., Ertuğrul G., Halilçolar H., et al. Serum ascorbic acid levels in patients with lung cancer. the XVI th National Congress of Chemistry and II nd Bioscience Days (23-27 October 2000, İzmir)
- 121.Yun TK. Update from Asia. Asian studies on cancer chemoprevention. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 889: 157-92.
- 122.Virtamo J. Vitamins and lung cancer . *Proc Nutr Soc* 1999 May; 58 (2): 329-33.
- 123.Tsao CS., Leung PY., Young M., et al. Effect of dietary ascorbic acid intake on tissue vitamin C in mice. *J Nutr.* 1987; 117: 291-97.
- 124.Chatterjee IB., Majumder AK., Nandi BK., Subramanian N., et al. Synthesis and some major functions of vitamin C in animals. *Ann NY Acad Sci* 1975; 258; 24-47.
- 125.Grollman AP., Lehninger AL., et al. Enzymic synthesis of l-ascorbic acid in different animal species. *Arch Biochem Biophys*, 1957; 69: 458-67.

- 126.Chatterie GC., Majunder PK., Banerjee SK., Roy RK., Ray B., Rudrapal D., et al. Relationships of protein and mineral intake to l-askorbic acid metabolism. *Ann NY Acad Sci.* 1975; 258: 382-400.
- 127.Pelletier O. Turnover Rates of D-isoascorbic acid and L-ascorbic acid in guinea pig organs. *Can J Physiol Pharmacol.* 1969; 47: 993-97.
- 128.Hornig D. Metabolism of ascorbic acid. *World Rev Nutr Diet.* 1975; 23: 225-58.
- 129.Tsao CS., Salimi SL., et al. Influence of erythorbic acid on ascorbic acid retention and elimination in the mouse. *Int J Vit Nutr Res.* 1983; 53: 258-64.
- 130.Spector R., Lorenzo AV., et al. Ascorbic acid homeostasis in the central nervous system. *Am J Physiol* 1973; 225: (4) 757-63.
- 131.Sharma SK., Johnstone RM., Quastel JH., et al. Active transport of ascorbic acid in adrenal cortex and brain in vitro and effects of ACTH and steroids. *Can J Biochem Physiol.* 1963; 41: 597-604.
- 132.Bock KW., Schwarz LR., et al. Formation of L-ascorbic acid in perfused rat liver. *Naunyn- Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1974; 284: 307-10.
- 133.Bissell DM., Guzelian PS., et al. Ascorbic acid deficiency and cytochrome P-450 in adult rat hepatocytes in primary monolayer culture. *Arch Biochem Biophys* 1979; 192: 569-76.
- 134.Liotti FS., Tasela V., Menghini AR., et al. Absence of accumulation phenomena in normal and tumoral tissues of mice treated with ascorbic acid. *Int J Vit Nutr Res* 1983; 53: 251-57.
- 135.Leonard SW., Bruno RS., Paterson E., Schock BC., Atkinson J., Bray TM., Cross CE., Traber MG., et al. 5-nitro-gamma-tocopherol increases in human plasma exposed to cigarette smoke in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2003; 35, 1560–67.

- 136.Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am J Med.* 1994; 97: 5–13; discussion, 22–28.
- 137.Böhm F. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *J Am Chem Soc.* 1997; 119: 621–22.
- 138.Black HS. Radical interception by carotenoids and effects on UV carcinogenesis. *Nutr Cancer* 1998; 31: 212–17.
- 139.Handelman GJ., van Kuijk FJ., Chatterjee A., Krinsky NI., et al. Characterization of products formed during the autoxidation of beta-carotene. *Free Radic Biol Med.* 1994; 10: 427–37.
- 140.Palozza P., Krinsky NI., et al. β -Carotene and α -tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch Biochem Biophys.* 1992; 297: 184–87.
- 141.Edge R. Relative one-electron reduction potentials of carotenoid radical cations and the interactions of carotenoids with the vitamin E radical cation. *J Am Chem Soc.* 1998; 120: 4087–90.
- 142.Tölle A., Kolleck I., Schlame M., Wauer R., Stevens AP., Rüstow B., et al. Effect of hyperoxia on the composition of the alveolar surfactant and the turnover of surfactant phospholipids, cholesterol, plasmalogens and vitamin E. *Biochim Biophys Acta.* 1997; 1346: 198–204.
- 143.Clark LC., Combs Jr GF., Turnbull BW., et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. *Nutr Prev Can Stu Gr. JAMA* 1996; 276: 1957-63.
- 144.Reid ME., Duffield-Lillico AJ., Sunga A., et al. Selenium supplementation and colorectal adenomas: An analysis of the nutritional prevention of cancer trial. *Int J Cancer.* 2006; 118: (7) 1777-81
- 145.Klein EA. Selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1031: 234-41.

- 146.Rayman MP. Selenium in cancer prevention: A review of the evidence and mechanism of action. *Prog Nutr Soc.* 2005; 64: (4) 527-42.
- 147.Present Knowledge in Nutrition, 6th Edition, Brown ML etd. 1990
- 148.Recomended Dietary Allowances, 10th Edition, Food and Nutrition Board Subcommitee on the Tenth Edition of the RDAS, Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences, National Research Council. 1989
- 149.Liu C., Russell RM., Wang XD., et al. A-Tocopherol and ascorbic acid decrease the production of β -apo-carotenals and increase the formation of retinoids from β -carotene in the lung tissues of cigarette smoke-exposed ferrets in vitro. *J. Nutr.* 2003; 134: 426-30.
- 150.Wei W., Kim Y., Boudreau, N., et al. Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988–1994. *Am J Public Health.* 2004; 91: 258–264.
- 151.Kim Y., Chongviriyaphan N., Liu C., Russell RM., Wang XD., et al. Combined antioxidant (β -carotene, α -tocopherol and ascorbic acid) supplementation increases the levels of lung retinoic acid and inhibits the activation of mitogen-activated protein kinase in the ferret lung cancer model. *Carcinogenesis.* 2006; 27: 1410-19.
- 152.Alberg AJ., Chen JC., Zhao H., Hoffman SC., Comstock GW., Helzlsouer KJ., et al. Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 1576–82
- 153.Ross MA., Crosley LK., Brown KM., Duthie SJ., Collins AC., Arthur JR., Duthie GG., et al. Plasma concentrations of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. *Eur J Clin Nutr.* 1995; 49: 861–65.
- 154.Bolton-Smith C., Casey CE., Gey KF., Smith WC., Tunstall-Pedoe H., et al. Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnaire:

correlation with biochemical status in smokers and non-smokers. *Br J Nutr.* 1991; 65: 337–46.

155. Theron AJ., Richards GA., Myer MS., van Antwerpen VL., Sluis-Cremer GK., Wolmarans L., van der Merwe CA., Anderson R., et al. Investigation of the relative contributions of cigarette smoking and mineral dust exposure to activation of circulating phagocytes, alterations in plasma concentrations of vitamin C, vitamin E, and beta carotene, and pulmonary dysfunction in South African gold miners. *Occup Environ Med.* 1994; 51: 564–67.

156. Hebert JR., Hurley TG., Hsieh J., Rogers E., Stoddard AM., Sorensen G., Nicolosi RJ., et al. Determinants of plasma vitamins and lipids: the Working Well Study. *Am J Epidemiol.* 1994; 140: 132–47.

157. Stryker WS., Kaplan LA., Stein EA., Stampfer MJ., Sober A., Willett WC., et al. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epidemiol.* 1988; 127: 283–96.

158. Wang XD., Liu C., Bronson RT., Smith DE., Krinsky NI., Russell M., et al. Retinoid signaling and activator protein-1 expression in ferrets given beta-carotene supplements and exposed to tobacco smoke. *J Natl Cancer Inst.* 1999; 91: 60–66.

159. Black HS. Radical interception by carotenoids and effects on UV carcinogenesis. *Nutr Cancer.* 1998; 31: 212–17.

160. Liu C., Wang XD., Bronson BT., Smith DE., Krinsky NI., Russell RM., et al. Effects of physiological versus pharmacological beta-carotene supplementation on cell proliferation and histopathological changes in the lungs of cigarette smoke-exposed ferrets. *Carcinogenesis*, 2000; 21: 2245–53.

161. Yeum KJ., Taylor A., Tang G., Russell RM., et al. Measurement of carotenoids, retinoids, and tocopherols in human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995; 36: 2756–61.

- 162.Rincon M., Flavell RA., Davis RA., et al. The JNK and P38 MAP kinase signaling pathways in T cell-mediated immune responses. *Free Radic Biol Med.* 2000; 28: 1328–37.
- 163.Salgo MG., Cueto R., Winston GW., Pryor WA., et al. Beta-carotene and its oxidation products have different effects on microsome mediated binding of benzo[a]pyrene to DNA. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26: 162–73.
- 164.Liu C., Russell RM., Wang XD., et al. Exposing ferrets to cigarette smoke and a pharmacological dose of β -carotene supplementation enhance in vitro retinoic acid catabolism in lungs via induction of cytochrome P450 enzymes. *J Nutr.* 2003; 133: 173-79.
- 165.Pathak AK., Bhutani M., Guleira R., Bal S., Mohan A., Mohanti BK., Sharma A., Pathak R., Bhardwaj NK., Prasad KN., Kokhupillai V., et al. Chemotherapy alone vs. chemotherapy plus high dose multiple antioxidants in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Ame Col Nutr.* 2005; 24: (1) 16-21.
- 166.Prasad KN., Sinha PK., Ramanujam M., Sakamoto A., et al. Sodium ascorbate potentiates the growth inhibitory effect of certain agents on neuroblastoma cells in culture. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979; 76: 829–32.
- 167.Prasad K., Kumar R., et al. Effect of individual antioxidant vitamins alone and in combination on growth and differentiation of human non-tumorigenic and tumorigenic parotid acinar cells in culture. *Nutr Cancer.* 1996; 26: 11–19.
- 168.Bonomi P., Kim K., Chang A., Johnson D., et al. Phase III trial comparing etoposide & cisplatin versus taxol with cisplatin-G-CSF versus taxol-cisplatin in advanced non small cell lung cancer. An eastern cooperative oncology group (ECOG) trial (Abstr). *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1996; Abstract No: 1145
- 169.Kelly K., Crowley J., Bunn PA., Livingston RB., Gandara DR., et al. A randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbin plus

cisplatin in untreated advanced non small cell lung cancer: a southwest oncology group (SWOG) trial. Proc Am Soc Clin Oncol. 1999; Abstract No: 1777

170. Prasad KN., Hernandez C., Edwards-Prasad J., Nelson J., Borus T., Robinson WA., et al. Modification of the effect of tamoxifen, cis-platin, DTIC and interferon-alpha 2b on human melanoma cells in culture by a mixture of vitamins. Nutr Cancer 1994; 22: 233–45.

171. Seifter E., Rettura A., Padawar J., Levenson SM., et al. Vitamin A and β -carotene as adjunctive therapy to tumor excision, radiation therapy and chemotherapy. In Prasad KN (ed): “Vitamins, Nutrition and Cancer.” Basel Karger. 1984; p: 1–19.

172. Jaakkola K., Lahteenmaki P., Laakso J., Harju E., Tykka H., Mahlberg K., et al. Treatment with antioxidant and other nutrients in combination with chemotherapy and irradiation in patients with smallcell lung cancer. Anticancer Res 1992; 12: 599–606.

173. Drisko JA., Chapman J., Hunter VJ., et al. The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer. J Am Coll Nutr. 2003; 22: 118–23.

174. Lockwood K., Moesgaard S., Hanioka T., Folkers K., et al. Apparent partial remission of breast cancer in ‘high risk’ patients supplemented with nutritional antioxidants, essential fatty acids and coenzyme Q10. Mol Aspects Med. 1994; 15 (Suppl) : 231–40.

175. Frei B., Forte TM., Ames BN., Cross CE., et al. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. Protective effects of ascorbic acid. Biochem J. 1991; 277: 133–38.

X. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Ankara’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi aynı ilde tamamladım. 2002 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdim ve 2006 yılında mezun oldum. 2007 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji programında yüksek lisansa başladım. Evliyim.