

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



**TÜTÜN DUMANINA MARUZ KALAN GEBE
RATLARIN YAVRULARINDA OLUŞACAK
AKCİĞER HASARINA KARŞI ALFA LİPOİK
ASİT'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

ELİF ERDEM

2017

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Enver OZAN

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri


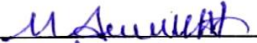
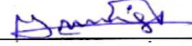
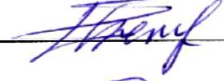
Prof. Dr. i. Enver OZAN

Prof. Dr. Yusuf NERGİZ

Prof. Dr. Murat AKKUS

Prof. Dr. D. Özen DABAİK

Yrd. Doç. Dr. Serkan OZAN



İTHAF SAYFASI

Sevgili Aileme...



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince tecrübelerinden faydalandığım, değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. İ. Enver OZAN 'a, tezimin değerlendirme aşamasında ilgi, öneri ve yardımlarından dolayı tez projesi yardımcı yürütücü hocalarım sayın Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK'a ve Yrd. Doç. Dr. Gonca OZAN' a,

Eğitimim süresince beni yönlendiren, iyi niyetleriyle her zaman destek olan ve her an bilgi birikimlerinden faydalandığım Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri sayın Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU 'na, Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na ve Arş.Gör Nalan KAYA'ya,

Tezime sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP) 'ne,

Son olarak yaşamım boyunca desteklerini hiç esirgemeyen canım aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KAPAK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
İTHAF SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xix
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	5
3. GİRİŞ	9
3.1. Akciğer	9
3.1.1. Akciğer Anatomisi	9
3.1.2. Akciğer fizyolojisi	11
3.1.2.1. Solunum Sistemi Fonksiyonları	11
3.1.2.2. Plevra Membranları	14
3.1.2.3. Pulmoner Ventilasyon	15
3.1.2.4. Akciğerin Fiziksel Özellikleri	16
3.1.2.5. Solunum İşi	18
3.1.2.6. Solunum Zarlarında Gazların Değişimi	19
3.1.3. Akciğer Embriyolojisi	20
3.1.3.1. Solunum Sistem Primordiyumu	20
3.1.3.2. Akciğerlerin Gelişimi	22

3.1.3.3. Akciğerlerin Olgunlaşması	25
3.1.4. Solunum Sistem Histolojisi	29
3.1.4.1. Nazal Kavite ve Paranasal Sinüsler	31
3.1.4.2. Epiglottis	33
3.1.4.3. Nazofarinks	34
3.1.4.4. Larinks	34
3.1.4.5. Trakea	35
3.1.4.6. Bronşlar	37
3.1.4.7. Terminal ve Respiratuar Bronşiyoller	40
3.1.4.8. Pulmoner Alveoller	42
3.1.5. Kan-Hava Bariyeri	44
3.1.6. İntrapulmoner Kan Dolaşımı	44
3.2. Sürfaktan Protein-A	45
3.3. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	51
3.4. Tütün	57
3.4.1. Tütünün içeriği	58
3.4.2. Dünyada ve Türkiye’de Tütün Kullanımı Epidemiyolojisi	59
3.4.3. Çevresel Tütün Dumanı	59
3.4.3.1. Çevresel Tütün Dumanının Sağlık Üzerine Genel Etkileri	62
3.4.3.2. Çevresel Tütün Dumanının Akciğer Üzerine Etkisi	64
3.4.3.3. Çevresel Tütün Dumanı ve Gebelik	65
3.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	69
3.6. Antioksidanlar	74
3.6.1. Alfa Lipoik Asit	76

3.6.1.1. Alfa Lipoik Asit'in Yapısı ve De Nova Sentezi	76
3.6.1.2. Alfa Lipoik Asit'in Diyetle Alımı	78
3.6.1.3. Alfa Lipoik Asit'in Doku Dağılımı ve Metabolik Kaderi	79
3.6.1.4. Alfa Lipoik Asit'in Güvenilirliği ve Toksisitesi	80
3.6.1.5. Alfa Lipoik Asit'in Görevleri	81
4. GEREÇ-YÖNTEM	85
4.1. Deney Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları	85
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	86
4.3. Deney Düzeneği ve Tütün Dumanının Verilmesi	88
4.4. Akciğerlerin Alınması	89
4.5. Akciğer Ağırlıklarının Ölçülmesi	89
4.6. Histolojik Takip ve Boyama	90
4.7. Morfometrik ölçümler	94
4.8. TUNEL Metodu	95
4.9. İmmunohistokimyasal Değerlendirme	97
4.10. Biyokimyasal Analizler	99
4.10.1. Akciğer dokusunda malondialdehit düzeyinin tayini	100
4.10.2. Akciğer dokusunda katalaz aktivitesinin tayini	100
4.10.3. Akciğer dokusunda glutatyon düzeyi tayini	100
4.10.4. Akciğer dokusunda süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini	100
4.11. İstatistiksel Analiz	101
5.BULGULAR	102
5.1.Vücut Ağırlıkları	102
5.1.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları	102

5.1.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları	103
5.2. Rölatif Akciğer Ağırlığı	104
5.2.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları	104
5.2.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları	105
5.2.3. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarına Ait Akciğer Dokularının Makroskopik Bulguları	106
5.3. Işık Mikroskopik Bulgular	107
5.3.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Histolojik Bulguları	107
5.3.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Histolojik Bulguları	114
5.4. Morfometrik Ölçümler	122
5.4.1. Postnatal 7 ve 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarına ait Alveol Sayıları	122
5.5. TUNEL Bulguları	122
5.5.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının TUNEL Bulguları	122
5.5.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının TUNEL Bulguları	125
5.6. Kaspaz-3 immünreaktivitesi	129
5.6.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi	129
5.6.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi	132
5.7. Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi	136
5.7.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi	136
5.7.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi	139

5.8. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü İmmünreaktivitesi	142
5.8.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör İmmünreaktivitesi	142
5.8.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör İmmünreaktivitesi	146
5.9. Biyokimyasal Analizler	150
5.9.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri	150
6. TARTIŞMA	153
7. KAYNAKLAR	179
8. ÖZGEÇMİŞ	207

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Tütün dumanının partikül ve gaz fazı	61
Tablo 2: Serbest Radikaller.	71
Tablo 3: ALA toksisite değerleri	81
Tablo 4: Sıçanlara verilen pelet yemin bileşimi.	86
Tablo 5: Histolojik takip işlem basamakları.	91
Tablo 6: Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama basamakları	92
Tablo 7: Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama basamakları	93
Tablo 8: Masson'un Üçlü Boyama Tekniği	94
Tablo 9: TUNEL boyaması işlem basamakları.	96
Tablo 10: İmmünohistokimyasal boyama prosedürü.	99
Tablo 11: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları	102
Tablo 12: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları	104
Tablo 13: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları	105
Tablo 14: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları	105
Tablo 15: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki histolojik değerlendirmelere ait histoskor tablosu.	108
Tablo 16: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki histolojik değerlendirmelere ait histoskor tablosu	115
Tablo 17: RAC metodu ile belirlenen postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer dokularındaki alveol sayıları	122

Tablo 18: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki apoptotik indeks (%).	123
Tablo 19: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki apoptotik indeks (%).	126
Tablo 20: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki Kaspaz-3 immünreaktivitesi.	129
Tablo 21: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki Kaspaz-3 immünreaktivitesi.	133
Tablo 22: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki SP-A immünreaktivitesi.	136
Tablo 23: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki SP-A immünreaktivitesi	140
Tablo 24: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki VEGF immünreaktivitesi.	143
Tablo 25: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki VEGF immünreaktivitesi	147
Tablo 26: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri	150
Tablo 27: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri	152

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Sağ akciğer, pulmo dexter; medialden görünüş	11
Şekil 2: Solunum sisteminin iletim ve solunum bölgeleri	14
Şekil 3: Respiratuar distress sendrom (RDS) patogenezi	18
Şekil 4: Kan-Hava bariyeri	20
Şekil 5: 4.ve 5.haftalarda trakeaözefageal septumun gelişmesinde ardışık evreler. A ile C arası, laringotrakeal divertikulum ve önbağırsağın, özafagus ve laringotrakeal tüpe bölmelenmesini gösteren, primordiyal farinksin kaudal kısmının lateral görünüşleri. D ile F arası, trakeaözefageal septum oluşumunu ve ön bağırsağın laringotrakeal tüp ve özefagusu nasıl ayırdığını gösteren transvers kesit görüntüsü. Oklar, gelişimden kaynaklanan hücresel değişimi göstermektedir	22
Şekil 6: Akciğer tomurcukları, bronşlar ve akciğerlerin gelişiminde birbirini izleyen evreler	24
Şekil 7: Akciğer gelişiminin aşamalarını gösteren histolojik kesitlerin basit çizimleri. A ve B, akciğer gelişiminin erken evreleri. C ve D, alveolokapiler membran incedir ve bazı kılcal damarların terminal keselere ve alveollere doğru çıkıntı yapar	29
Şekil 8: Bronş ağacının solunum bölümü; iki respiratuar bronşiyole dallanan longitudinal seyirli terminal bronşiyol yapısı (TB). Respiratuar bronşiyollerin (RB) açıldığı alveoler kanallar (AD). Alveoler kanalların sonundaki alveol yapıları ile çevrili alveol keseleri (AS)	41
Şekil 9: Alveoler septumun yapısı ve alveoler lümenindeki makrofajlar.	44
Şekil 10: Oksidatif stres ile indüklenen bazı hastalıklar	72

Şekil 11: Oksidatif stres ile indüklenen hücresel hasar mekanizması	72
Şekil 12: ALA ve DHLA'nın Kimyasal Yapıları	77
Şekil 13: ALA'nın R ve S Formlarının Kimyasal Yapıları	78
Şekil 14: Sperm pozitif vajinal smear görüntüsü.	88
Şekil 15: Deney hayvanlarının tütün dumanına maruz bırakılma düzeneği.	89
Şekil 16: Postnatal 7 günlük yavru sıçan akciğerine ait RAC metodu ile ölçülen alveol sayısı (H&E x10).	95
Şekil 17: Postnatal 7 günlük yavru sıçan görüntüsü	103
Şekil 18: Postnatal 21 günlük yavru sıçan ağırlığının digital terazi ile tartılması	104
Şekil 19: Postnatal 21 günlük yavru sıçan gruplarına ait makroskobik akciğer görüntüleri	106
Şekil 20: Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x10).	108
Şekil 21: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki inflamatuvar hücre artışı, ödem ve hiyalin membran oluşumları (H&E x10).	109
Şekil 22: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde hemorajik alanlar ve perivasküler alanda ödem (H&E x20).	109
Şekil 23: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde bronşa ait epitel dejenerasyonu, lümeneye dökülen hücre ve hemorajik alanlar (H&E x20).	110
Şekil 24: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde hiyalin membran oluşumu ve interalveoler septal kalınlaşma (H&E x40).	110
Şekil 25: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde PAS (+) pozitif hiyalin membran oluşumları (PAS x40).	111

- Şekil 26:** Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde yaygın hemorajik alanlar (Masson'un üçlü boyası x20). 111
- Şekil 27:** Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitinde interalveoler septal kalınlaşma hemorajik alanlar ödem ve inflamatuvar hücre artışı (H&E x10). 112
- Şekil 28:** Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (H&E x40). 112
- Şekil 29:** Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (Masson'un üçlü boyası x20). 113
- Şekil 30:** ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x10). 113
- Şekil 31:** Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x10). 115
- Şekil 32:** Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x40). 116
- Şekil 33:** Kontrol grubuna ait perivasküler bağ doku lifleri (Masson'un üçlü boyası x20). 116
- Şekil 34:** Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar inflamatuvar hücre artışı lümene dökülen hücre ve hiyalin membran oluşumları (H&Ex10). 117
- Şekil 35:** Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki bronşiyal epitel dejenerasyonu lümene dökülen hücre ve hiyalin membran oluşumları (H&E x10). 117
- Şekil 36:** Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki inflamatuvar hücre artışı lümene dökülen hücre, interalveoler septal kalınlaşma ve ödem (H&E x40). 118

Şekil 37: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki bağ doku artışı (Masson'un üçlü boyası x20).	118
Şekil 38: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki yoğun hemorajik alanlar (Masson'un üçlü boyası x20).	119
Şekil 39: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki perivasküler ödem (PAS x40).	119
Şekil 40: Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitinde inflamatuvar hücre artışı interalveoler septal kalınlaşma ve lümene dökülen hücre (H&E x10).	120
Şekil 41: Tütün dumanı +ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (H&E x40).	120
Şekil 42: ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x10).	121
Şekil 43: ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x40).	121
Şekil 44: Kontrol grubu. TUNEL pozitif hücreler. x40.	123
Şekil 45: Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	124
Şekil 46: Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	124
Şekil 47: Tütün dumanı +ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler. x40	125
Şekil 48: ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	125
Şekil 49: Kontrol grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	126
Şekil 50: Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	127
Şekil 51: Tütün dumanı +ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	127
Şekil 52: ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler x40.	128
Şekil 53: Negatif kontrol. TUNEL pozitif hücre görülmemekte. x40.	128

Şekil 54: Kontrol grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada nadir kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	130
Şekil 55: Tütün dumanı grubu. Bronşiyol epitelde yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi. x40.	130
Şekil 56: Tütün dumanı + ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	131
Şekil 57: ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada hafif kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	131
Şekil 58: Negatif kontrol. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi görülmemekte. x40.	132
Şekil 59: Kontrol grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada nadir kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	133
Şekil 60: Tütün dumanı grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	134
Şekil 61: Tütün dumanı grubu. Bronşiyol epitel ve bağ dokusundaki bazı hücrelerde yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi . x40.	134
Şekil 62: Tütün dumanı+ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	135
Şekil 63: ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada hafif kaspaz-3 immünreaktivitesi x40.	135
Şekil 64: Kontrol grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde yaygın SP- A immünreaktivitesi. x40.	137
Şekil 65: Tütün dumanı grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde azalmış SP-A immünreaktivitesi. x40.	137

Şekil 66: Tütün dumanı +ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde SP-A immünreaktivitesi. x40.	138
Şekil 67: ALA grubu. Tip 2 alveoler ve bronşiyol epitel hücrelerinde SP-A immünreaktivitesi. x40.	138
Şekil 68: Negatif kontrol. Alveoler epitelde SP-A immünreaktivitesi görülmemekte. x40.	139
Şekil 69: Kontrol grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde yaygın SP- A immünreaktivitesi. x40.	140
Şekil 70: Tütün dumanı grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde azalmış SP-A immünreaktivitesi. x40.	141
Şekil 71: Tütün dumanı +ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde SP-A immünreaktivitesi. x40.	141
Şekil 72: ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde SP-A immünreaktivitesi. x40.	142
Şekil 73: Kontrol grubu. Damar ve bronş düz kas hücreleri ve bronş epitel hücrelerinde yaygın VEGF immünreaktivitesi. x10.	143
Şekil 74: Kontrol grubu. Damar düz kas hücreleri alveoler epitel hücrelerinde VEGF immünreaktivitesi. x40.	144
Şekil 75: Tütün dumanı grubu. Damar düz kas hücrelerinde azalmış VEGF immünreaktivitesi.x40.	144
Şekil 76: Tütün dumanı +ALA grubu. Damar düz kas hücreleri ve alveoler epitel hücrelerinde VEGF immünreaktivitesi. x40.	145
Şekil 77: ALA grubu. Damar ve bronşiyal düz kas hücreleri ve bronşiyal epitel hücrelerinde VEGF immünreaktivitesi. x40.	145

Şekil 78: Negatif kontrol. VEGF immünreaktivitesi görülmemekte. x20.	146
Şekil 79: Kontrol grubu. Bronş ve bronşiyol düz kas hücreleri ve alveol ve bronş epitel hücrelerinde yaygın VEGF immünreaktivitesi. x20.	147
Şekil 80: Kontrol grubu. Damar düz kas hücreleri alveoler epitel hücrelerinde yaygın VEGF immünreaktivitesi. x40.	148
Şekil 81: Tütün dumanı grubu. Damar düz kas hücrelerinde azalmış VEGF immünreaktivitesi. x40.	148
Şekil 82: Tütün dumanı +ALA grubu. Damar düz kas hücrelerinde ve alveol epitel hücrelerinde VEGF immünreaktivitesi. x40.	149
Şekil 83: ALA grubu. Damar düz kas hücrelerinde yoğun VEGF immünreaktivitesi. x40.	149

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzimin
ALA	: Alfa lipoik asit
ARDS	: Akut respiratuar distress sendromu
ATP	: Adenozin trifosfatı
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
BPD	: Bronkopulmoner displazi
CAT	: Katalaz
CO	: Karbonmonoksit
CO₂	: Karbondioksit
ÇTD	: Çevresel tütün dumanı
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FGF10	: Fibroblast büyüme faktörü 10
GHS-Rd	: Glutatyon redüktaz
GSH	: Glutatyon
GPx	: Glutatyon peroksidaz
H&E	: Hematoksilen- Eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HCN	: Hidrojen siyanür
HDM	: Hiyalin membran hastalığı
Hox	: Homeobox
IL-1	: İnterlökin-1

IL-6	: İnterlökin-6
İPF	: İdiopatik pulmoner fibrozis
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
MDA	: Malondialdehit
N₂	: Azot
nAChRs	: Nikotik asetilkolin reseptörü
NO	: Nitrik oksit
O₂	: Oksijen
PAH	: Polisiklik aromatik hidrokarbon
P_{alv}	: Alveoler basınç
PAS	: Periyodik Asit Schiff
P_{atm}	: Atmosfer basıncı,
P_{ip}	: İntraplevral basınç
RA	: Retinoik asit
RAAS	: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
RAC	: Radial alveoler sayım
RDS	: Respiratuar distress sendromu
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SP-A	: Surfaktan protein-A
SP-B	: Surfaktan protein-B
SP-C	: Surfaktan protein-C
SP-D	: Surfaktan protein-D

- TNF- α** : Tumor nekroz faktör- α
- TUNEL** : Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated
deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling
- VEGF** : Vasküler endotelyal büyüme faktörü



1. ÖZET

Bu çalışma gebelik döneminde tütün dumanına maruz kalan sıçanların yavrularının akciğerlerinde meydana gelen histolojik ve biyokimyasal değişikliklerin belirlenmesi ve bu değişiklikler üzerine, gebelik süresince uygulanan alfa lipoik asitin koruyucu etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızda 6 haftalık ve ortalama 160 ± 10 g ağırlığında 24 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Dişi sıçanlar, erkek sıçanlar ile çiftleştirildi ve vajinal smearda spermin gözlendiği tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi. Gebe sıçanlar grup I (Kontrol), grup II (Tütün dumanı), grup III (Tütün dumanı + Alfa lipoik asit) ve grup IV (Alfa lipoik asit) olmak üzere rastgele 4 eşit gruba ayrıldı.

Grup II, grup III'deki dişi sıçanlar, çiftleşmeden önce sekiz hafta ve gebelik süresince günde iki defa birer saat tütün dumanına maruz bırakıldı. Grup III' deki sıçanlara tütün dumanına ilaveten 20 mg/kg dozunda alfa lipoik asit gün aşırı oral gavaj yolu ile verildi. Grup IV 'deki sıçanlara ise belirtilen süre boyunca sadece 20 mg/kg dozunda alfa lipoik asit gün aşırı oral gavaj yolu ile uygulandı. Doğum ile birlikte bütün uygulamalar durduruldu. Postnatal 7. ve 21.günlerde her bir gruptan yedişer adet olacak şekilde yavrular alınarak vücut ağırlıkları ölçüldü. Deney süresi sonunda tüm gruplardaki yavru sıçanlar dekapite edildi. Sıçanların akciğerleri alınarak, ağırlıkları tartıldı. Akciğerin bir kısmı alınarak rutin histolojik takip serilerinden geçirildi. Elde edilen preparatlar H&E, PAS ve Masson'un üçlü boyası ile boyandı. Ayrıca surfaktan protein A (SP-A), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), kaspaz-3 immünohistokimyasal boyamaları

ve apoptozisin belirlenmesi için de TUNEL metodu uygulandı. Akciğer doku örneklerinin diğer bir kısmı ile de biyokimyasal analizler yapıldı.

Tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 günlük sıçan vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı. Rölatif akciğer ağırlıklarında ise tütün dumanı grubunda kontrole göre anlamlı bir artış ($p<0.05$), tütün dumanı+ALA grubunda ise tütün grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı grubuna ait postnatal 21 günlük sıçan vücut ve rölatif akciğer ağırlıklarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p>0.05$).

Işık mikroskobu altında yapılan histolojik değerlendirmelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerinde inflamatuvar hücre artışı, hemorajik alanlar, ödem, interalveoler septal kalınlaşma, bazı bronş ve bronşiyol epitellerinde dejenerasyon, lümene dökülen epitel hücreleri ve hiyalin membran oluşumları izlendi. Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer kesitlerinde bu histopatolojik bulgularda azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Bu grupta hiyalin membran oluşumlarına ise rastlanılmadı.

RAC metodu ile yapılan morfometrik ölçümlerde postnatal 7 ve 21 günlük kontrol ve ALA grubuna ait sıçan akciğer kesitlerindeki alveol sayılarının yakın olduğu gözlemlendi ($p>0.05$). Tütün dumanı grubuna ait alveol sayılarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubu ile

kıyaslandığında alveol sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$).

Postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer dokularındaki TUNEL pozitif hücre sayıları kontrol grubu ve ALA grubunda benzerdi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubunda anlamlı bir artış saptandı ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tespit edildi ($p<0.05$).

Postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer dokularındaki hem SP-A hem de VEGF immünreaktivitesinde tütün dumanı grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma ($p<0.05$), tütün dumanı +ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı bir artış ($p<0.05$) gözlemlendi. Kaspaz-3 immünreaktivitesinde tütün dumanı grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p<0.05$), tütün dumanı +ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı bir azalma ($p<0.05$) gözlemlendi.

Postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer doku örneklerindeki malondialdehit (MDA) düzeylerinde tütün dumanı grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış ($p<0.05$), tütün dumanı +ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı bir azalma ($p<0.05$) belirlendi. Glutatyon (GSH) düzeyi ve superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinde ise kontrol grubuna göre tütün dumanı grubunda anlamlı bir azalma ($p<0.05$), tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0.05$).

Sonuç olarak çalışmamızın bulguları birlikte değerlendirildiğinde, gebelik süresince tütün dumanı maruziyetinin yenidoğan sıçan akciğer dokularında oksidatif hasar oluşturarak akciğer gelişimi üzerinde morfolojik, histopatolojik ve

fonksiyonel değişikliklere yol açtığı, güçlü antioksidan özelliği bilinen alfa lipoik asidin maternal kullanımının ise tütün dumanı kaynaklı bu oksidatif hasara karşı yenidoğan akciğer gelişimi üzerine koruyucu etki sağlayabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Tütün dumanı, Gebelik, Yenidoğan, Akciğer, Alfa lipoik asit



2. ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF EFFECT OF ALPHA LIPOIC ACID AGAINST DAMAGE ON NEONATAL RAT LUNG TO MATERNAL TOBACCO SMOKE EXPOSURE

This study was carried out to determine the histological and biochemical changes in the lungs of the rat pups exposed to tobacco smoke during pregnancy period and to investigate the protective effects of alpha lipoic acid, which is administered during pregnancy, on these changes.

In our study, 24 six-week old Sprague-Dawley female rats weighing 160 ± 10 g were used. Female rats were mated with male rats and the date on which the sperm was observed in the vaginal smear was considered as the embryonic day zero. The pregnant rats were randomly divided into four equal groups: group I (control), group II (tobacco smoke), group III (tobacco smoke + alpha lipoic acid) and group IV (alpha lipoic acid).

The female rats in the group II, group III were exposed to tobacco smoke twice a day for one hour starting from eight weeks before mating and during pregnancy. In addition to tobacco smoke, 20 mg / kg of alpha lipoic acid was administered via oral gavage to the rats in the group III. Only 20 mg / kg of alpha lipoic acid was administered to the rats in the group IV via oral gavage during the stated period of time. Once after the delivery, all administrations were stopped. On postnatal days 7 and 21, seven pups were taken from each group and their body weights were weighed. At the end of the experimental period, the pups in all groups were decapitated. The lungs of the rats were removed and weighed. A portion of the lung was taken and passed through routine histological follow-up

series. The obtained preparations were stained with the triple paint of H & E, PAS and Masson. In addition to immunohistochemical staining of surfactant protein A (SP-A), vascular endothelial growth factor (VEGF), caspase-3, TUNEL method was also used to determine apoptosis. Biochemical analyzes were performed with some part of the lung tissue specimens.

A significant decrease was observed in the weights of 7-day old postnatal rats of the tobacco smoke group compared to the control group ($p < 0.05$). No significant difference was found between the other groups. Relative lung weights of the tobacco smoke group were found to be significantly increased compared to the control group ($p < 0.05$) whereas that of the tobacco smoke + ALA group was significantly decreased compared to the tobacco smoke group ($p < 0.05$). No statistically significant difference was observed in the body weights and relative lung weights of 21-day old postnatal rats of the tobacco smoke group compared to the control group ($p > 0.05$).

In the histological evaluations performed under light microscopy, inflammatory cell increase, hemorrhagic areas, edema, interalveolar septal thickening, degeneration of some bronchi and bronchial epithelium, epithelial cells that were fallen into the lumen and hyaline membrane formation were observed in the lung sections from 7- and 21-day old postnatal rats of the tobacco smoke group compared to the control group. These histopathological findings were observed to be decreased in the lung sections of the tobacco smoke + ALA group ($p < 0.05$). Hyaline membrane formation was not detected in this group.

In morphometric measurements performed with the RAC method, the alveolar numbers in the lung sections from 7- and 21-day old postnatal rats of the

control and ALA groups were observed to be close to each other ($p > 0.05$). A statistically significant decrease was found in the alveolar numbers of the tobacco smoke group when compared to the control group ($p < 0.05$). There was a statistically significant increase in the alveolar numbers in the tobacco smoke + ALA group compared to the tobacco smoke group ($p < 0.05$).

The TUNEL positive cell numbers in the lung tissues from 7- and 21-day old postnatal rat groups were similar in the control group and ALA group ($p > 0.05$). When compared with the control group, a significant increase was detected in the tobacco smoke group ($p < 0.05$). A significant decrease was detected in the tobacco smoke + ALA group when compared with the tobacco smoke group ($p < 0.05$).

In terms of the immunoreactivity of both SP-A and VEGF in the lung tissues from 7 and 21-day old postnatal rats, a significant decrease was observed in the tobacco smoke group compared to the control group ($p < 0.05$) and a significant increase was observed in the tobacco smoke + ALA group compared to the tobacco smoke group ($p < 0.05$). Regarding the immunoreactivity of caspase-3, there was a statistically significant increase in the group of tobacco smoke compared to the control group ($p < 0.05$) and a significant decrease in the group of tobacco smoke + ALA compared to the group of tobacco smoke ($p < 0.05$).

The malondialdehyde (MDA) levels in the lung tissue samples from 7 and 21-day old rats were determined to be significantly increased in the tobacco smoke group compared to the control group ($p < 0.05$) and they were determined to be significantly decreased in the tobacco smoke + ALA group compared to the tobacco smoke group ($p < 0.05$). Glutathione (GSH) levels and superoxide

dismutase (SOD) enzyme activities showed a significant decrease in the group of tobacco smoke compared to the control group ($p < 0.05$) and a statistically significant increase in the tobacco smoke + ALA group compared to the group of tobacco smoke ($p < 0.05$)

In conclusion, when the results of our study are evaluated together, we suggest that the exposure of tobacco smoke during pregnancy leads to morphological, histopathological and functional changes on lung development by causing oxidative damage in lung tissues of neonatal rats and the maternal use of alpha lipoic acid, which is known to have strong antioxidant properties, can provide a protective effect on the neonatal lung development against this oxidative stress originating from tobacco smoke.

Keywords: Tobacco smoke, Pregnancy, Neonate, Lung, Alpha lipoic acid

3. GİRİŞ

3.1. Akciğer

3.1.1. Akciğer Anatomisi

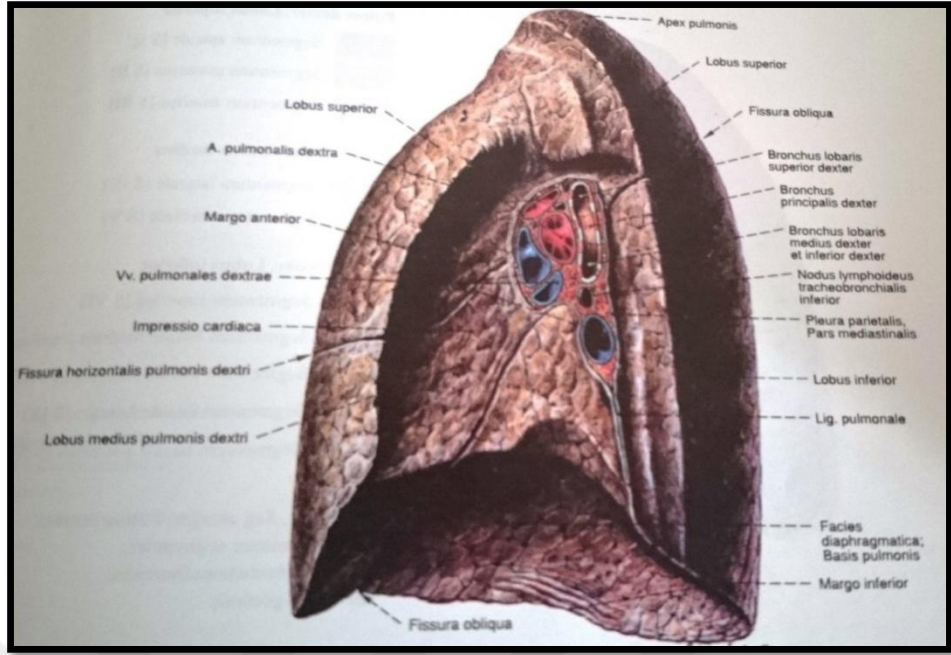
Göğüs boşluğunun (cavitas thoracis) en önemli yerini işgal eden akciğerler, kalbin de yer aldığı mediastinum'un her iki yanında bulunurlar. Süngerimsi elastik bir yapıya sahip akciğerlerin dış yüzü düz ve parlaktır. Burada akciğer lobcuklarına uyan çok kenarlı alanlar görülür. İnsanlarda sağ akciğer yaklaşık 625 gr, sol akciğer ise 567 gr kadardır. Erkeklerde vücut ağırlığının yaklaşık 1/37'si, kadınlarda ise 1/43'ü kadardır. Yenidoğanda akciğerler pembemsi beyaz renkte iken yaş ilerledikçe kirli havanın solunmasıyla biraz gri renk alır. Bu koyu renk, solunum ile alınan karbon zerreciklerinin akciğer dış yüzüne yakın kısımlarında birikmesiyle oluşur.

Akciğerlerin koni şeklinde olması nedeniyle, apeks pulmonis denilen bir tepesi, basis pulmonis denilen bir tabanı vardır. Facies costalis, facies mediastinalis, facies diaphragmatica (basis pulmonis) ve facies interlobaris olmak üzere dört yüzü, margo anterior, margo posterior ve margo inferior olarak isimlendirilen üç kenarı vardır (1, 2). Akciğerlerin mediastinum'da, yani birbirine bakan iç yüzeyinde impressio cardiaca denilen kalbin oturduğu büyük bir çukurluk vardır. Impressio cardiaca'nın arka ve üst kısmında hilum pulmonis yer alır. Buradan akciğere ait sinir, damar ve bronşlar girip çıkarlar. Girip çıkan bu oluşumların tümüne radix pulmonis adı verilir (1).

Sağ akciğer; lobus superior, lobus medius ve lobus inferior pulmonis dextri olmak üzere üç lobdan meydana gelir. Bu loblar birbirinden fissura obliqua ve fissura horizontalis denilen yarıklar ile ayrılır (Şekil 1). Sol akciğer ise lobus

superior ve lobus inferior pulmonis sinistri olmak üzere iki lobdan oluşur ve loblar birbirinden fissura obliqua ile ayrılır. Akciğerlere giren bronchus principalis, bronchus lobaris'lere, bronchus lobaris'ler de bronchus segmentalis denilen daha ince dallara ayrılır. Her bir bronchus segmentalis, yapı ve fonksiyon olarak ayrı bir birim oluşturan ve akciğerin diğer bölümleri ile fonksiyonel ilişkisi bulunmayan bir yapıyı şekillendirir. Bu fonksiyonel birime segmentum bronchopulmonale (bir akciğer segmenti) denir. Akciğerin fonksiyonel ve besleyici olmak üzere iki farklı arteriyel damar sistemi vardır. Organın fonksiyonel damarlarını arteria pulmonalis ve vena pulmonalisler, besleyici damarlarını ise arteria bronchialis ve vena bronchialisler oluşturur.

Akciğerlerde yüzeysel ve derin olmak üzere iki grup lenf damar ağı bulunur. Lenf akımının yönü akciğer periferinden hilum pulmonis'e doğrudur. Yüzeysel lenf damarları pleura visceralis'in altında zengin bir ağ oluşturarak pleura visceralis ve akciğeri drene eder. Bu lenfatik ağ, hilum pulmoniste bulunan nodi lymphatici bronchopulmonales'e dökülür. Bu düğümden çıkan lenf damarları da bifurcatio trachea'nın üst ve alt kısımlarında bulunan nodi lymphatici tracheobronchiales superiores ve nodi lymphatici tracheobronchiales inferiores'e açılırlar. Derin lenf damarları ise akciğer damarları ile birlikte uzanırlar. Bu damarlar önce akciğer parankiması içinde büyük bronchuslar boyunca sıralanan nodi lymphatici pulmonales'e açılırlar. Bu düğümlerden çıkan lenf damarları yine kalın bronchus ve damarları izleyerek hilum pulmonisteki nodi lymphatici bronchopulmonales'e daha sonrada nodi lymphatici tracheobronchiales'e açılırlar. Yüzeysel ve derin lenf damarları birlikte truncus bronchomediastinalis'lere açılarak genel lenf dolaşımına katılırlar (2).



Şekil 1. Sağ akciğer, pulmo dexter; medialden görünüş (3).

3.1.2. Akciğer fizyolojisi

Solunum sistemi solunum yollarından ve solunum organı olan akciğerlerden oluşur. Soluk alma sırasında hava burundan veya ağızdan farinkse geçer. Farinks, özefagus ve larinks olmak üzere ikiye ayrılır. Larinks aşağıda trake ile devam eder. Trakea ise her biri akciğere giren iki bronşa (sağ ve sol primer bronş) ayrılır. Daha sonra bronş yapılarında akciğerler içinde giderek küçülen, ama toplam yüzeyi artan dallanmalar gerçekleşir. Trakea ve alveoller arasındaki havayolları ortalama 23 kez dallanır. Bu dallanmalar sonucu çap giderek azalırken toplam kesit yüzeyi artar. Toplam kesit yüzeyi trakeada 5 cm² iken alveollerde 1.800 cm²'e çıkar. Bu nedenle küçük hava yollarında havanın akış hızı çok düşük değerlere iner.

3.1.2.1. Solunum Sistemi Fonksiyonları

Solunum sistemi kan ve dış çevre arasında homeostaz için gerekli oksijen (O₂) ve karbondioksit (CO₂) değişiminde görev alır. Dokularda oluşan CO₂

atmosfer havasına verilir, atmosferden alınan O₂ ise kana geçerek dokulara ulaşır. Ayrıca vücudun hidrojen iyon konsantrasyonunun düzenlenmesinde, mikroplara karşı korumada, konuşma seslerinin oluşmasında (fonasyon), kan basıncını ve sıvı dengesini düzenleyen bir hormonal sistem olan renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde (RAAS) görev alan anjiyotensin dönüştürücü enzimin (ACE) sentezlenmesinde görev alır. Kan basıncı düştüğünde proteolitik bir enzim olan renin böbreğin jukstaglomerüler hücrelerinden salgılanarak karaciğerde sentezlenen anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e çevirir. Anjiyotensin I, akciğer kılcak damarlarından geçerken damar endotelinden salgılanan ACE ile anjiyotensin II'ye dönüştürülür. Anjiyotensin II ise kan damarlarında kan basıncının artmasını sağlayan vazokonstriksiyonu oluşturur ve adrenal korteksten aldosteron salgısını uyarak böbrek tübüllerinden kana sodyum ve su geri alımını artırır. Böylece vücudun sıvı miktarı ve kan basıncının artışı sağlanmış olur.

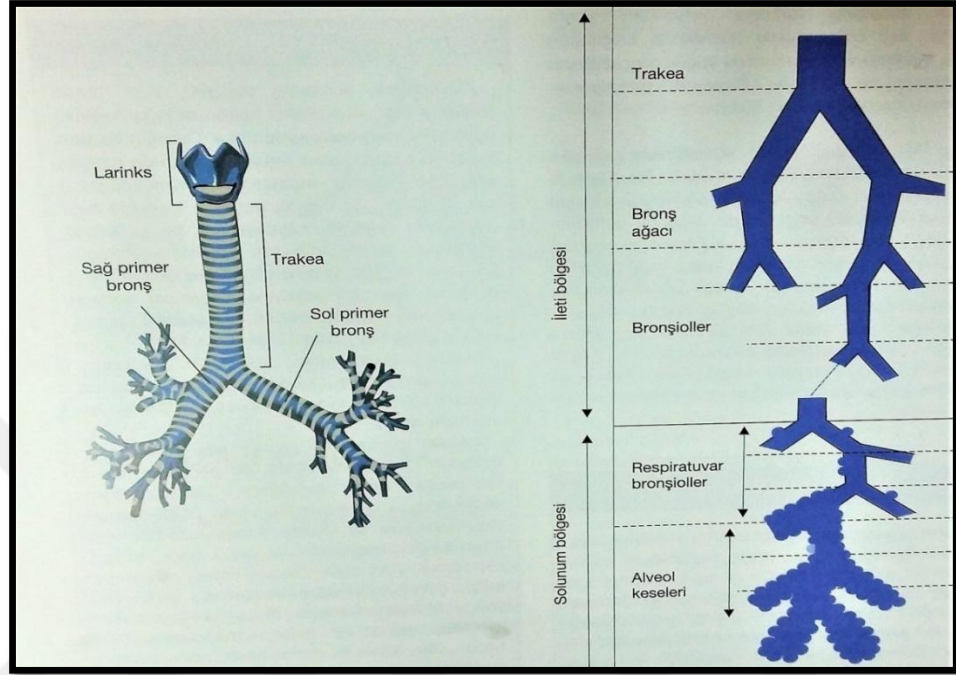
Mikropların vücudumuza girmek için kullandıkları yollardan biri de solunum yollarıdır. Doğrudan veya toz, damlacık ve diğer maddeler ile birlikte taşınan mikroorganizmalar burun kılları, mukoza salgıları ve solunum mukozalarında bulunan siliyer hücrelerin hareketi ile dışarı atılmaya çalışılır. Öksürük refleksi ve hapşırma da bu fonksiyonu kolaylaştırır. Bu engelleri aşarak alveollere ulaşabilen mikroplar ise fagositoz yapabilen alveoler makrofajlar tarafından yutularak solunum yollarından uzaklaşmaları sağlanır.

Fizyolojik olarak solunum sistemi, havayı solunum bölgesine ileten iletim bölgesi ve hava ile kan arasında gaz değişiminin meydana geldiği solunum bölgesi olmak üzere iki bölgede incelenir. İletim bölgesi havanın respiratuar bronşiyollere ulaşmadan önce geçtiği burun, ağız, farinks, larinks, trakea, primer

bronşlar ve terminal bronşiyolleri içine alan bütün anatomik yapıları içerir. Solunum bölgesi ise hava ve kan arasındaki gazların değişiminin gerçekleştiği, terminal bronşiyollerden sonraki yapılar olan respiratuar bronşiyol ve terminal solunum birimini içeren yapılardır (Şekil 2). Terminal solunum birimi (primer lobül, asinüs, temel fizyolojik ünite) akciğerlerin fonksiyonel birimidir. Yetişkin insan akciğeri yaklaşık 60.000 terminal solunum birimine sahiptir. Her birim ortalama 250 alveoler kanal ve 5.000 alveol içerir. Alveoler kanallar, duvarlarında düz kas bulunan en distal hava yollarıdır. Bunlardan sonra kaslar kaybolur. Alveoller ise polihedral yapılardır. Bitişik alveollerdeki hava alveol duvarıyla ayrılır. Ancak bir kümenin bir üyesindeki hava, alveoler porlar (kohn delikleri) aracılığıyla diğer üyelere geçebilir. Birbirine komşu alveoller arasındaki 2-13 mikron çapındaki kohn delikleri alveol havayolu tıkanıklıklarında önemli görev üstlenirler. Bir miktar hava, komşu alveollerden bu porlar aracılığıyla alveole girebilir. Alveollerin yüzeyinde ise çok zengin bir kılcac damar ağı bulunur.

İletim bölgesindeki yapılar, havanın iletilmesinin yanı sıra alınan havanın ısıtılmasında, nemlendirilmesinde, filtrasyonunda ve temizlemesinde de görev alır. Hava burundan geçerken konkalar ve septumun 160 cm²'yi bulan yüzeyi tarafından ısıtılır. Nemlendirme işlemi ise bu yolların üzerinden su moleküllerinin gaz fazına geçmesi ile sağlanır. Atmosfer havasının ısı ve nemi ne olursa olsun alınan hava solunum bölgesine ulaştığında ısı 37 °C'a çıkar ve su buharı ile doyurulur. Havanın temizlenmesinde ise burun girişindeki kıllar ve türbülans çökme ile uzaklaştırılır. Konka, septum ve farinks yapılarına çarpan hava yönünü değiştirmek zorunda kalır. Havada asılı duran parçacıklar özgül ağırlıkları nedeniyle hava kadar hızlı yön değiştiremez. Mukoza örtüsü tarafından tutularak

silyalarla farinkse iletildikten sonra yutulurlar. İletim bölgesindeki mukus, solunan havadaki küçük parçacıkların yakalanmasını sağlayarak filtrasyon fonksiyonunun gerçekleştirilmesine katkıda bulunur (4).



Şekil 2. Solunum sisteminin iletim ve solunum bölgeleri (4).

3.1.2.2. Plevra Membranları

Akciğerler plevra denilen çift katlı bir zarla çevrilidir. Plevranın birbirinin devamı olan iki yaprağından biri visseral plevra, akciğerlerin yüzeyini örterken, diğer yaprağı paryetal plevra ise toraks duvarının iç yüzünü döşer. Visseral ve paryetal plevra yaprakları arasındaki boşluğa intraplevral boşluk denir. Her iki akciğere ait intraplevral boşluklar birbirleriyle ilişkili değildir. Normal şartlarda intraplevral boşlukta hava bulunmaz, plevra membranları tarafından salgılanan 50-60 milimetrelik bir sıvı bulunur. İntraplevral alanda alveoler basınçtan (Palv) daha az olan subatmosferik (negatif) bir basınç vardır. Bu basınç intraplevral basınç (Pip) olarak isimlendirilir. İntraplevral basınç -4 mmHg'dır. Bu yüzden

akciğer duvarlarının iki tarafında bir basınç farkı vardır; Palv ve Pip arasındaki bu farka transpulmoner basınç denir. Transpulmoner basınç ($Palv - Pip = 0 - (-4) = 4$ mmHg) akciğerlerin açık tutulmasını, yani akciğerleri kollarıstan koruyarak gergin kalmasını sağlar. Göğüs duvarını dışa hareketten koruyan 4 mmHg'lık bir basınç farkı da vardır. Toraks duvarının iç tarafındaki Pip ve dış tarafındaki atmosfer basıncı (Patm) arasındaki bu basınç farkına transtorakal basınç denir ve 0 mmHg'dir. Bu basınç içe doğrudur ve toraks duvarının dışa doğru hareketine karşı koyar (4).

3.1.2.3. Pulmoner Ventilasyon

Solunum terimi birbiriyle ilgili üç fonksiyonu içerir;

1. Ventilasyon: Havanın atmosferle akciğer alveolleri arasında giriş-çıkışı
2. Gaz değişimi: O₂ ve CO₂ 'nin alveollerle kan arasında değişimi (akciğerlerde gerçekleşir) ve kan ile vücudun diğer dokuları arasında değişimi (dokularda gerçekleşir)

3. Hücrenin enerji serbestleyen reaksiyonlarında O₂ kullanımı

Ventilasyon ve alveol-kan arasındaki gazların değişimi dış solunum olarak isimlendirilir. Kan ile dokular arasında gaz değişimi ve O₂ kullanımı ise iç solunum olarak isimlendirilir. Ventilasyon, havanın solunum sistemi içine veya dışarı hareketine karşılık gelir. Havanın hareketi basınç farklılıkları ile gerçekleşir. Havanın akciğerlere giriş-çıkışında önemli olan basınçlar, Patm ve Palv'dir. Palv Patm'nin altına düştüğünde ($Palv < Patm$) hava içeri girer ve inspirasyon olayı gerçekleşir. Palv Patm'nin üstüne çıktığında ($Palv > Patm$) ise hava dışarı çıkar ve ekspirasyon gerçekleşir (4).

3.1.2.4. Akciğerin Fiziksel Özellikleri

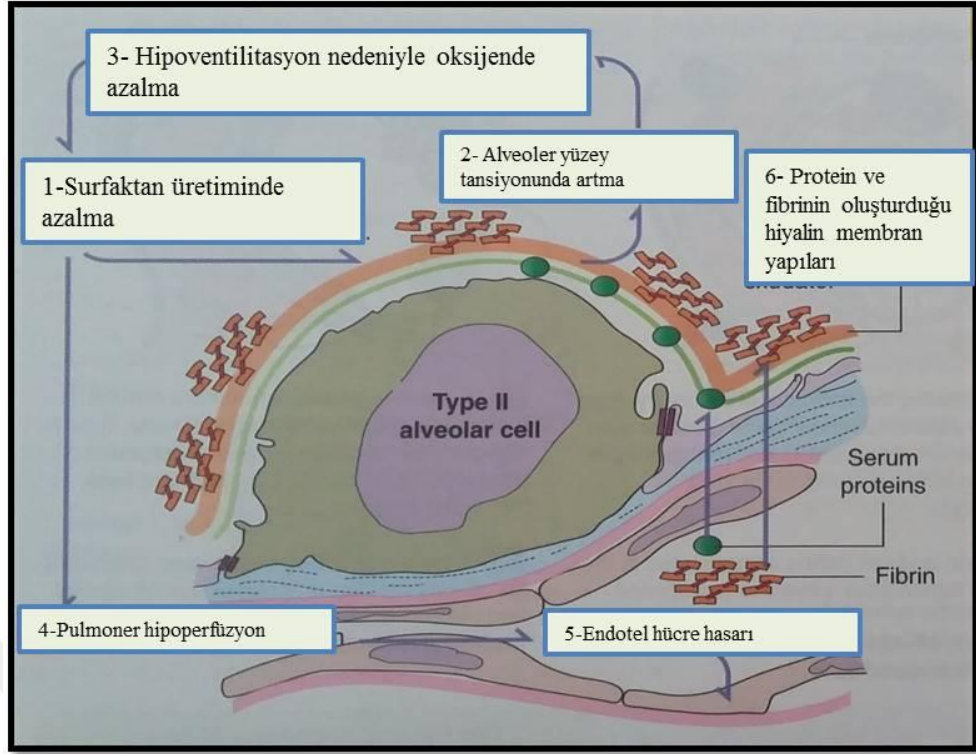
Akciğer hacmindeki değişiklikler toraksın hacim değişiklikleri sonucu oluşur. Bu nedenle ventilasyon, akciğerlerin kompliyans, elastisite ve yüzey gerilimini içeren fiziksel özelliklerinden etkilenir. Akciğer ve toraksın genişleme yeteneğine kompliyans denir. Kompliyansın artması durumunda akciğerlerin genişlemesi daha kolaydır. Aksine kompliyansın azalması, akciğerde belli bir miktar genişleme için daha büyük bir transpulmoner basınç gerektirir. Sağlıklı bir akciğerde terminal hava yolları ve alveollerde çok az bağ dokusu vardır. Ancak bazı hastalıklarda bağ dokusu artışına bağlı olarak görülen akciğer dokusundaki kalınlaşma akciğer kompliyansını azaltır.

Elastisite bir yapının gerilmeden sonra başlangıçtaki haline dönme eğilimine karşılık gelir. Akciğerler yüksek konsantrasyonda elastin ve kollajen fibrilleri içerir. Bu nedenle çok esnek ve genişlemeye (kompliyans) dirençlidir. Bu direnç elastik direnç olarak isimlendirilir. Akciğerler genişlediği zaman elastin ve kollajen fibrilleri gerilir, boyları uzar ve eski durumlarına dönmek için elastik bir kuvvet oluşturur. Normalde akciğerler göğüs duvarına yapışmış olduklarından daima elastik bir gerilimdedir. Bu gerilim inspirasyon sırasında akciğerler genişlediğinde artar, ekspirasyon sırasında ise elastik büzülme nedeniyle azalır. Akciğerler ve diğer toraks yapılarının elastisitesi ekspirasyon sırasında havanın dışarı hareketine yardım eder.

Yüzey gerilimi bir sıvı özelliğidir ve her sıvı-gaz yüzeyinde gelişir. Alveoller normalde çok ince bir sıvı tabakası içerirler. Bu alveol sıvısı yüzey gerilimini düşürmede görev alan surfaktan denilen bir bileşik içerir. Surfaktan tip 2 alveoler hücreler tarafından sentezlenen ve depolanan daha sonra ekzositoz

yoluyla salgılanan, çok sayıda fosfolipit, protein ve iyon bileşenlerini içeren bir karışımdır. En önemli bileşenleri dipalmitilfosfatidilkolin, fosfatidilgliserol, surfaktan apoproteinleri ve kalsiyum iyonlarıdır. Surfaktan, akciğerlerde kollabe edici yüzey gerilimini azaltarak alveollerin kollapsını önler, alveolleri stabilize eder, alveollerin eşit büyüklükte olmasını sağlar ve alveollerde ödem sıvısının birikmesini önler (4).

Surfaktan sentezi fetüslerde gestasyonel 35.haftadan sonra başlar ve kortizol, insülin, prolaktin ve tiroksin gibi birçok hormonla kontrol edilir. Fakat bazı genetik mutasyonlar, patolojik durumlar ve bazı sentetik maddelerin eksikliği gibi durumlarda surfaktan mekanizması değişikliğe uğrar. Bu değişiklikler sonucu meydana gelen surfaktan yetersizliğinde, kan-hava yüzey gerilimi yükselerek ekspirasyon sırasında alveollerin kollabe olmalarına (atelektazik akciğer) yol açar (5, 6). Tip 2 alveoler hücreler tarafından yetersiz surfaktan üretimi sonucu alveoler yüzey tansiyonunda artma, hipoventilasyon sonucu O₂ düşüklüğü (hipoksi) ve CO₂ tutulması meydana gelir. Bütün bu olaylar sonucu damarlarda gelişen pulmoner hipoperfüzyon endotel hücre hasarına yol açarak, alveoler boşluğa protein ve fibrinden zengin sıvının sızmasına ve hiyalin membran yapısının oluşmasına neden olur (Şekil 3). Solunum güçlüğü sendromu da denilen yenidoğanlarda görülen bu duruma respiratuar distress sendromu (RDS) denir (7). RDS, yenidoğan bebeklerin önemli mortali ve morbitide nedenlerinden biridir. Surfaktan yapımını artırmak amacıyla prematüre bebeklere glukokortikoid veya eksojen surfaktan uygulamaları RDS'ye bağlı morbitide ve mortalitenin azalmasına ve 5.5 aylık bebeklerin dahi yaşatılabilmesine olanak sağlamıştır (6).



Şekil 3. Respiratuar distress sendrom (RDS) patogenezi (7).

3.1.2.5. Solunum İşi

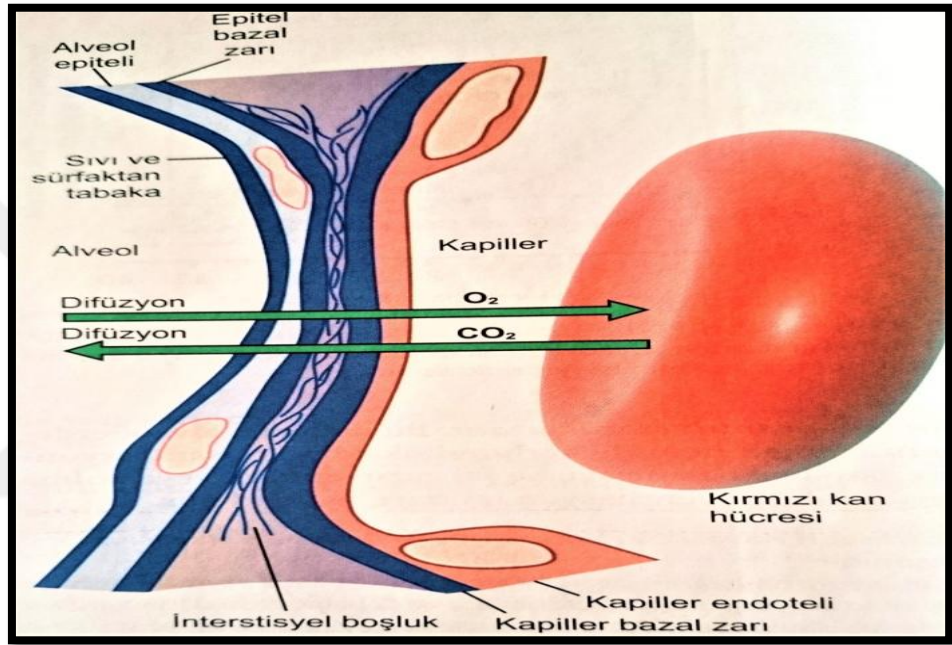
Normal sakin solunumda tüm kas kasılmaları sadece inspirasyon sırasında oluşur. Buna karşın ekspirasyon neredeyse tamamen akciğer ve göğüs kafesi yapılarının elastik geri kaçma yeteneği ile meydana gelen pasif bir olaydır. Böylece dinlenme durumlarında solunum kasları normal olarak, ekspirasyonu değil inspirasyonu gerçekleştirmek için iş yapar. İnspirasyon, kompliyans işi veya elastik iş olarak isimlendirilen akciğer ve göğüsün elastik kuvvetlerine karşı akciğerleri genişletmek için gereken iş, doku direnci işi olarak isimlendirilen akciğer ve göğüs duvarı yapılarının viskozitesini yenmek için yapılan iş ve havayolu direnci işi olarak isimlendirilen akciğerlere hava girişi sırasında havayolu direncini yenmek için gereken iş olarak üç bölüme ayrılır (8). İnspirasyonda, diyafragmanın aşağıya doğru hareketi toraksın vertikal çapını,

eksternal interkostal kasların kasılması ise kaburgaların dışa ve yukarıya doğru hareketini sağlayarak transvers ve anteroposterior çapları artırır. Bu volüm artışı ile alveoller içerisindeki gaz basıncı P_{atm} 'nin altına düşerek havanın akciğerlere girmesi sağlanır. Ekspirasyon sırasındaki pasif hareket ise havanın akciğerlerden dışarı çıkartılmasını sağlar ve $P_{alv} = P_{atm}$ 'ye ulaştığında ekspirasyon sonlanır. Ekspirasyonda diyafram ve eksternal interkostal kasların kasılması durur. Göğüs duvarı içe doğru hareket eder. P_{ip} ve transpulmoner basınç inspirasyon öncesi değerine döner. Alveoller kasılma öncesi boyutlarına geri çekilir. Akciğerlerdeki hava sıkıştırılır. $P_{alv} > P_{atm}$ hale gelir ve hava akciğerlerden dışarı çıkar (8, 9).

3.1.2.6. Solunum Zarlarında Gazların Değişimi

Alveollerin taze hava ile havalandırılmasından sonra, solunum sürecinin bir sonraki adımı, O_2 'nin alveollerden pulmoner kana ve CO_2 'nin zıt yönde pulmoner kandan alveollere difüzyonudur (Şekil 4). Difüzyon süreci moleküllerin solunum zarı ve komşu sıvılar arasında basitçe bütün yönlerde rastlantısal hareketleridir (8). Net difüzyon daima yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğrudur ve her bir gazın difüzyon hızı o gazın parsiyel basıncı ile doğru orantılıdır (4). Alveol gazları pulmoner kapilerdeki kana çok yakın bulunurlar. Alveol havası ve pulmoner kan arasındaki gaz değişimi sadece alveollerde değil, aynı zamana akciğerlerin tüm terminal kısımlarındaki zarlar boyunca da gerçekleşir. Bütün bu zarlar topluca solunum zarı ya da pulmoner zar olarak adlandırılır. Solunum zarının tabakaları; alveolü kaplayan sıvı tabakası ve alveol sıvısının yüzey gerilimini azaltan surfaktan, ince epitel hücrelerinden oluşan alveol epitel, epitel bazal membranı, alveol epitel ile kapiler membran arasındaki ince interstisyel boşluk ve birçok yerde alveol epiteline ait bazal

membranı ile kaynaşmış olan kapiler bazal membrandan oluşur. Çok sayıda tabakaya rağmen solunum zarının tüm kalınlığı bazı alanlarda 0,2 mikrometre ve hücre çekirdeklerinin bulunduğu kısımlar hariç, kalınlık ortalama yaklaşık 0,6 mikrometredir (8). Normal erişkinde solunum zarının toplam yüzey alanı 70 m²'dir (4). Herhangi bir anda akciğer kapillerlerinde bulunan toplam kan miktarı ise 60-140 mililitredir (8).



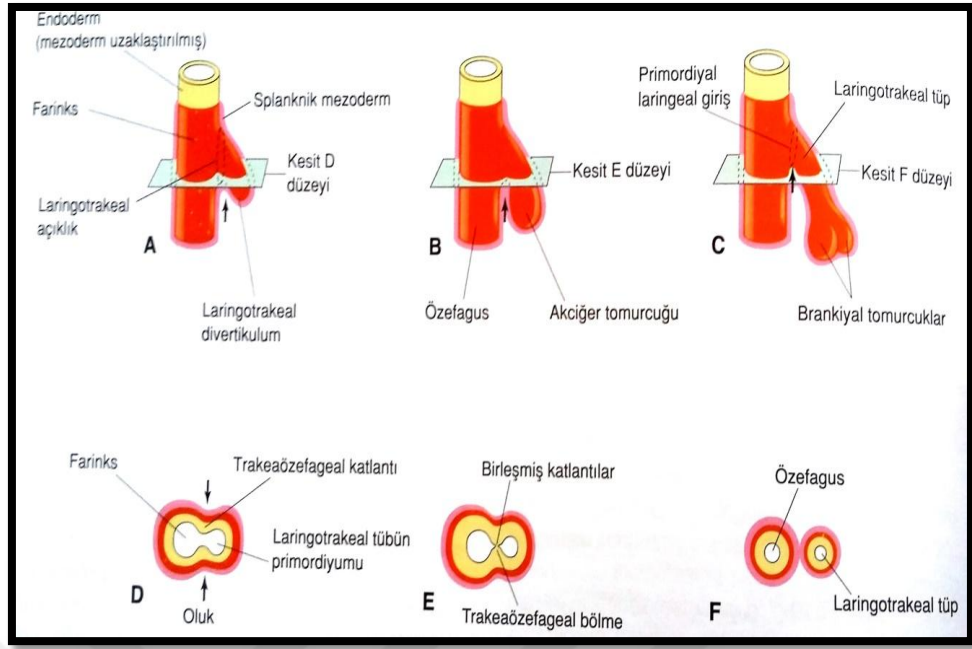
Şekil 4. Kan-Hava bariyeri (8).

3.1.3. Akciğer Embriyolojisi

3.1.3.1. Solunum Sistem Primordiyumu

Solunum primordiyumu, ilkel farinks ventral duvarının kaudal ucunda, orta hatta yaklaşık 28.günde laringotrakeal oluk olarak ortaya çıkar. Trakeobrankiyal ağacın bu primordiyumu, 4.faringeal cep çifti kaudalinde gelişir. Laringotrakeal oluğun endodermal döşemesi bronşların epitel ve bezlerini, akciğer epitelini, larinksi, trakeayı meydana getirir. Bu yapılardaki bağ dokusu, kıkırdak ve düz kaslar ise ön bağırsak çevresindeki splanknik mezodermden gelişir. 4.hafta

sonuna gelindiğinde laringotrakeal oluk, ön bağırsağın kaudal ucunda ventralde yerleşik kese şeklinde bir laringotrakeal divertikulum oluşturacak şekilde bir kabartı meydana getirir. Bu divertikulum, uzadıkça splanknik mezoderm ile kuşatılır ve distal ucu yuvarlak solunum tomurcuğunu oluşturmak üzere genişler. Laringotrakeal uzantı, kısa sürede primordiyal farinksten ayrılır, ancak primordiyal laringeal giriş ile bağlantısını devam ettirir. 5.haftanın sonunda laringotrakeal divertikulumda gelişen uzunlamasına trakeaözefageal katlantılar birbirlerine yaklaşarak birleşir ve trakeaözefageal septum adındaki bölme oluştururlar. Bu septum, ön bağırsağın kranial bölümünü laringotrakeal tüpü (larinksin, trakeanın, bronşların ve akciğerlerin primordiyumu) oluşturan ventral ve dorsal kısma (orofarinks ve özefagus primordiyumuna) ayırır (Şekil 5). Bu dorsal-vental kısımların oluşumunda ve trakea-özefageal ayrılmada transkripsiyon faktör NKX2-1 (ventral) ve SOX2 ekspresyonları (dorsal) kritik rol oynar. Ventral parça, laringotrakeal tüpü oluşturur. Laringotrakeal tüpün farinkse açıldığı yer ise, primordiyal laringeal girişi oluşturur (10).



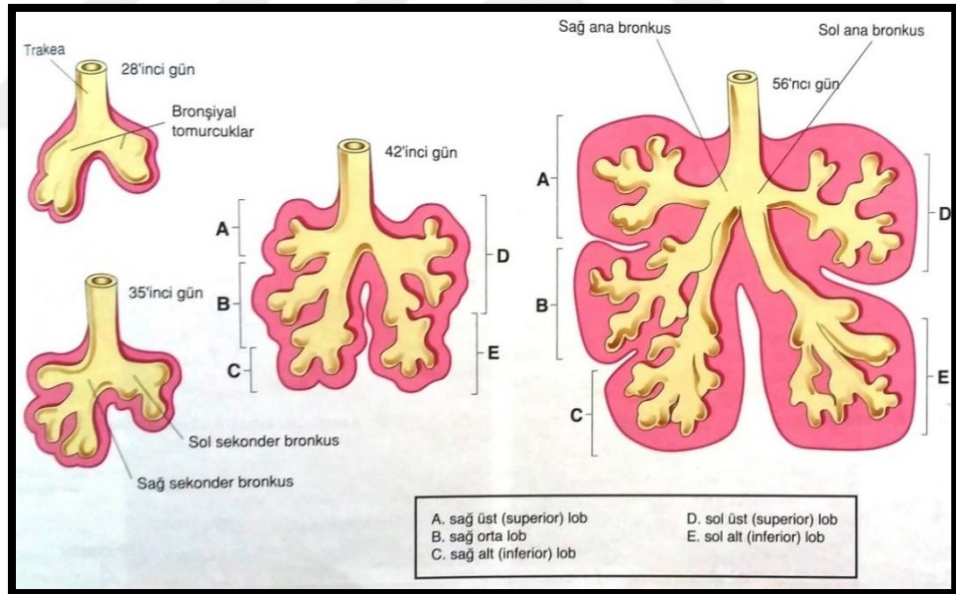
Şekil 5. 4. ve 5. haftalarda trakeaözefageal septumun gelişmesinde ardışık evreler. A ile C arası, laringotrakeal divertikulum ve önbağırsağın, özofagus ve laringotrakeal tüpe bölmelenmesini gösteren, primordiyal farinksin kaudal kısmının lateral görüşleri. D ile F arası, trakeaözefageal septum oluşumunu ve ön bağırsağın laringotrakeal tüp ve özofagusa nasıl ayrıldığını gösteren transvers kesit görüntüsü. Oklar, gelişimden kaynaklanan hücresel değişimi göstermektedir (10).

3.1.3.2. Akciğerlerin Gelişimi

Embriyo yaklaşık 4 haftalıkken solunum divertikülü (akciğer tomurcuğu, solunum tomurcuğu) ön bağırsağın ventral duvarında bir çıkıntı halinde belirir. Solunum divertikülünün ne zaman ve nerede ortaya çıkacağı çevredeki mezenşim doku tarafından üretilen retinoik asit (RA) miktarının artmasına bağlıdır. RA konsantrasyonundaki artış, solunum divertikülünün tomurcuklanacağı yerde barsak kanalı endoderminde eksprese olan TBX4 transkripsiyon faktörünü harekete geçirir. TBX4, tomurcuk oluşumunun yanı sıra akciğerlerin gelişiminden ve diferansiyasyonundan da sorumludur. Başlangıçta solunum divertikülü ön barsakla ilişkidir. Bu divertikül kaudal yönde genişlediğinde, ön barsaktan iki uzunlamasına yapı olan trakeaözefageal katlantıların ortaya çıkmasıyla ayrılır

(11). Gelişen akciğer tomurcuğu, kısa sürede primer bronş tomurcukları olarak isimlendirilen iki keseciğe ayrılır. Bu endodermal tomurcuklar plevral kavitelerin primordiyumları olan perikardiyoperitoneal kanalların içine lateral olarak gelişir. Sekonder ve tersiyer akciğer tomurcukları kısa sürede gelişir. Bronkiyal tomurcuklar, kendilerini çevreleyen splanknik mezenşim ile birlikte bronşlara ve akciğerdeki dallarına farklılaşırlar. Beşinci haftanın başlarında her bir bronş tomurcuğunun trakea ile olan bağlantısı, ana bronşların başlangıç biçimlerini oluşturmak için genişler. Embriyonun sağ ana bronşu soldakinden biraz daha büyük ve daha dikey bir konumdadır. Bu embriyonik ilişki yetişkinlerde de aynı şekilde kalır. Ana bronşlar bölünerek lobar, segmental ve intrasegmental dalları oluşturan sekonder bronşlara ayrılırlar (Şekil 6). Sağda, bronchus lobaris superior üst lobar bronş, sağ akciğer üst lobunu destekler. Alt lobar bronş ise iki bronşa ayrılır ve bunlardan biri, lobus medius-sağ akciğerin orta lobuna, diğeri ise lobus inferior-sağ akciğer alt lobuna gider. Solda iki adet ikincil bronş akciğerlerin üst ve alt loblarını destekler. Her bir lobar bronş kendi içinde dallanarak ilerlemeye devam eder. Segmental bronşlar, yedinci haftaya kadar oluşmaya başlarlar ve sayıları sağ akciğerde on, sol akciğerde ise sekiz veya dokuzdur. Üçüncül bronşlar oluşurken, bunları çevreleyen mezenşimler de bölünür. Her bir segmental bronş ve onu çevreleyen mezenşim kütlesi, bir bronkopulmoner segmentin başlangıcını oluşturur. Yirmi dördüncü haftaya gelindiğinde yaklaşık on yedi sıralı bir dallanma meydana gelerek respiratuar bronşiyoller oluşur. Doğumdan sonra ise yedi sıra havayolu daha oluşur (10). Bronş dallanması, akciğer tomurcuklarının endodermiyle çevresindeki splanknik mezoderm arasında cereyan eden epitelyal-mezenşimal etkileşimler tarafından düzenlenir. Dallanmayı başlatan sinyaller

mezodermdaki fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinden gelir. Bronşiyal ağaç yeni bölünmelerle gelişimini sürdürürken, akciğerler daha kaudal bir pozisyon kazanarak trakeal bifurkasyonun bebek doğduğunda 4. torasik vertebranın tam karşısına gelmesini sağlar (11). Bronşlar gelişirken, bunları çevreleyen splanknik mezodermden kıkırdak plakaları, bronşlara ait düz kas sistemi ve bağ dokusu ile pulmoner bağ dokusu ve kılcak damarlar oluşur. Akciğerler gelişirken, splanknik mezodermden meydana gelen bir visseral plevra tabakası ile kaplanırlar. Akciğerler ve pleural kavite genişledikçe, vücut duvarının mezenşimi içine kaudal olarak büyürler ve kısa sürede kalbe yaslanırlar. Göğüs bölgesindeki vücut duvarı ise somatik mezodermden oluşan bir pariyetal plevra tabakası ile döşenir. Pariyetal ve visseral plevra arasındaki boşluk ise pleural kaviteyi oluşturur (10).



Şekil 6. Akciğer tomurcukları, bronşlar ve akciğerlerin gelişiminde birbirini izleyen evreler (10).

3.1.3.3. Akciğerlerin Olgunlaşması

Akciğerlerin olgunlaşması dört evreye ayrılır; psödöglandular evre, kanaliküler evre, sakküler evre (terminal kese evresi) ve alveoler evre (Şekil 7).

Psödöglandular Evre (6-16. gebelik haftaları arası)

Gelişmekte olan akciğerler bu evrede histolojik olarak ekzokrin salgı bezlerine benzerler (10). Birçok endodermal tübül, tek katlı silindirik epitel ile döşeli ve az miktarda kılcal damar ağı bulunan mezoderm ile çevrilidirler (12). 16.haftaya kadar gaz alışverişi ile ilgili olanlar dışında, akciğerlerin tüm temel elemanları oluşur. Fakat solunum mümkün olmadığından bu evrede doğan fetüsler yaşayamazlar (10).

Kanaliküler Evre (16- 26. gebelik haftaları arası)

Akciğerlerin kraniyal seğmenleri kaudal segmentlerinden daha hızlı olgunlaştığından, bu evre psödöglandular evre ile çakışır. Kanaliküler evrede, bronşların ve terminal bronşiyollerin lümenleri büyür ve özellikle vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) etkisiyle akciğer dokusu çok damarlı bir hale gelir (10, 13). 20.haftada kapilerlerin vaskülogenez ile oluşması sonucu distal pulmoner dolaşım gelişir. İnterstisyel dokular azalır ve gaz değişim üniteleri oluşur (13). 24.haftaya kadar her bir terminal bronşiyolden iki veya daha fazla respiratuar bronşiyol oluşur. Respiratuar bronşiyollerin her biri de üç-altı sıralı alveoler kanallar adlı geçitlere ayrılır. Kanaliküler evrenin sonunda solunum mümkün hale gelir. Çünkü respiratuar bronşiyollerin uçlarında ince duvarlı terminal keselerin (alveollerin başlangıç birimi) bir kısmı oluşmuştur ve akciğer dokusundaki damarlanma artmıştır. Bu evrenin sonlarına doğru doğan bir fetusun

yoğun bakım altında yaşatılması mümkün olsa da, solunum ve diğer sistemleri hala göreceli olarak tam gelişmemiş olduğundan bu fetüsler genellikle ölürlür.

Sakküler Evre (26. gebelik haftasından doğuma kadar)

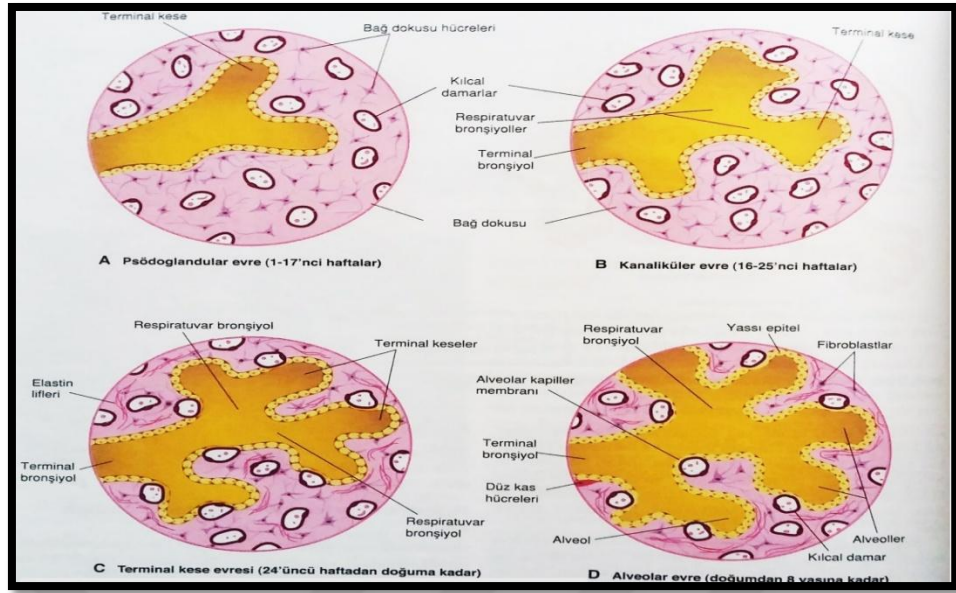
Bu evrede çok daha fazla sayıda terminal kese ya da kesecik gelişir ve bu keselerin epitelleri çok ince bir hal alır (10). Bu terminal keseler birbirlerinden primer septa yapıları ile birbirlerinden ayrılır (12). Kılcal damarlar ise bu keselerin (gelişmekte olan alveollerin) içine doğru çıkıntı yapmaya başlar (10). Apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengesiyle hava boşlukları arasında yer alan bağ dokusu incelikler (13). Epitel ve endotel hücreleri arasındaki yakın temas, bebeğin prematüre doğması halinde hayatta kalmasına yeterli gaz alışverişini sağlayacak kan-hava bariyerini oluşturur. 26.haftaya kadar, terminal keseler gaz alışverişini gerçekleştiren endodermal kaynaklı yassı epitel hücreleri -tip I alveoller- ile döşenmiş olur. Gelişen alveollerin çevresindeki mezenşim içindeki kılcal damar ağı hızla çoğalır ve lenfatik kılcal damarlar da aynı esnada aktif bir gelişme gösterir. Yassı epitel hücreleri arasında dağılmış, yuvarlak salgı yapan epitel hücreleri – tip 2 alveoller- fosfolipit ve protein karışımı olan pulmoner surfaktan salgırlar. Surfaktan, alveoler keselerin iç yüzeyleri üzerinde monomoleküler bir tabaka oluşturarak hava-alveol ortak yüzeyindeki yüzey gerilimi kuvvetlerine karşı koyar. Bu atelektazisi (nefes alıp verme sırasında keseciklerin sönmesi, büzüşmesi) önleyerek, keseciklerin genişlemesini kolaylaştırır.

Alveoler Evre (32. gebelik haftasından 8 yaşına kadar)

Bu evrede, terminal keseler sekonder septa tarafından erişkin alveollerini oluşturmak üzere bölmelenirler (12). Terminal keselerin epitel döşemesi

incelerek, ince yassı epitel tabakaya dönüşür. Tip 1 alveoller o kadar incelik ki, bitişindeki kılcal damarlar terminal keselerin içine doğru çıkıntı yapar (10). Alveoler septanın çift kapiler tabakasının tek tabakaya dönüşmesi ile mikrovasküler olgunlaşma gerçekleşir (14). Geç fetal evrede, alveolokapiler membran (pulmoner difüzyon bariyeri veya solunum membranı) gaz alışverişine imkân sağlayacak kadar incelendiğinden artık akciğerler solunumu gerçekleştirebilirler. Akciğerler doğum anına kadar bu yaşamsal aktivitelerine başlamamalarına rağmen, bebeğin doğmasıyla bu işlevlerine başlayabilmeleri için tam gelişmiş durumda olmaları gereklidir. Alveoler dönemin başında her bir respiratuar bronşiyol, birbirinden gevşek bir bağ dokusuyla ayrılmış ince duvarlı alveoler keselerden oluşan bir kümede sonlanır. Bu kesecikler gelecekteki alveol kanallarını temsil eder. Gaz alışverişi için plasentaya bağımlı olma durumdan bağımsız gaz alışverişine geçiş; alveoler keselerde surfaktan üretimi, akciğerlerin salgılayıcı bir organ olmaktan gaz değişimi yapan bir organa dönüşmesi, pulmoner ve sistemik dolaşımların oluşması gibi uyumsal değişikliklerin gerçekleşmesine bağlıdır. Karakteristik olgun alveoller doğum sonrası döneme kadar oluşmazlar. Olgun alveollerin yaklaşık %95'i postnatal dönemde gelişir. Alveol gelişimi üç yaşına kadar büyük oranda tamamlanmış olur, ancak yaklaşık sekiz yaşına kadar yeni alveoller eklenebilir. Tam zamanında doğan bir bebeğin akciğerlerindeki primordiyal alveol sayısı yaklaşık 150 milyon civarındadır ve bu sayı yetişkinlerdekinin yaklaşık yarısıdır. Geriye kalan alveoller, postnatal ilk on yıl içerisinde sürekli yeni primitif alveollerin oluşmasıyla ortaya çıkararak yetişkinlerdeki 300 milyon alveol sayısına ulaşılmış olur. Olgunlaşmış alveollerin aksine, olgunlaşmamış alveollerin ilave primordiyal alveol oluşturma potansiyeli

vardır. Bu alveoller boyutları büyüdükçe olgun alveol haline gelirler. Alveollerin sayısının artmasını sağlayan temel mekanizma, mevcut primordiyal alveolleri iki parçaya bölen ikincil bağ doku bölmelerinin oluşmasıdır. Başlangıçta bu bölmeler göreceli olarak kalındır, fakat kısa sürede gaz alışverişine uygun ince bölmelere dönüşürler (10, 11). Yapılan moleküler araştırmalar, akciğer gelişiminin büyük ölçüde korunan genler tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Endodermal ön bağırsak hücrelerinin solunum tipi epitel hücrelere farklılaşması, tiroid transkripsiyon faktör 1 ve GATA bağlayıcı protein 6 dâhil olmak üzere birkaç transkripsiyon faktörleri ile Zinc-finger aile üyesi, RA reseptörleri ve homebox (hox) genleri tarafından düzenlenir. Fibroblast büyüme faktörü 10 (FGF10) ve splanknik mezenşimden gelen diğer sinyaller ise akciğer tomurcuğunun gelişimini etkiler. Bu tomurcuğun dallanması ve çoğalması, epitel - mezenşimal etkileşimlere bağlıdır. Wnt sinyal yolağı, bu epitel ve mezenşim arasındaki etkileşimde önemli rol oynar. Yapılan son araştırmalar, epitelden gelen Wnt7b sinyalinin, akciğerdeki mezenşimal çoğalmayı ve kan damarlarının oluşumunu düzenlediğini ortaya koymaktadır. Şekillenmekte olan morfojen sonic hedgehog, bronş tomurcuklarının dallanmasını kontrol eden FGF10'nun ekspresyonunu ayarlamaktadır. Morfojen RA ise gelişmekte olan akciğerlerden eksprese edilen Hox a5, b5 ve c4'ü düzenler (10).



Şekil 7. Akciğer gelişiminin aşamalarını gösteren histolojik kesitlerin basit çizimleri. A ve B, akciğer gelişiminin erken evreleri. C ve D, alveolokapiler membran incidirdi ve bazı kılcal damarların terminal keselere ve alveollere doğru çıkıntı yapar (10).

3.1.4. Solunum Sistem Histolojisi

Solunum sistemi, akciğerlerden ve akciğerlere açılan çeşitli boyutlardaki çok sayıda hava kanallarından oluşur. Buna ek olarak sistem, bir iletim bölümü ve bir de solunum bölümünü içerir (15). Göğüs kafesi, kaburga arası kaslar, diyafram ve akciğerlerin elastik ve kollajen yapılarından oluşan soluma düzeneği havanın akciğerlerin iletilmesi ve solunum bölümlerine doğru hareket ettirilmesinde önemlidir (16).

Solunum sisteminin iletim bölümü; burun boşlukları, farinks, larinks, trakea, ekstrapulmoner bronşlar ve sonunda terminal bronşlar ve bronşiyoller dizilerinden meydana gelir (15). İletim bölümünü oluşturan bu yapılar içten dışa doğru mukoza, submukoza ve adventisya şeklinde üç tabakadan oluşur. İletici kısmın, üst hava kanallarının mukozası yalancı çok katlı silli (titrek tüylü) prizmatik epitel ve mukus salgılayan çok sayıda goblet hücresi ile kaplıdır. Genelde solunumla ilgili epitel olarak bilinen bu silli epitel havayollarının

korunması, temizlenmesi ve partiküllerin atılması için uygundur. Silyumlar oral kaviteye doğru ritmik bir şekilde hareket ederek atıkları ve patojen yüklü mukusu hareket ettirir ve böylece tükürme refleksiyle bu maddeler vücuttan atılabilir ya da yutulabilir. Subepitelyal mukus ve seröz salgı bezleri de yine partikülleri yakalamaya, epiteli nemlendirmeye ve kayganlaştırmaya yardımcı olmak için sekresyonlarını mukozal yüzeye doğru salgırlar (17). Ek olarak bağ dokuda epitelin altında bulunan zengin ve gelişmiş kapiler ağ, iletim bölümüne geçerken ve akciğerin solunum bölümüne ulaşmadan önce alınan havayı ısınmasına yardımcı olur. Burun boşluğunun yan duvarlarına yerleşmiş konkanın kemik çıkıntıları da havanın ısınmasına ve nemlenmesine yardımcı olur (15). Tipik solunum epiteli beş tip hücreden oluşur. Prizmatik silli hücreler en bol olan hücre tipidir. Her hücrenin tepeye bakan yüzeyinde yaklaşık 300 silyum (titrek tüy) bulunur. Silyumların altında bazal cisimciklere ek olarak titrek tüy hareketi için gereken adenosin trifosfatı (ATP) sağlayan çok sayıda küçük mitokondri bulunur. İkinci en çok bulunan hücre tipi ise müköz goblet hücreleridir. Bu hücrelerin tepe bölümünde glikoproteinlerden oluşan müköz damlacıklar bulunur. Bir diğer hücre olan prizmatik hücreler ise tepeye bakan yüzeylerinde çok sayıda mikrovillus içermelerinden dolayı fırça hücreleri olarak bilinirler. Fırça hücrelerin taban yüzeylerinde getirici sinir uçları bulunur ve bu hücreler duyu reseptörü olarak kabul edilirler. Bazal lamina üzerine oturan ve epitelin lümene bakan yüzeyine kadar uzanamayan küçük, yuvarlak hücreler ise bazal (kısa) hücrelerdir. Bunların mitozla çoğalıp diğer tip hücrelere farklılaşan, üretken hücreler olduğu düşünülmektedir. Diğer bir hücre tipi ise bazal hücrelere benzeyen, ancak çapı 100-300 nm, merkezi bölümünde çok sayıda yoğun granüller bulunmasıyla bazal

hücrelerden ayrılan, küçük granüllü hücrelerdir. Histokimyasal çalışmalar bu hücrelerin yaygın nöroendokrin sistemin elemanları olduklarını göstermektedir (16).

Solumun bölümü, iletim bölümünün distal uzantısıdır ve solunumun (veya gaz değişiminin) olduğu hava kanalları ile başlar. Terminal bronşiyoller, alveol adı verilen ince duvarlı kese benzeri yapılar ile karakterize respiratuar bronşiyollerini oluşturmak üzere dallanır. Bu solumun gerçekleştiği yer olan respiratuar tüpün ilk bölümüdür. Respiratuar bronşiyoller, hava iletiminin ve gaz değişiminin olduğu geçiş sınırını (transizyonel zonu) gösterir. Alveollerde, alınan hava ve kapilerdeki venöz kan arasındaki bariyer çok ince olduğundan dolayı solunum sadece buralarda gerçekleşir. Alveoller solunum sisteminin son hava boşluklarıdır ve her alveol, gaz alışverişi için kanı alveol içindeki solunan havanın yakınına taşıyan kapiler ağ ile çevrilidir. Solunumun gerçekleştiği diğer intrapulmoner yapılar alveol kanallar ve alveol keseleridir (15).

3.1.4.1. Nazal Kavite ve Paranasal Sinüsler

Burun boşluğu dışta vestibül ve içte burun çukurları olmak üzere iki yapıdan oluşur. Vestibül, burun boşluğunun en önde bulunan ve en geniş bölümüdür. Burun dış yüzeyinin derisi, burun deliklerinden içeri girer ve vestibüle kadar kısmen devam eder. Burun deliklerinin iç yüzeylerinde çok sayıda yağ ve ter bezi ile solunan havadaki iri parçacıkları tutan burun kılları bulunur. Vestibüldeki epitel keratin yapısını yitirir ve burun çukurlarına girmeden önce tipik solunum epiteline dönüşür.

Bir nazal septumun (burun bölmesi) ayırdığı çifte kanallar olan nazal kaviteler, kafatası içinde kemiksi yapılar olan iki kavarnöz odacıktan oluşur (17).

Her bir odacığın yan duvarında konka denen raf şeklinde üç kemiksi çıkıntı bulunur. Üst, orta ve alt konkadan sadece orta ve alt konkalar solunum epiteli ile döşelidir. Buna karşılık üst konka özelleşmiş koku epiteli (olfaktor epitel) ile döşelidir (16). Olfaktor mukoza, üst konka yüzeyinde ve septumun her iki kısmı üzerindeki burun boşluğunun çatısında yer alır. Olfaktor epitel koku almak için özelleşmiştir ve solunum epitelin aksine hareketsiz silli ve goblet hüresiz yalancı çok katlı yüksek prizmatiktir. Olfaktor epitel destekleyici, bazal ve nöroepitelyal olfaktor hücreler olmak üzere üç farklı epitel türü içerir. Bu hücreleri rutin histolojik preparatlarda tek tek tanımlamak zordur ancak çekirdeklerinin şekilleri ve yerleşimleri hücre tiplerinin tanımlanmasına imkân sağlar. Destekleyici hücreler (sustantakular hücreler) epitelin daha apikaline yerleşmiş, oval çekirdekli uzunlamasına hücrelerdir. Bu hücreler komşu olfaktor hücrelerle bağlantı komplekleri yapar ve olfaktor hücreler için yapısal desteklik sağlarlar. Olfaktör hücreler, bazal hücreler ve destekleyici hücrelerin çekirdekleri arasında yer alan oval ya da yuvarlak çekirdeklere sahiptir, apikal ve bazal kısımları ise silindriktir. Apikal yüzeylerinde mukus içine uzanan silindirik hareketsiz mikrovillusları vardır. Destekleyici ve olfaktor hücrelerin arasındaki epitelin bazalinde yer alan kısa hücreler ise bazal hücrelerdir. Bu hücreler kök hücre gibi davranarak yeni olfaktor hücreler ve destek hücrelerini oluşturabilir. Epitelin altındaki lamina propriya; kapillerleri, lenfatik damarları, arteriyoller, venülleri ve dallanmış tübüloasiner seröz olfaktor (Bowman) bezleri içerir. Bu bezler burun boşluğunun diğer kısmındaki bezlerin ürettiği karışık mukus ve seröz salgıdan farklı olan bir seröz salgı üretirler ve salgılarını olfaktor epitele sokulan dar boşaltma kanalları içinden boşaltırlar. Bu salgılar epitel yüzeyini nemlendirir, kokulu maddelerin

moleküllerini çözer ve olfaktor hücreleri uyarır. Kokunun algılanması için ilk olarak kokulu maddeler çözünmelidir. Çözünen koku molekülleri daha sonra olfaktor sil üzerindeki koku reseptörlerine bağlanır ve uyarıyı iletmek için olfaktor epitelin hareketsiz sillerin üzerindeki koku bağlayıcı reseptörleri uyarır. Olfaktor hücrelerin miyelinsiz afferent aksonları lamina propria bağ dokusunda bulunan olfaktor sinir demetlerini oluşturmak için olfaktor epitelin bazalinden ayrılır. Olfaktor epitelden gelen uyarılar kafatasındaki etmoid kemik içerisinden geçen bu sinir demetleriyle iletilir ve burun boşluğunun yukarısında kafatasında bulunan beyin olfaktor bulbusları ile sinaps yapar. Buradan nöronlar kokunun yorumlanması için bilgiyi beyin korteksindeki daha yüksek merkezlere iletir (15).

Paranasal sinüsler frontal, maksiller, etmoid ve sfenoid kemiklerin içindeki kör boşluklardır (16). Paranasal sinüslerdeki çeperi oluşturan epitel, nazal kaviteninkinden daha alçaktır ve nazal kaviteye oranla daha az sayıda goblet hücresi içerir. Lamina propria sadece birkaç küçük bez içerir ve alttaki periosteumla devam eder. Nazal kaviteyle bağlantı ufak delikler aracılığıyla sağlanır. Bu boşlukta üretilen mukus silyalı epitel hücrelerin etkinliği ile nazal kaviteye boşaltılır (17).

3.1.4.2. Epiglottis

Epiglottis, dil kökünün altında, larinksin girişini örten, yaprak biçiminde bir yapıdır. Hiyoid kemiğe tutunan ve çok esnek olan elastik kıkırdaktan bir içyapısı vardır. Bunun lingual yüzeyini, dilin dorsal yüzeyini kaplayan epitel ile direkt bağlantılı olan koruyucu keratinize olmayan çok katlı yassı epitel kaplar (17). Bu lingual epitelin içinde tat tomurcukları ve soliter lenfatik noöller gözlenebilir (15). Lingual epitel, epiglotisin laringeal alt yüzeyine kadar uzanır.

Bu yüzeyin daha derinlerinde, geçiş bölgesinde, çok katlı prizmatik epitel, goblet hücreli yalancı çok katlı silyalı prizmatik epitele dönüşür ki bu yaygın olarak solunum epiteli olarak bilinir. Alt yüzeyi kaplayan mukozanın yakınında ya da elastik kıkırdak tabakalarının arasında dağınık halde serömüköz bezler bulunur. Epitelin altındaki gevşek bağ doku yapısındaki lamina propriyada pek çok kan damarı, lenfatik damar, sinirler ve yaygın mononükleer bağ doku hücreleri bulunur. Elastik kıkırdağı saran perikondrium lamina propriyaya sıkıca tutulu haldedir. Epiglottis hareket etmiyorken genellikle dik durur ve havanın larinkse ve daha alttaki solunum kanallarının tümüne ulaşmasına izin verir. Yutma sırasında ise yiyecek ve sıvıların trakeaya girmesini engellemek için larinks girişini kapatmak amacıyla bir kapak gibi geriye doğru katlanır (17).

3.1.4.3. Nazofarinks

Nazofarinks, yutağın ilk bölümüdür ve aşağıya doğru yutağın ağıza ait bölümü olan orofarinks ile devam eder. Yumuşak damakla temas ettiği bölüm solunum epiteliyle döşelidir (16).

3.1.4.4. Larinks

Larinks, farinks ve trakea arasında bulunur ve 4-5 cm boyundadır (17). Lamina propriyada bir takım larinks kıkırdakları bulunur. Büyük kıkırdaklar (tiroid, krikoid ve aritenoid kıkırdakların çoğu) hiyalin kıkırdaktır ve bunların bazıları yaşlılarda kireçlenir. Küçük kıkırdaklar (epiglot, kuneiform, kornikulat ve aritenoidin uçları) ise elastik kıkırdaktır. Kıkırdaklar destek sağlamanın yanı sıra (havayolunu açık tutması), katı ve sıvı besinlerin yutulması sırasında bunların soluk borusuna kaçmasını önleyen bir kapak görevi üstlenir. Ayrıca ses oluşmasına katkıda bulunurlar (16). Larinks mukoza zarında içeri doğru katlantı

yapan iki dizi belirgin kıvrım vardır; vokal kord ve gerçek vokal katlantı. Yalancı (üst) vokal katlantı olarak da isimlendirilen vokal kord, epiglotun arka yüzeyine devam eden mukozayla örtülüdür. Yalancı vokal katlantı goblet hücreli yalancı çok katlı silli silindirik epitel ile döşelidir. Lamina propriyada çok sayıda karışık seröz muköz bezler içerir. Bu karışık bezlerin boşaltma kanalları epitel yüzeyine açılır. Lamina propriyada ayrıca çok sayıda lenfatik nodül, kan damarları ve yağ hücreleri de bulunur. Ventrikül, gerçek vokal katlantıdan yalancı vokal katlantıyı ayıran derin bir çentiktir. Ventrikül duvarındaki mukoza yalancı vokal katlantıdakine benzerdir. Bu bölgede lenfatik nodüller daha fazla sayıdadır ve bazen laringeal tonsiller olarak da adlandırılırlar. Lamina propriya hiyalin tiroid kıkırdağın perikondriyumu ile karışır. Belirgin submukoza yoktur. Ventrikülün alt duvarı gerçek vokal katlantıya geçiş yapar. Gerçek vokal katlantının mukozası keratinize olmamış çok katlı yassı epitel ile örtülüdür ve bezler, lenfatik doku ve kan damarlarından yoksun yoğun ve kalın bir lamina propriyası vardır. Gerçek vokal katlantının apeksinde komşu lamina propriyaya uzanan yoğun elastik lifli vokal ligament ve çizgili vokal kası vardır. Çizgili tiroaritenoid kas ve tiroid kıkırdak duvarının devamını oluşturur. Larinksin daha aşağıdaki epiteli yalancı çok katlı silli silindirik epitele dönüşür ve lamina propriya karışık seröz muköz bezler içerir. Hiyalin krikoid kıkırdak larinksin en altındaki kıkırdağıdır (15).

3.1.4.5. Trakea

Trakea boyu 15-20 cm, çapı 2-3 cm olan yarı sert bir tüptür ve larinks ile karina arasında bulunur; burası trakeanın iki ana bronşa çatallandığı yerdir. Havanın akciğerlerde alveollere taşınmasına yarayan bir kanal olan trakeabronşiyal ağaç, trakea, sağ ve sol bronşlar ve onların daha alt dallarını

kapsar. Trakeanın dış anterolateral kısmı hiyalin kıkırdaktan oluşan 16-20 hilal biçimli halkaya sahiptir ve bunlar sertliği sağlar, şekli muhafaza eder ve trakeal lümenin açıklığını sağlar. Yaşlanma sonucu kıkırdak genellikle dejeneratif değişiklikler gösterir ve kireçlenebilir. Posterior olarak kıkırdak halkalarının uçları, trakealis kası oluşturan düz kas liflerini içeren fibröz bir zar tarafından gerilir. Bu kasın oryantasyonu temelde dairesel olan kasılma hareketi, trakeal lümenin daralmasına yol açar (17).

Trakeanın duvarı; mukoza, submukoza, hiyalin kıkırdak ve adventisyadan oluşur. Hiyalin kıkırdak bir tarafı adventisya ve diğer tarafı submukoza ile yoğun perikondrium bağ dokusu tarafından çevrelenmiştir. Çok sayıda sinir, kan damarları ve adipoz doku adventisyada yer alır. Hiyalin kıkırdağın arka sonları arasındaki boşluk düz trakea kası ile doldurulur. Trakea kası mukozanın elastik membranına derinleşen bağ dokusuyla sarılıdır. Trakea kası liflerinin çoğu hiyalin kıkırdağı saran perikondriyuma dâhil olur. Trakea lümeni, goblet hücreli yalancı çok katlı silli prizmatik epitelle (solunum epiteli) örtülüdür. Epitel, lümeni kaplar ve vücuttaki en kalın zarlardan biri olan belirgin bazal membran üzerinde durur (15). Silli hücre en belirgin hücre tipidir ve luminal yüzeyden bazal membrana kadar uzanır. Hücreler apikal sıkı bağlantılarla birbirine sıkıca tutunur. Silli hücrelerin yüzeyinden 200-250 silyum ve daha kısa boyda mikrovillus çıkar. Daha proksimalde hücrelerin yaklaşık %20-%30'unu oluşturan goblet hücreleri bulunur. Pek çok membran ile çevrili mukus damlacığı, bu hücrelerin apikal kısmını genişletir fakat bazal kısım dardır ve daha az organelle sahiptir. Bundan dolayı kadeh şeklindedir Bazal hücreler, bazal membrana yakın tek bir sıra halinde dururlar ve bunların apeksleri lümeneye ulaşmaz. Bunlar stoplazmada çok az

özelleşme gösterir ve diğer epitel hücrelerin yenilenmesi için kök hücreler olarak iş görürler. Solunum yolunun diğer kısımlarında olduğu gibi epitelde, elektron mikroskopi ile daha iyi görülebilen diğer birkaç hücre tipi bulunur. Küçük apikal mikrovilluslara sahip fırçamsı hücreler ve gastrointestinal kanalın enteroendokrin (difüz nöroendokrin) hücrelerine benzeyen ve küçük membran ile çevrili sekretuar granülleri olan nöroendokrin hücreler de bulunur. Epitelin içindeki goblet hücreleri (kadeh şeklinde müköz hücreler) mukus salgılar ve bu trakeanın yüzeyini kayganlaştırırken, toz ve bakteri gibi yabancı partikülleri yakalar. Trakeanın epitelindeki siller ise mukusun yakaladığı partikülleri senkronize dalgaya benzer hareketlerle yukarı doğru sürükler (17). Lamina propriya esasen ince bağ dokusu fibrilleri, yaygın lenfatik doku ve nadir soliter lenfatik nodüller içerir. Lamina propriyanın daha derinlerinde elastik lifler tarafından oluşturulmuş uzunlamasına elastik membran yer alır. Elastik membran lamina propriyayı submukozadan ayırır. Submukozada boşaltma kanalları lamina propriya içinden trakea lümenine geçen tübüloasiner serömüköz trakea bezleri bulunur. Bu serömüköz bezler uzayabilir ve bazen adventisyada da görülebilir (15). Müköz ve seröz asinüsler lümen kanallar yoluyla geçen salgılar üretir. Asinüsün taban kısımları boyunca, küçük yıldız biçimli miyoepitelyal hücreler bulunur ve bunlar kasılmayla, salgıların kanallara atılmasına yardım eder (17). Mukozada, hyalin kıvrımda içermeyen trakeanın arka duvarı boyunca uzanan mukoza katlantıları gözlenir (15).

3.1.4.6. Bronşlar

Trakea akciğerler dışında ikiye ayrılır ve ekstrapulmoner (primer) bronşları meydana getirir. Akciğerlere girerken, ekstrapulmoner bronşlara

bölündükten sonra intrapulmoner bronşlara ve daha küçük serileri meydana getirir (15). Ekstrapulmoner bronşların çapı trakeaya kıyasla daha küçüktür fakat histolojik olarak trakeaya çok benzerler. Daha büyük bronşlarda hiyalin kıkırdak ve düz kas, trakeadaki ile aynı düzenlemeye sahiptir. Bronş duvarlarındaki hiyalin kıkırdak duvarın çökmesini önler ve bronşlar daha küçük bronşlara bölündükçe kıkırdak, düzensiz tabakalar biçimine girer (17). İntrapulmoner bronşlar ince bir tabaka olan az miktarda lenfositler ve elastik lifler içeren lamina propriyanın ince bağ dokusu tarafından desteklenmiş, yalancı çok katlı silli prizmatik bronşiyol epitel ile kaplıdır (15). Küçük lenfatik doku birikimleri genellikle lenfoid nodüller (folliküller) olarak lamina propriyada yaygın olarak bulunurlar. Bunlar patojenlere karşı immünolojik savunma sağlarlar (17). İnce bir düz kas tabakası lamina propriyayı sarar ve onu submukozadan ayırır. Submukoza çok sayıda serömüköz bronş bezleri içerir. Bunların küçük kanalları mukozal yüzeye açılır ve burada nemli, yapışkan, koruyucu bir mukus yüzey katmanı oluşturmak için serbest bırakılır. Akciğerlerde, trakeanın hiyalin kıkırdak halkaları bronşu çevreleyen hiyalin kıkırdak plakalara dönüşür. Perikondrium bağ dokusu, her bir kıkırdak plakayı kuşatır. Bronşlar bölündükçe ve boyutu azaldıkça hiyalin kıkırdak plakaları küçülür ve birbirinden uzaklaşır. Kıkırdak plakaları arasındaki submukoza adventisya ile kaynaşır (15). Kıkırdağın iç kısmında longitudinal duran elastik lifler ve kollajenden oluşan bir ağ bulunur ve bunların içine gömülü durumda intrapulmoner bronşların lümenini tamamen çevreleyen çaprazlamasına dizili şeritler halinde duran düz kas hücreleri vardır. Parasempatik vagal uyarım bronşiyal düz kasların kasılmasına yol açarken, sempatik uyarım gevşemesine yol açar. Bronşlar küçülürken dallanmaya devam ederler ve dallanırken, epitelin

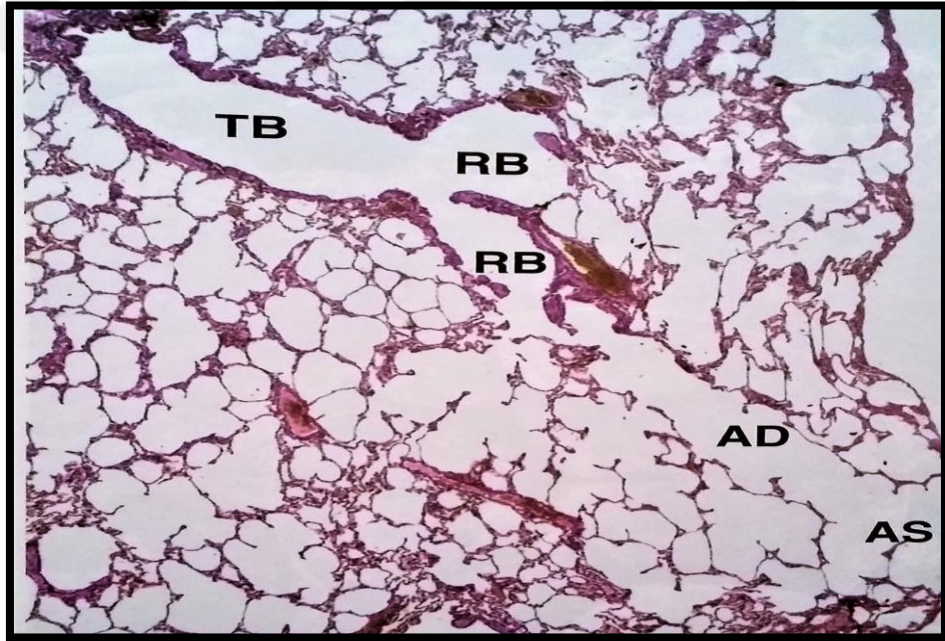
yüksekliğinde azalma ve goblet hücrelerle silyalı hücrelerin sayısında kademeli bir azalma meydana gelir.

İntrapulmoner hava kanalları, ardışık iki parça halinde dallanma ve bronşlardan respiratuar bronşiyollerine kadar yaklaşık yirmi oluşum ile karakterizedir. Bronşlardaki kıkırdak tabakalar periferde doğru seyrekleşir ve son oluşumlarda sadece dallanma noktalarında bulunurlar. Terminal bronşiyoller, bronşlardan uzakta, son kıkırdak tabakadan sonradır ve respiratuar bronşiyollerine açılırlar ve bunların duvarlarında küçük, küresel avleoler çıkıntılanmalar bulunur. Respiratuar bronşiyollerinin daha ötesinde alveoler kanallar ve yuvarlak biçimli alveoler keseler bulunur ve bunlar alveollerin kendisine açılır. Hava kanallarının dallanma paternine oranla en küçük anotomik birim, akciğerin, terminal bronşiyol ve onun tüm dalları tarafından beslenen kısmı olarak tanımlanan pulmoner asinüstür. İnsanlarda 6-10 mm çapında olan asinüs radyolojik olarak görülebilir. Daha büyük bir solunum birimi olan, pulmoner lobülün çapı yaklaşık 2.5 cm'dir ve fibröz bağ dokusu septumları ile ayrılır. Her bir lobül piramit şeklinde bir akciğer doku bölgesidir ve tepesi hiluma, tabanı visseral plevraya dönüktür. Bir bronş, lobüle tepesinden girer ve kıkırdağını hemen kaybedip bronşiyol olur ve bu da dallanıp pulmoner alveol demetleri halinde son bulur. Beş ile sekiz asinüs lobülü oluşturur. Alveoler duvarlardaki yuvarlak ve oval delikler vasıtasıyla asinüsler arasında kollateral hava geçitleri meydana gelir ve interalveoler Kohn gözenekleri olarak bilinirler. Bu açıklıklar aynı zamanda bir alveolden diğerine hava geçişine izin verir ve enfeksiyon yayılımını mümkün hale getirebilirler (17).

3.1.4.7. Terminal ve Respiratuar Bronşiyoller

Bronşiyoller çapları yaklaşık 1mm veya daha küçük terminal bronşiyoller olarak dallanır. Terminal bronşiyoller, tek katlı prizmatik epitel ile kaplıdır. En küçük bronşiyollerde epitel basit kübik olabilir Kıkırdak plaklar, bronş bezleri ve goblet hücreleri terminal bronşiyollerde yoktur. Terminal bronşiyoller hava iletimi için en küçük hava yollarıdır. Düz kas kasılmaları sayesinde mukozal kıvrımlar bronşiyollerde belirgindir. İyi gelişmiş düz kas tabakası ince lamina propriyayı, advantisya da hepsini çevreler (15). Pek çok silyalı hücre bulunur fakat clara hücreleri olarak isimlendirilen kubbe biçimli silyalı olmayan sekretuar hücreler, üst hava yollarındaki goblet hücrelerinin yerini alır. Clara hücreleri, bronşiyollere özgü, silyalı olmayan prizmatik hücrelerdir. Temelde sekretuar hücrelerdir ve ürünlerini doğruca hava yolları lümenin boşaltır. Clara hücrelerinin merokrin tarzda salgılanan büyük, ovoid, elektron yoğun sekretuar veziküller ile dolu apikal stoplazmaları vardır. Bunların salgılarının antiinflamatuvar bir rol oynadıklarına inanılır. Clara hücreleri ayrıca, bronşiyal epitel yüzeyini saran surfaktan gibi koruyucu bir madde, trakeobronşiyal ağacın üst kısmında üretilen mukusu parçalayan proteolitik enzimler, bronşiyal epitelin bütünlüğünü korumada önemli olabilen bir lökosit proteaz inhibitörü ve lizozimler de salgılar. Bunun yanı sıra bu hücreler, su ve elektrolitlerin taşınmasında ve özellikle de klorür iyonlarının salınımında rol oynarlar. Özellikle yaralanmalara yanıt olarak, silyalı ve silyasız bronşiyal epitel hücrelerinin normal yenilenmesi için progenitör (stem) hücreler olarak iş görürler. Bronşiyol epiteli döşeyen silyalı hücreler ise, senkronize şekilde atılım yaparlar ve toz partiküllerini yukarı bronşlara doğru iterler. Üst hava yollarının aksine, bronşiyol epitelinin altında bez bulunmaz.

Nispeten büyük miktarda, helika biçimde dizilmiş düz kas, hava yolu duvarlarını sarar ve bunlar kasılmayla, hava yolunu kısaltıp lümeni büzebilirler. Bunları saran gevşek bağ doku stroması, pulmoner alveolleri saran ile kesintisiz bağlıdır ve çoğunlukla oryantasyonu dik olan bol miktarda elastik lif içerir. Terminal bronşiyoller en az iki ardışık dallanma düzeni gösteren respiratuar bronşiyollerine ve her bir respiratuar bronşiyölü 2-10 alveoler kanal halinde dallanır ve bunlar da pulmoner alveol keselerine açılır (Şekil 8). Respiratuar bronşiyoller, son derece ince duvarlara sahiptir ve daha küçük dallarda hiç silyuma sahip olmayan, tek katlı alçak kübik epitel ile kaplıdır (17). Alveol kanala ağızlaşan lamina propria ile kaplı alveollerin açıldığı yerlerde düz kas demetleri vardır. Bu düz kas demetleri yan yana alveoller arasındaki düğümler gibi görünür. Alveol keseleşmesi her bir respiratuar bronşiyol duvarında ayrı ayrı oluşur (15).

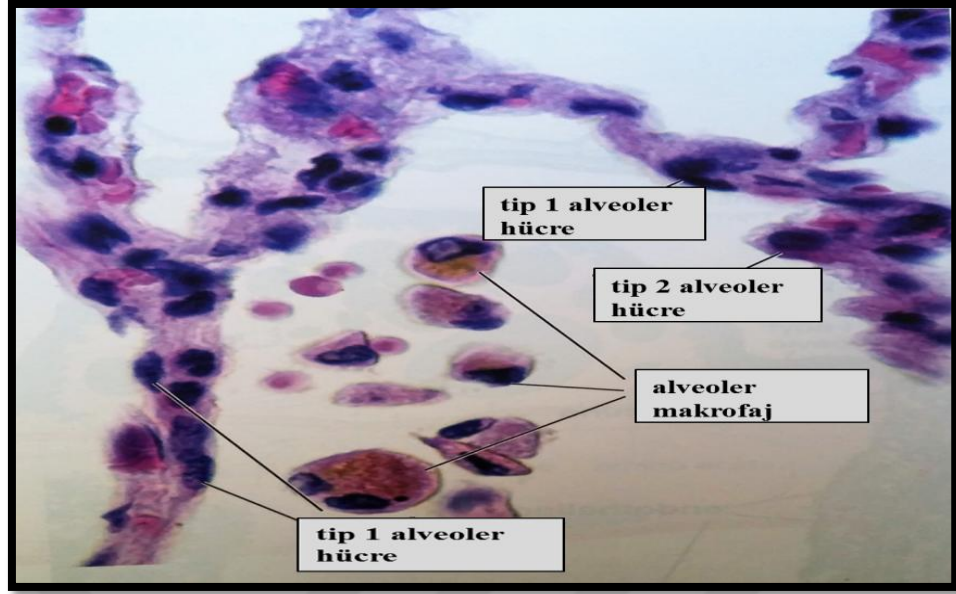


Şekil 8. Bronş ağacının solunum bölümü; iki respiratuar bronşiyole dallanan longitudinal seyirli terminal bronşiyol yapısı (TB). Respiratuar bronşiyollerin (RB) açıldığı alveoler kanallar (AD). Alveoler kanalların sonundaki alveol yapıları ile çevrili alveol keseleri (AS) (6).

3.1.4.8. Pulmoner Alveoller

Pulmoner alveoller, respratuvar bronşiyollerin, alveoler kanalların ve keselerin, bir bal peteğinin birbirine sıkıca kenetlenmiş hücrelerine benzetilen, küçük kupa biçimli evajinasyonlarıdır. Çapları 200-225 μm 'dir (17). Yetişkin bir insan akciğerinde yaklaşık 150-250 milyon alveol bulunur. Kapiller damarlar ile temas eden alveol yüzeyinin toplam alanı ise 75 m^2 'dir (6). Komşu alveoller ortak bir interalveoler septum ya da alveol duvarı paylaşırlar. İnteralveoler septa, ince interalveoler septada bulunan çok sayıda kapillerler, fibroblastlar, ince bağ doku lifleri ve tek katlı yassı alveol hücrelerinden oluşur (15). Alveoller pnömosit olarak da bilinen ve elektron mikroskopi ile daha iyi görülebilen, bazal lamina üzerinde bulunan bitişik hücrelerden oluşan, 0.2 μm 'den daha düşük kalınlıkta olan tek katlı yassı epitel ile kesintisiz kaplanmıştır. Bu epiteli iki tür hücre oluşturur; tip 1 ve tip 2 alveoler hücreler (Şekil 9). Tip 1 alveoler hücreler yassıdır ve gaz alışverişini kolaylaştırmak için geniş bir yüzey sahasına sahiptirler. Bunların incelmış stoplazması, hücrenin tek, uzamış koyu çekirdeği hariç, ışık mikroskobunun çözünürlük sınırlarının ötesindedir. Tip 1 alveoler hücreler, alveoler yüzeyin yaklaşık %95'ini kaplar fakat tüm epitel hücrelerinin sadece %40'ını teşkil ederler (17). Bu hücreler birbirlerine ve alveoler epiteldeki diğer hücelere okludin bağlantılarıyla bağlanır. Bu bağlantılar hava boşlukları ve septal duvar içeriği arasındaki etkili bariyeri oluşturur. Tip 1 alveoler hücrelerin bölünme yeteneği yoktur (6). Tip 2 alveoler hücreler veya septal hücreler olarak da isimlendirilen sekretuar hücrelerdir. Tip 2 alveol hücreleri, alveolleri kaplayan hücrelerin geriye kalan %60'ını oluştururlar fakat daha kübik olan biçimlerinden dolayı kaplayıcı hücrelerin sadece %5'ni oluştururlar. Tip 2 alveoler hücreler

bazal membran üzerinde bulunur ve genellikle iki alveolün birleştiği köşelere yakın tip 1 alveoler hücrelerin arasında dururlar, fakat septal bağlantı bölgelerinde toplanma eğilimleri de vardır (6, 17). Apikal stoplazmalarında yoğun boyanan lamelli cisimcik adı verilen paralel membran lamelleri bulunur. Bu lameller cisimcikler fosfolipit, nötral lipit ve protein karışımlarından zengindir ve ekzositoz yoluyla salgılarını salarak alveoler yüzeyde yüzey aktif ajan olarak isimlendirilen surfaktanı oluştururlar (6). Surfaktan alveole salındığı zaman tip 1 alveol hücrelerinin yüzeyini ince bir tabakayla kaplayarak alveol yüzey gerilimini azaltır. Surfaktanın bazı bakteriosidal etkileri de vardır ve inhalasyonla alınan tehlikeli potansiyel patojenler, mantarlar, virüsler ve bakterileri yok etmek üzere alveollerde immün yanıtı tetikler. Surfaktan üretimine ek olarak, tip 2 alveoler hücreler bölünerek alveollerdeki tip 1 yassı hücreleri üretmek için kök hücre gibi davranır (15). Akciğer hasarı sonrası, tip 2 alveoler hücrelerin proliferasyonu ve yeniden yapılanması gerçekleşir. Tip 2 alveoler hücre hiperplazisi, alveoler hasarın ve alveol tamirinin önemli göstergesidir (6). Alveol makrofaj (toz hücreleri) pulmoner bağ dokusu septası ve alveollere giren kan monositleridir ve her iki bölgede de fagosit gibi davranır (Şekil 9). Bu makrofajların temel görevi alveolleri invaziv mikroorganizmalardan ve inhale edilen maddelerden fagositoz yaparak temizlemektir. Bu hücreler ya tek tek alveollerde ya da ince alveoler septada görülür. Bağ dokusu septası ya da alveollerde, toz hücresi, normalde çok sayıda fagosite edilmiş madde ya da karbon partikülleri bulunan stoplazmaları sayesinde tanınırlar (15).



Şekil 9. Alveoler septumun yapısı ve alveoler lümenindeki makrofajlar (6).

3.1.5. Kan-Hava Bariyeri

Kan ve hava arasındaki gaz alışverişi çok özel pulmoner alveoler bölgesi üzerinden-kan-hava bariyeri ya da alveoler kapiler membran- gerçekleşir ve bu, difüzyon yoluyla kolaylıkla gaz geçirgenliği sağlar. Genişliği 2 μm 'den daha düşüktür ve en iyi elektron mikroskopi ile görülür. Kan-hava bariyeri; salgılanan ince bir surfaktan tabakası, pulmoner kapillerlerin incelmış endoteli, alveolü kaplayan tip 1 alveoler hücreler ve onların birleşmiş bazal laminalarından oluşur. Komşu alveoler hücreler sıkı bağlantılarla yalıtılmışlardır ve bu, sıvı ve çözüntü sızıntısını engeller. Kesintisiz pencere kapiler endoteli de sıkı bağlantılar içerir. Elektron mikroskobisinde endotel hücrelerinin birbirine kenetlenmiş, bitişik bir mozaik gibi dizildikleri görülür. Luminal yüzey üzerindeki çok sayıda mikrovillus, yüzey alanını iyice artırır (17).

3.1.6. İntrapulmoner Kan Dolaşımı

Akciğerlerde, hilumdan giren çifte kan desteği, kalbin her bir yakınından bir tane olmak üzere, vardır. Sağ ventrikülden gelen pulmoner arterler,

oksijenlenmemiş kanı düşük basınç altında alveoler duvarlarda bulunan geniş bir pulmoner kapiler ağı taşırlar ve burada CO₂ O₂ ile değiştirilir. Pulmoner arterler ve bunların dalları, bağ dokusundan bir kılıf içerisinde hava yollarına eşlik ederler. Daha proksimal arterler elastik tiptir ve bronş ve bronşiyollerin bağlantı noktalarına kadar uzanırlar. Daha distal arterler ise musküler arterlerdir ve alveoler keselerin etrafında sonlanan arteriyollere açılırlar ve en sonunda kanı, geniş, birbirleriyle bağlantı halinde olan bir pulmoner kapiler ağı taşırlar. Torasik aortadan gelen bronşiyal arterler, oksijenlenmiş kanı, yüksek basınç altında, hilumdan solunum bronşiyollerine kadar uzanan hava yollarının duvarlarına taşırlar. Bu arterler, bu hava yollarının mukozasına kadar uzanan kapillerlerin pleksusuna akan besleyici damarlar olarak iş görürler. Bronşiyal arterler, aynı zamanda, akciğerleri saran visseral plevraya da kan temin ederler. Pulmoner ve bronşiyal sistemlerden gelen venöz kan, kalbin sol atriyumuna kan taşıyan pulmoner venlerden akar. Pulmoner arterler ve venler, lobüllerde birlikte ilerlemezler; arterler hava yolları ile ilerlerken, toplardamarlar septumlar içerisinde ilerler. Akciğerlerin ayrıca ikili ve geniş bir lenfatik drenaj sistemi vardır. Bir yüzeysel lenfatik pleksus, visseral plevrayı süzer ve lenfi, akciğerlerin hilumuna, birkaç lenf düğümünün olduğu yere taşır. Daha derin bir lenfatik pleksus ise, bronşiyol ve bronşlarla ilişkilidir ve o da hiler lenf düğümlerine lenf taşır. Akciğer lobülleri içerisinde lenf damarları, tipik olarak hava yolları ile ya da interalveoler duvarlarla değil, septumlar içerisinde ilerlerler (17).

3.2. Surfaktan Protein-A

Surfaktan, intrapulmoner kanal sistemin içerisindeki akciğerler ve alveollerin normal gelişimi için gerekli olan, yüzey gerilimini azaltıcı etkisi ile

alveoler kollapsları önleyen ince sulu bir tabakadır (18, 19). Bu tabakanın tahmin edilen total sıvı kalınlığı ve yoğunluğu ortalama 70 kg'da 25 ml 'dir (20). 20-24. haftalarda tip 2 alveollerin lameller cisimciklerinde sentezlenmeye başlar. 35. haftadan sonra ise yeterli düzeye erişirler (18, 21). Sürfaktanın temel görevi, alveollerin yüzey gerilimini azaltmak ve atelettaziyi önlemektir (18). Sürfaktan yokluğunda, akciğerlerdeki yüzey gerilimi yaklaşık 70 mN/m iken, surfaktan varlığında bu gerilim yaklaşık 1 mN/m'ye iner (22). Ayrıca havayolu sıvı dengesinin ve bronşiyal hava yollarının temizlenmesinin düzenlenmesinde de görev alırlar (23). Son yıllarda yapılan çalışmalarda pulmoner surfaktanın, immünolojik, biyolojik ve biyolojik olmayan tehditlere karşı akciğeri korumada temel role sahip olduğu gösterilmiştir (22, 24). Bu nedenle surfaktan içeriği ve mekanizmasının, akciğerlerin gaz alışverişi, mikroorganizmalara karşı savunma mekanizması gibi fonksiyonlarını gerçekleştirmesi açısından oldukça önemli olduğu vurgulanmaktadır (20).

Pulmoner surfaktanın %80'i lipit, %12'si protein, %8'i nötral yağlardan oluşmaktadır. Lipitlerin %85'lik büyük bir kısmını ise fosfolipitler oluşturur (18). Sürfaktan fosfolipitleri, tip 2 alveollerin endoplazmik retikulumunda sentezlendikten sonra golgi cisimciklerine taşınarak veziküler yapıdaki lameller cisimciklerde depolanırlar (25, 26). Sürfaktan fosfolipitleri, yüzey geriliminin düşürülmesinde, surfaktanın alveole yayılmasında kritik rol oynarlar (18, 27). Sürfaktan proteinleri ise surfaktan protein-A (SP-A), surfaktan protein-B (SP-B), surfaktan protein-C (SP-C) ve surfaktan protein-D (SP-D) olarak tanımlanan apoproteinlerdir (21, 25). Bu proteinler solunum sisteminin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin doğru yapılması açısından oldukça gerekli ve önemlidir (28). SP-

B ve SP-C proteinleri hidrofobiktir ve surfaktan lipitleriyle etkileşime girerek yüzey gerilimini azaltmada görev alırlar. SP-A ve SP-D ise hidroliflik Ca⁺ bağımlı proteinlerdir ve pulmoner bağışıklığın korunmasıyla ilişkilidirler (29). SP-D, 43 kDa ağırlığında ve SP-A'nın homolog dizisine sahip bir proteindir (30). Tip 2 alveoler hücrelerin yanı sıra, trakeanın submukozal bezlerinde de varlığı tespit edilmiştir (31). SP-D'nin surfaktan metabolizmasını düzenlediğine dair çalışmalar mevcuttur (32). Ayrıca hemaglutinin oligosakkaritlerine bağlanıp influenza A gibi mikroorganizmaların ortamdaki temizlenmesine katkı sağladığı bildirilmiştir (33). SP-B, tip 2 alveoler hücrelerden ve bronşiyal epitelin silyasızlara hücrelerinden sentezlenen, surfaktan fonksiyonunu arttırmada görev alan 18 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (34). SP-C ise fosfolipit absorpsiyonunda görev alan 4.2 kDa ağırlığında olan çok küçük bir proteindir ve SP-B ile birlikte fosfolipitlerin hava-sıvı boşluğuna absorpsiyonunu arttırarak tübüler miyelin denilen alveoler surfaktan tabakasının öncül yapısının şekillenmesinde görev alır (35).

SP-A, 34-36 kDa ağırlığında, bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında en çok bulunan, alveollerdeki surfaktan fosfolipitlerin yüzey tansiyon düşürücü özelliklerini kolaylaştıran, surfaktan fosfolipit sentezini, sekresyonunu ve döngüsünü kontrol eden ve akciğer hasarı sırasında surfaktan fonksiyonu üzerine negatif etki gösteren plazma proteinlerini etkisiz hale getirebilen proteinlerdir (30, 36). Tip 2 alveoler hücrelere ait lameller cisimciklerden surfaktan sekresyonu başlar başlamaz, lameller cisimcikler tübüler miyelin olarak bilinen geometrik kafes benzeri morfolojiye bürünürler (37). Tübüler miyelin formasyonu için gerekli olan SP-A, bu kafes yapısının köşelerinde lokalizedir (38). RDS'li

yenidoğan bebeklerde hem tubüler miyelin hem de SP-A eksikliğinin görülmeleri, SP-A'nın tubüler miyelin oluşumunda rol aldığının bir göstergesi olmuştur (39). Tubüler miyelin, surfaktan fosfolipitlerini alveoler yüzeyde surfaktan tek tabaka oluşturacak şekilde yayılana kadar alıkoyar (38). SP-A, tip 2 alveoler hücrelerin yüzeyindeki reseptöre bağlanarak surfaktan fosfolipitlerinin tekrar kullanımı için alımlarını arttırır (40). SP-A'nın ayrıca surfaktan fosfolipit sekresyonunu azalttığı ve bu azalmanın alveollerdeki surfaktan mekanizmasını kontrol eden negatif feedback döngüsü için gerekli olduğu bildirilmiştir (41).

İnsan SP-A proteini, amino-terminal bölge, kollajen bölge, boyun bölgesi ve karbonhidrat tanıma bölgesi olarak isimlendirilen dört bölgeden oluşur ve SP-A1 ve SP-A2 genleri tarafından kodlanır (42). SP-A2 gen ekspresyonu sadece insan fetal akciğerlerde, yetişkin trakea ve bronşiyollerde tespit edilmiştir (43, 44, 45). SP-A gene ekspresyonları, birçok büyüme faktörü, hormon ve regülatör ajan tarafından kontrol edilir (30). İnterferon gama, prostoglandinler, endotoksin ve beta adrenerjik agonistlerin SP-A düzeylerini arttırdığı, insülin, tümör nekroz faktör α (TNF- α)'nın ise SP-A düzeylerini azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (46, 47, 48, 49, 50). Ayrıca glukokortikoidlerin SP-A ekspresyonu üzerine pozitif ve negatif etkileri olduğu, negatif etkilerinin yüksek hormon konsantrasyonlarda ortaya çıktığı bildirilmiştir (51). SP-A'nın insan fetal akciğer dokularında ikinci trimestırın erken dönemlerine kadar yani alveoler epitel hücrelerin farklılaşmasından öncesine kadar saptanamadığı rapor edilmiştir (52). Lameller cisimcik içeren farklılaşan tip 2 alveoler hücreleri gestasyonun 22.haftasında ortaya çıkar. Amniyotik sıvıya aktif surfaktan sekresyonu gestasyonun 30.haftasından sonra olur. Amniyotik sıvıdaki SP-A

immünreaktivitesinin ise ancak gestasyonun 30-32. haftaları arasında saptanabildiği rapor edilmiştir (53). Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, SP-A proteinin, tip 2 alveoler hücrelerden, siliya içermeyen bronşiyol hücre olan Clara hücrelerinden ve alveoler makrofajlardan salgılandığı gösterilmiştir (54, 55). SP-A mRNA ve proteinleri insan fetal trakea, bronşiyol epitel ve submukozal bezlerde de gösterilmiştir (43, 56, 57). Ayrıca SP-A immünreaktivitesi insan östaki tüpünde, yetişkin tavşanların orta kulak epitelinde, paranasal sinüslerinde, submukozal bezlerinde de belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada enfekte tavşanlardaki SP-A mRNA seviyelerinin sağlıklılarına göre artış gösterdiği bildirilmiştir. SP-A'nın orta kulak, paranasal sinüs ve östaki tüpündeki lokal bağışıklığa katkı sağladığı düşünülmüştür (58, 59). Gastrointestinal kanala ait epitel hücrelerinde ve lümen içeriğinde gastrointestinal surfaktan varlığına rastlanılmıştır (60). Midenin mukozal yüzeylerinde multilameller yapılı surfaktan fosfolipitleri, bağırsak epitel hücrelerinde de SP-A mRNA ve proteinleri tespit edilmiştir (61). SP-A'nın gastrointestinal kanaldaki işlevi tam olarak ortaya koyulmamış olsa da gastrointestinal epitel hücrelerinden surfaktan fosfolipit alınımını ve sekresyonunu düzenlediği, ayrıca gastrointestinal sistemdeki makrofajlara patojenleri sunarak ve patojenlerin epitele tutunmasını engelleyerek doğal bağışıklığa yardımcı olabileceği düşünülmektedir (59). Northern blot yöntemi ile insan prostatlarındaki SP-A mRNA varlığı ortaya konulmuştur. Ayrıca düşük düzeylerde insan timus ve dalak dokularında da SP-A mRNA seviyeleri tespit edilmiştir (62). Timus ve dalaktaki SP-A'nın yüzey tansiyonunun düşürülmesiyle ilişkili bulunmamıştır, fakat doğal savunma sisteminde rol oynayabileceği düşünülmüştür (59). Yapılan bir çalışmada perikardiyal, plevral ve

peritonal mezotelyal hücrelerde ve sinoviyal intimada da SP-A immünreaktivitesine rastlanılmıştır (63). SP-A'nın buralarda yağlama işlevinde, yüzey tansiyonun düşürülmesinde, hastalığa neden olan antijenlere bağlanıp makrofajlara sunulmasında görev alabileceği bildirilmiştir (59). Tükürük ve gözyaşı bezlerinin kanal epitellerinde de SP-A immünreaktivitesi belirlenmiştir (63). Tükürük ve gözyaşındaki SP-A'ların ağız ve gözdeki patojenlere karşı doğal bağışıklığın bir bölümünde rol oynayabileceği belirtilmiştir (59).

Son yıllarda SP-A'nın akciğer hastalıklarının teşhisinde markır olarak kullanımı ise oldukça yaygındır (64). SP-A delesyonlu transgenik farelerde akciğer solunum fonksiyonlarında önemli anormallikler olmamasına rağmen, grup B streptococcus, pseudomonas aeruginosa, respirator sinsityal virüs ve mikoplazma pulmonis enfeksiyonlarına olan yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (65, 66, 67, 68). Birçok hastalık durumlarında anormal SP-A düzeyleri tespit edilmiştir. Örneğin diyabetik gebe annelerin amniyon sıvısındaki SP-A düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (69, 70). Ayrıca akut respiratuar distress sendrom (ARDS)'lu hastaların BAL SP-A düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (71). Akciğerlerde hasar oluşturulan hayvan modellerinde meydana gelen respiratuar disfonksiyonun, geniş surfaktan agregat miktarlarındaki azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (72). Kistik fibrozis ve havayolları enfeksiyonunun birlikte görüldüğü hastalara ait BAL SP-A düzeylerinin enfeksiyonun eşlik etmediği kistik fibrozisli hastalara göre daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (73). Bu artışın enfeksiyona yanıt olarak gerçekleştiği bildirilmiştir. Fakat bakteriyal ve viral pnömonili hastalara ait BAL sıvılarında düşük SP-A düzeyleri tespit edilmiştir (74, 75). Yine aynı şekilde idiopatik pulmoner fibrozisli (IPF)

hastaların BAL SP-A düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (71, 76). Diğer taraftan pulmoner alveoler proteinoz, sarkoidoz ve hipersensitivite pnömonili hastaların BAL SP-A düzeylerinde de artış gözlenmiştir (77). Havayolu enfeksiyonlarına yanıtta fagositler ve havayolu epiteli tarafından salınan sitokinler ve diğer inflamasyon mediatörleri salınarak havayollarında kronik inflamatuvar yanıtta yol açarlar (78, 79). SP-A'nın ise bu inflamatuvar yanıtları baskılamada rol oynadığı bildirilmiştir (80). Bu görüşe uygun olarak pseudomonas aeruginosa ile enfekte SP-A gene delesyonlu farelerde, proinflamatuvar sitokin konsantrasyonlarında artış meydana geldiği tespit edilmiştir (66). SP-A'nın lokal savunmada da rol oynar. Örneğin SP-A'nın patojenlerin agregasyonuna yol açarak mukosilyer kaydırıcı etkiyle bu patojenlerin temizlenmelerini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (81). Ayrıca patojenlere bağlanan SP-A'ların, patojenlerin havayolu epitellerine bağlanmalarını engellediği de ortaya konulmuştur (82).

3.3. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

Gelişimin erken dönemlerinde alveolizasyon olaylanırken bir taraftan damar gelişimi de gerçekleşir. Akciğerlerde damarsal gelişim iki temel olaya dayanır; vaskülogenezis ve anjiogenezis (83). Vaskülogenezis, mezenşim içerisindeki endotel hücrelerden yeni kan damarları oluşması, anjiogenezis ise daha önce oluşan damarların filizlenmesiyle yeni kan damarlarının oluşması süreçlerini içerir (83, 84, 85).

Damarsal gelişimin, septal yapılanma ile yakından ilişkili olan karmaşık bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Sıçanlar ile yapılan ultrastrüktürel ve morfolojik çalışmalarda septal intertisyum kütle azalmasının, iki kapiler tabakanın birbirine yaklaşmasına yol açtığı bildirilmiştir (86). Mikrovasküler olgunlaşma

boyunca, alveoler septalardaki çift tabakalı kapiler ağ tek tabakaya düşer (sıçanlarda postnatal 14-21. gün, insanlarda postnatal 0-3 yaş) (87, 88, 89, 90). Postnatal üçüncü haftada, akciğer hacmindeki %25 artışa karşılık intertisyel doku hacminde %27 azalma olduğu bildirilmiştir. İki kapiler tabakanın birbirlerine yaklaşarak lümenlerini birleştiği ve bu olayların birçok bölgenin bazı özel kısımlarında gerçekleştiği rapor edilmiştir (86). Postnatal 3.haftanın sonunda, sıçan akciğerlerinin büyük bölümü olgun ve incelmış interalveoler duvarlardan oluşur (91). Mikrovasküler olgunlaşma tamamlandıktan sonra, gaz değişim bölgelerinin genişlemesi yeni alveoler septa eklenmeleriyle değil de akciğer gelişimiyle gerçekleşir. Akciğer rejenerasyonu dışında, olgun bir alveoler septumda yeniden yapılanma görülmez (87, 88, 89, 90). İnsanlarda akciğerlerdeki mikrovasküler olgunlaşma erken dönemlerde başlar ve kısmen alveolizasyonla birlikte gider (91). Vasküler yüzey alanlarının gebeliğin geç dönemlerinde ve erken postnatal dönemlerde artış gösterdiği rapor edilmiştir. Bu artışa neden olan mekanizmalar net olarak anlaşılmamakla birlikte distal hava yolları ve damarsal gelişim arasındaki koordinasyonun normal akciğer gelişimi açısından temel role sahip olduğu düşünülmektedir (92). İnsanlarda doğumdan sonra ilk bir yıla kadar akciğerin büyük bir kısmı olgunlaşmıştır, fakat süreç 2-3 yaşına kadar devam eder. Bu morfolojik özelliklere dayanarak üç yaşındaki bir çocuğun akciğerlerinin olgun akciğerlerin bir minyatürünü temsil edebileceği düşünülmektedir (91).

Akciğer damarlanması, mezodermal mezenşimden köken alan ve mezenşimin epitel ile yakından ilişkili hale gelmesiyle ilişkilendirilen bir süreçtir. Akciğer parankiminde görülen bu yakın ilişki, etkili gaz değişimi için gerekli olan alveoler epitel ve endotelin yakın temasının olduğu bölgelerde daha belirgin

olarak görülür. Mezenşimin, epitel dallanmasında ve farklanmasında rol aldığı bilgisi pulmoner damarlanmanın mezenşim-epitel etkileşimine bağlı olabileceği hipotezini ortaya koymuştur (93). Pulmoner arter ve venlerin filizlenmesi, akciğerlerde tomurcuklanma ve dallanmaların görüldüğü zamana paralel ortaya çıkar. 4.aortik arkustan köken alan prekapiler damarlar ve primitif atriyumdan köken alan postkapiler damarlar filizlenerek, dallanan akciğerlere doğru büyür (94). Anjiogenik yatakta oluşan pre- ve post-kapiler damarların sıçanlarda geç embriyonik dönemde (fetal 13.gün) büyümeye başladığı tespit edilmiştir. Fakat gelişimin bu evresinde anjiyojenik yatak ile vasküler pleksus arasında ilişki kurulamamıştır (83). Sıçanlarda, gestasyonun 13.gününde primitif epitel tüpün dallanarak trakeabronşiyal ağacın proksimal kısmını oluşturduğu, VEGF ile VEGF'in tirozin kinaz reseptörlerinden endotel hücre belirteci olan flk-1 pozitif hücrelerin pulmoner epitele yakın bir pozisyon üstlendiği gösterilmiştir. Fetal akciğer gelişiminin ikinci evresinde, flk-1 pozitif hücrelerin birbirine bağlı hücre ağı oluşturmak üzere birleştiği belirtilmiştir. Sıçanların psödoglandular evresi (gestasyonun 13.5-18 günleri arasında) yoğun mezenşim ile çevrili dallanan epitelyal tüp ile karakterizedir. Erken psödoglandular evrede (gestasyonun 14.gününde) dallanan havayollarının flk-1 pozitif hücrelerle yoğun olarak çevrili olduğu rapor edilmiştir. İletici havayolları ve terminal bronşiyollerin vasküler yapılar ile birlikte oluştuğu, flk-1 pozitif hücrelerin de artık mezenşim boyunca dağınık olarak bulunduğu ortaya konulmuştur (93). Erken psödoglandular evrede artık pre- ve postkapiller damarlar vasküler pleksus ile ilişkili hale gelir. Havayollarına eşlik eden geniş damarların ancak gestasyonun 18.günde görülmeye başladığı, arter-kapiller-ven dolaşımının ancak kanaliküler evrede

tamamlandığı bildirilmiştir (83). Bronşiyal ağaç oluşumunun tamamlanması erken kanaliküler evrede gerçekleşir. Distal epitel hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması, artan periferel damarlanmaya eşlik eder. Prolifere epitel ile yakın ilişkili olan mezenşimde azalma olmasına rağmen flk-1 pozitif hücrelerdeki artışın damarlanmadaki artışın bir göstergesi olduğu belirtilmiştir. Flk-1 pozitif hücrelerin mezenşimde yoğun olduğu ve kanaliküler evredeki akciğerlerde oluşan primitif terminal asinüsler ile karakterize yapılarla ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur. Kapiler ağlar daha sonra kan-hava bariyerini oluşturacak primitif hava boşlukları ile çevrenir (93).

Sakküler ve alveoler evrelerde fetal ve yenidoğan gelişimine dair önemli olaylar meydana gelir. Sıçan fetüslerinde sakküler evre boyunca, dallanarak büyümeye devam eden periferel epitel hücrelerinin gelişmekte olan uzak havayollarının kapilarizasyonuna eşlik ettiği gözlenmiştir. Sıçanlarda gestasyonun 20.gününde, flk-1 hücrelerinin gelişen hava boşluğu ile yakından ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Akciğer gelişiminin son evresi, postnatal dönem boyunca devam eder ve alveoler evrede terme ulaşır. Postnatal dönemdeki akciğerlerin olgun alveollerinde de flk-1 hücrelerinin ekspresyonlarının göze çarptığı tespit edilmiştir. Akciğer gelişiminin her evresinde flk-1 pozitif hücrelerinin dallanan epitel hücreleriyle olan karakteristik ilişkisine devam ettiği, bunun da doku etkileşimlerinin akciğer damarlanmasında kritik role sahip olabileceğinin bir göstergesi olduğunu ortaya koymuştur (93).

Akciğerlerdeki damar gelişimi ve farklılaşması ile ilgili yapılan çalışmalarda endotel hücrelerinde çeşitli biyomarkırlar tespit edilmiştir. Bu markırların olgunlaşan ve farklılaşan endotel hücrelerinden eksprese olduğu rapor

edilmiştir (95). VEGF ve FGF gibi anjiogenik faktörlerin akciğerin damarsal gelişiminde anahtar role sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (96, 97, 98). VEGF-A veya VEGF-1 olarak da isimlendirilebilen VEGF, 34–46 kDa büyüklüğünde, embriyogenezde kan damarları oluşumunda görev alan ve bu özelliği ile dokularda anjiogenezi başlatan ve birçok farklı hücre tipinde üretilen bir proteindir (99, 100). Bütün organlar içerisinde VEGF gen ekspresyon düzeylerinin en yüksek olduğu organ akciğerlerdir (101, 102). Yapılan çalışmalarda, akciğerdeki VEGF ekspresyon bölgelerinin büyük kısmının tip 2 alveoler hücrelerden kaynaklandığını göstermiştir (103, 104). Fakat havayolları epitelleri ve düz kasları ile nötrofillerin de akciğerdeki VEGF'in potansiyel kaynakları olduğu ortaya koyulmuştur (104, 105, 106). VEGF, endotel hücrelere spesifik, anjiogenezi stimüle eden, endotel hasara karşı koruma sağlayan bir mitojendir (107). VEGF'nin normal gelişim boyunca vaskülogenezis ve anjiyogenezisi etkilediği daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (93, 99, 107). VEGF'in tirozin kinaz reseptörleri flt-1 ile flk-1, erken embriyolojik dönemde primordiyal endotel hücrelerinde tespit edilmiştir (108, 109). Olgun endotel hücrelerdeki flk-1, VEGF ligandına karşı mitojenik ve kemotaktik yanıtı aracılık eder. Flk-1'in anjioblastın en erken evresinde markır olarak kullanıldığı ve damarlanmanın bir göstergesi olduğu akciğer gibi gelişmekte olan organlarda gösterilmiştir (110, 111). Yetişkin sıçan akciğerindeki flk-1 ekspresyonunun erken postnatal sıçan akciğerlerindeki göre azaldığı bildirilmiştir. Flk-1'in fetüs ve yenidoğandaki bu güçlü ekspresyonu endotel proliferasyonunun bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (93). Yetişkin akciğerlerde VEGF'in alveoler epitel hücrelerinden ve makrofajlardan salgılandığı, ayrıca böbrek glomerüllerinde,

koroid pleksus, akciğer, karaciğer, korpus luteum gibi damardan zengin organlarda da ekprese olduğu bildirilmiştir (101, 102). VEGF mRNA ve protein ekspresyonu, fetal akciğer gelişiminin orta dönemlerinde havayolları epitel hücrelerinde de tespit edilmiştir. VEGF akciğer gelişiminin erken dönemlerinde epitelyal-endotelyal etkileşiminde önemli rol alır (112, 113). Yapılan deneysel çalışmalarda bronkopulmoner displazi (BPD)'li tavşan ve primat modellerinde VEGF ekspresyonunun azaldığı ve VEGF'in BPD ve RDS'li hastalarda görülen akciğer hasarlarının ardından tamir mekanizmasında önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (114, 115). Ayrıca henüz puberteye ulaşmamış sıçanlarda, VEGF reseptör inhibisyonunun alveolizasyonunu bozduğu, vasküler gelişimi azalttığı ve pulmoner hipertansiyona neden olduğu rapor edilmiştir (92, 116).

VEGF embriyolojik dönemin erken evrelerinde damarlanma için gereklidir. VEGF'in tek allelinin genetik inaktivasyonunun anormal damarlaşmaya yol açtığı daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (117, 118). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, postnatal akciğer gelişimi boyunca hipoksi, hiperoksi koşullarının alveolizasyonu bozabileceği ve akciğer hipoplazisine neden olabileceği ortaya koyulmuştur (85, 119, 120). Akciğer hipoplazisinin altında yatan mekanizmaların anormal pulmoner dolaşım ile ilişkili olduğu ve bozulan alveolizasyonun akciğer damar gelişimindeki hasara bağlı olduğu bildirilmiştir (92, 121). Yapılan bir çalışmada, yenidoğan sıçanlara anjiogenezi inhibe eden ajan uygulanmasının total akciğer ağırlığında, alveolizasyonda ve total pulmoner arter yoğunluğunda azalmaya yol açarak akciğer hipoplazisine neden olduğu ve alveolizasyonu azalttığı ortaya koyulmuştur. Buna bağlı olarak postnatal akciğer gelişiminde anjiogenez

mekanizmasında oluşan herhangi bir hasarın alveolizasyonu engellediği rapor edilmiştir (92).

3.4. Tütün

Tütün, Solanacea (Patlıcangiller) familyasının *Nicotiana* cinsi içerisinde yer alan, kurutulmuş yaprakların yakılması ile ortaya çıkan dumanın içe çekilmesi veya tozlarının enfiye halinde buruna çekilmesi suretiyle kullanılan tek yıllık bir bitkidir (122). *Nicotiana* cinsine dâhil yaklaşık 65 türü vardır fakat bu türlerden sadece “*Nicotiana rustica*” ve “*Nicotiana tabacum*” puro, sigara, pipo gibi tütün mamullerinin yapımında kullanılır. Tütün bitkisinin tarla dönemi, iklim koşullarına bağlı olarak 80-120 güne kadar değişebilir. Farklı iklim ve toprak tiplerine uyum gösteren birçok çeşidi mevcuttur. Ticari açıdan tütün bitkisinin en verimli ve yararlanılan kısmı yaprağıdır (123). Yaprığın kimyasal ve fiziki özellikleri tütünün temel yapısını oluşturur. Tütün yapraklarında 2500 civarında organik ve inorganik madde bulunur (124). Yaprığın içeriğinde bulunan nikotin, total azot ve indirgen maddeler gibi kimyasallar tütün mamullerinin üretilmesinde önemli rol oynar. Yaprığın şekli, su tutma kabiliyeti (higroskopisite), yanma özelliği, kalınlığı-inceliği, koku alma özellikleri ise tütün bitkisinin fiziksel yapısını oluşturur. Tütün bitkisini diğer bitkilerden ayıran en temel özelliği, bitkinin köklerinde sentezlenerek yapraklarında biriken organik azotlu madde olan nikotindir. Nikotin, keyif verici ve alışkanlık yapıcı özellikleri olan tütün yaprağında en bol bulunan alkaloiddir (123).

3.4.1. Tütünün içeriği

Tütün dumanı farklı alt sınıflarda bulunan 7.357 kimyasal yapı içerir (125). Nitrojen, O₂, CO₂, karbonmonoksit (CO), metan, nikotin tütün dumanında majör miktarlarda bulunan, aseton, asetilen, formaldehit, propan, hidrojen siyanür (HCN) ve tolüen ise eser miktarlarda bulunan kimyasal maddelerdendir (126). Bu kimyasal içeriğin en az 69'unun kanserojen, diğer toksik maddelerin ise major hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (125). Tütünün majör fizyoaktif komponenti düşük molekül ağırlığa sahip nikotindir İnhalasyondan sonra bukkal ve nazal mukozalar, akciğer ve deri tarafından emilimi gerçekleşir (127). Nikotin, serbest radikal ve reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek toksik etki gösterir ve bu yolla hücre hasarına ve apoptozis yolu ile hücre ölümlerine yol açar (128). CO gazı, tütün dumanının % 3-5'ini oluşturur ve hemoglobine güçlü bir afinite ile bağlanarak, kanın O₂ taşıma kapasitesinin düşmesine neden olur. Bu durum kalbi etkileyerek göğüs ağrılarının artmasına, egzersiz toleransının azalmasına ve baş ağrılarına yol açar (129, 130, 131). Diğer kimyasal maddelerden olan 1,3-bütadien'nin önemli derecede kanser riski oluşturduğu, akrolein ve asetaldehit'in solunum yollarında tahrişe yol açtığı, siyanür, arsenik ve kresollerin kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskinin başlıca nedenleri olduğu ortaya konulmuştur (132, 133). Tütünün içeriğindeki diğer kimyasal alt sınıflar ise metaller, N- nitrozamin ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar'dır (PAH) (134). Bu maddelerin de karsinojenik ve mutajenik etki gösterdiği çalışmalarda rapor edilmiştir (132, 133, 134).

3.4.2. Dünyada ve Türkiye’de Tütün Kullanımı Epidemiyolojisi

Dünya sağlık örgütü (DSÖ)’ nün 2015 yılında yayınladığı rapora göre dünyada yetişkin bireylerdeki tütün kullanım oranının %21 olduğu (950 milyon erkek, 177 milyon kadın), bunun %7’sini kadınların, %36’sının erkeklerden oluştuğu rapor edilmiştir. Ülkelerin ekonomik durumlarına göre oranların değiştiği, yüksek gelirli ülkelerde %25 (%32 erkek, %17 kadın), orta gelirli ülkelerde %21 (%38 erkek, %4 kadın), düşük gelirli ülkelerde ise %16 (%30 erkek, %3 kadın) olduğu bildirilmiştir. Ayrıca 2007-2013 arası dünya nüfusu artmasına rağmen tütün kullanım oranının %23’ten %21’e düştüğü de rapor edilmiştir. Raporda tütüne bağlı hastalıkların halk sağlığını ciddi tehlikeye attığı, her 6 saniyede bir kişinin, yılda ise yaklaşık 6 milyon kişinin tütün ve tütün ürünlerinden hayatını kaybettiği belirtilmiştir. Ayrıca gerekli önlemler alınmazsa 2030’da yılda 8 milyondan fazla kişinin tütüne bağlı hastalıklar nedeniyle hayatını kaybedeceği uyarısı yapılmıştır. Tütün kullanımının kanser başta olmak üzere kalp, diyabet, kronik solunum yolu gibi bulaşıcı olmayan hastalıklara neden olduğu belirtilen raporda, 2012 yılında 70 yaş altı 16 milyon kişinin bulaşıcı olmayan hastalıklar nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmiştir (135). Küresel Yetişkin Tütün Araştırması (KYTA)’nın 2012 yılında sunduğu raporda ise, Türkiye’de toplam 14,8 milyon kişinin (%27,1) tütün ürünlerini kullandığı tespit edilmiştir. Tütün kullanım sıklığının erkeklerde %41,5 iken, kadınlarda bu oranın %13,’e düştüğü bildirilmiştir (136).

3.4.3. Çevresel Tütün Dumanı

Tütünün yanması ile iki tip duman oluşur. Ana duman, 950 °C oluşan ve içen kişi için duman maruziyetinin temel kaynağını oluşturan dumandır (137).

Ana duman işlem görme açısından iki kısma ayrılır; gaz (duman) fazı ve partiküler faz (katran). Partiküler faz, tütün içilmesinde verici sistem olan filtre tarafından alıkonurken, gaz fazı filtreden geçer (138). Tütün dumanının yaklaşık % 2.95'ini oluşturan gaz fazında azot (N₂), O₂, CO₂, CO, asetaldehit, metan, HCN, nitrik asit, aseton, akrolein, amonyak, metanol, hidrojen sülfür, hidrokarbonlar, nitrozaminler ve karbonil bileşenleri bulunurken, partiküler fazda karboksilik asitler, fenoller, su, nem tutucu maddeler, nikotin, terpenoidler, parafin mumu, tütüne özel nitrozaminler, PAH, ve katekol bulunur (Tablo 1). (125, 139, 140). Yan duman ise 350 °C oluşan, iki solunan tütün arasındaki bekleme süresinde açığa çıkan dumandır ve çevresel tütün dumanının (ÇTD) temel kaynağını oluşturur (137). Yapılan çalışmalarda yan akım dumanına maruz kalanlarda ana akıma göre daha fazla PAHs, nitrozamin, aza-aranes, aromatik amin, CO, nikotin ve amonyak tespit edilmiştir (141, 142). Ayrıca nikotinin yüksek pH'a sahip olmasından dolayı yan akım dumanında daha fazla bulunduğu bildirilmiştir (141).

Tablo 1. Tütün dumanının partikül ve gaz fazı (140).

Partikül fazı	Başlıca Etki	Gaz fazı	Başlıca Etki
Tar (katran)	Mutajenik/karsinojenik	Karbonmonoksit	O ₂ 'nin hemoglobine bağlanmasını bozar.
Nikotin	Doza-bağımlı uyarıcı veya parasempatik N-kolinerjik reseptörler üzerine depresör	Nitrojen oksitler	İrritan Proinflamatuvar Sitotoksik
Aromatik hidrokarbonlar	Mutajenik/karsinojenik	Aldehitler	İrritan Proinflamatuvar Sitotoksik
Fenol	İrritan, Mutajenik/karsinojenik	Hidrosiyanik asit	İrritan Proinflamatuvar Sitotoksik
Kresol	İrritan, Mutajenik/karsinojenik	Akrolein	İrritan Proinflamatuvar Sitotoksik
b-naftilamin	Mutajenik/karsinojenik	Amonyak	İrritan Proinflamatuvar Sitotoksik
Benzo (a) pren	Mutajenik/karsinojenik	Nitrozaminler	Mutajenik Karsinojenik
Katekol	Mutajenik/karsinojenik	Hidrazin	Mutajenik Karsinojenik
İndol	Tümör hızlanması	Vinil klorid	Mutajenik Karsinojenik
Karbazol	Tümör hızlanması	-	-

ÇTD maruziyetinin artan morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğu, prematür ölümlere, ani bebek ölümlerine, düşük doğum ağırlıklı bebek doğumlarına, kansere, kardiyovasküler ve pulmoner hastalıklara yol açtığı ve grup A karsinojeni olduğu bilinmektedir (143, 144, 145). Avrupa Birliği ülkelerinde iş yerlerinde yaklaşık 7.5 milyon çalışanın ÇTD' ye maruz kaldığı bildirilmiştir (146). ÇTD maruziyetinin yoğun olduğu iş yerlerinde çalışanlarda akciğer ve diğer solunum sistemi kanserlerinin görülme riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (147). Ayrıca ÇTD'ye maruz kalan kişilerde gelişen kardiyovasküler riskin, kronik aktif içicilerdekine yakın oranlarda olduğu bildirilmiştir (148). Yapılan bir çalışmada kahvehane çalışanlarında kontrol grubu ile

karşılaştırdıklarında bronşit gibi solunum hastalıklarına yakalanma oranında artış olduğu bildirilmiştir (149).

3.4.3.1. Çevresel Tütün Dumanının Sağlık Üzerine Genel Etkileri

Tütün dumanında yüksek oranlarda bulunan ROS, dokularda oksidan-antioksidan dengesini bozarak oksidatif strese neden olur. Bu durum deoksiribonükleik asit (DNA) ve doku hasarına, ayrıca apoptozis yolu ile hücre ölümlerine yol açarak yaşlanmada, kanser ve aterosklerozda önemli rol oynar (128, 150). Tütün dumanının, in vivo oksidatif stres göstergesi olan izoprostan seviyelerinde artışa yol açtığı bildirilmiştir (151). Tütün dumanının toksik bileşenlerinden olan nikotinin, kardiyovasküler ve solunum sisteminin yanı sıra üriner, genital, endokrin, sindirim, santral ve periferik sinir sistemlerini de etkilediği bildirilmiştir (133, 152, 153, 154, 155). Amerika'da 35 yaş üstü tütün ve tütün ürünleri kullanan yetişkin bireylerin %33'nün kardiyovasküler hastalıklardan, %20'sinin ise iskemik kalp rahatsızlıklarından öldüğü rapor edilmiştir (156). Yapılan bir çalışmada, tütün dumanının karotid arter duvarlarındaki kalınlaşma ve aterosklerozis ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (157). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda tütün dumanının erkek fertilitesi üzerine etkisinin olduğu, semen kalitesini bozduğu rapor edilmiştir (154, 158). Tütün dumanının, rezerv ovaryumdaki foliküllerin azalmasına yol açtığı, uterus implantasyonunu bozduğu ve gebelik oranlarını azaltarak dişi üreme sistemini de etkilediği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (159, 160). Nikotinin dolaşımdaki büyüme faktörü, katekolamin, kortizol gibi insülin antagonist hormon seviyelerini arttırarak ve sempatik sinir sistemini etkileyerek insülin hassasiyetini bozduğu ortaya koyulmuştur (161). Tütün dumanının dolaşımdaki lökosit sayılarında, C-

reaktif protein ve fibrinojen seviyelerinde artışa yol açarak kronik inflamasyona sebep olduğu bildirilmiştir (162). Ayrıca tütün dumanının pnömokok, pnömoni, lejyoner hastalığı, meningokok hastalığı, grip, soğuk algınlığı ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyon hastalıklarıyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (163). Tütün dumanının enfeksiyon ile ilişkisi doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemlerini içeren oldukça kompleks bir mekanizmadır ve henüz net olarak ortaya konulmamıştır. Sigara içenlerde içmeyenler ile karşılaştırıldıklarında lökositöz tablosu geliştiği, kırmızı kan hücrelerinde sayıca artış olduğu bildirilmiştir (164). Kronik tütün dumanı maruziyetinin, yardımcı T hücre (CD4+) sayılarında düşüşe yol açarak B hücre proliferasyonunu ve immüoglobulin sentezini azalttığı, bu immünsüpresif etkiyle de enfeksiyon riskinin arttığı tespit edilmiştir (163). Sigara içenlerde, T-hücre mitojenlerine yanıt olarak lenfosit sayılarında ve polimorfonükleer lökositlerin kemotaksis ve migrasyonlarında azalma olduğu rapor edilmiştir (165).

Tütün dumanının oksidatif stresin artması sonucu sistemik kronik inflamatuvar etkiye neden olduğu tespit edilmiştir (166). Tütün dumanının, virüs ve bakteri gibi intrasellüler patojenlerin immün yanıtında görev alan interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskıladığı ortaya koyulmuştur (167). Sigaranın intrauterin enfeksiyon riskini de arttırdığı, bakteriyal vajinozis için iki-üç kat daha fazla risk oluşturarak erken doğumları tetiklediği bildirilmiştir (168). Sigaranın erken doğum için risk oluşturma mekanizması, vajinal floraya olan etkisiyle ve langerhans hücrelerinin tükenmesine yol açarak lokal immünsüpresyona neden olması ile açıklanabilir

(169). Sigaranın ayrıca çinko düzeylerini azaltarak da vajinal enfeksiyonlara yakalanma riskini arttırdığı gösterilmiştir (170).

3.4.3.2. Çevresel Tütün Dumanının Akciğer Üzerine Etkisi

Yetişkin bir birey günde 10.000 litre hava solumaktadır. Akciğerlerin solunan bu havadaki gaz ve partiküllere karşı kendini koruması için fiziksel bariyer, öksürme refleksi, mukosilyer yapı, alveoler makrofaj ve immün savunma gibi doğal koruma mekanizmaları vardır (171). Havadaki toz ve polen gibi büyük partiküller alt havayollarına ulaşmadan, üst havayolları tarafından uzaklaştırılır. Fakat 2.5 µm'den küçük küçük, akciğerlere ulaşır, havayollarında ve alveollerde birikirler. Bu partiküller mukosilyer tabaka ve alveoler makrofajlar tarafından uzaklaştırılır. Fakat tütün maruziyeti sonucu bu koruma mekanizmaları bozulabilir ve çok miktarda partikül birikerek akciğerlerde olası hasarlar meydana getirebilirler (172). Bozulan bu koruma mekanizmalarının potansiyel enfeksiyon artışına yol açtığı, biriken bu karsinogen ve toksik maddelerin ise doğal bağışıklığı etkileyerek mukus üretimini arttırdığı, havayolları lümenlerinin etkili temizlenmesini önlediği, solunum sistemine bağlı malign ya da malign olmayan hastalıklar için risk oluşturduğu tespit edilmiştir (173, 174). Tütün kullanan bireylerde akciğer havayollarında, epitel hücrelerinde ve bronşiyol yapılarında patolojik değişikliklerin gözleendiği, tütün dumanındaki toksik maddelerin alveol epitel bariyerindeki sıkı bağlantıların yapısını bozarak inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu başlattığı rapor edilmiştir (175, 176). Tütün dumanı maruziyetinin kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), İPF, kronik bronşit, amfizem ve astım gibi malign olmayan solunum hastalıklarına yol açtığı bildirilmiştir (177). Sigara kullanan KOA'lu hastaların küçük havayolu duvarlarında kalınlaşmalar

gözlendiği, bu patolojik durumların akut inflamatuvar yanıtları uyardığı bildirilmiştir. İnflamatuvar olaylarda gözlenen artan mikrovasküler geçirgenliğin ise fibrinojen gibi büyük moleküllerin geçişine izin vererek granülasyon dokusunun oluşmasına yol açtığı rapor edilmiştir (176).

Tütün dumanı, distal havayollarından terminal bronşiyollere kadar olan hava boşluklarının genişlemesine ve protez/antiproteaz dengesizliğine yol açarak amfizem tablosunun görülmesine yol açar (178). Tütün maruziyeti boyunca, oksijen serbest radikallerin üretildiği ve bu radikallerin akciğer matriks komponentleri yanı sıra hücre membranlarındaki lipitlere zarar verdiği, bu matriks yıkımının, özellikle elastin yıkımının, amfizeme neden olabileceği bildirilmiştir (179). Akciğerlerdeki vitamin A konsantrasyonu ile amfizem arasında ciddi ilişki olduğu düşünülmektedir. Tütüne maruz kalan sıçan serumlarında, akciğer ve karaciğer vitamin A düzeyleri ile akciğer elastik lif içeriğinde düşüş olduğu rapor edilmiştir (180). Ayrıca tütün kullanımına bağlı olarak büyük havayollarında silya kaybı, mukus bezlerde hiperplazi, goblet hücre sayılarında artış, skuamöz metaplazi, küçük havayollarında mukus birikimi, alveol destrüksiyonu ve küçük arter sayılarında azalma görüldüğü tespit edilmiştir (181, 182).

3.4.3.3. Çevresel Tütün Dumanı ve Gebelik

İnsan gelişiminde, fertilizasyon ve konseptus oluşumundan sonraki ilk sekiz haftayı içeren embriyonal dönem oldukça önemlidir. Bu süre zarfında birçok kompleks etkileşimler meydana gelerek embriyonal ve ekstraembriyonal yapıların oluşumu gerçekleşir. Embriyonal dönem, farklılaşmaların hızla gerçekleştiği bir dönemdir. Bu dönemde organlar gelişirken dış ajanlara (teratojenler) karşı oldukça hassastır ve gelişimleri bu ajanlardan etkilenir. Bazı çevresel toksinlerin,

embriyo ve fetüs gelişimi üzerine etkileri doğrudan ve ölümcül olabilir ya da ciddi sorunlar oluşturabilir. Tütün ve tütün ürünlerini içeren kimyasalların da bebeğin gelişimine üzerine birçok zararlı etki gösterdiği, intrauterin gelişme geriliği ve preterm doğumla ilişkili olduğu, ayrıca davranış bozukluklarına da yol açtığı bilinmektedir (11, 183). Son 25 yılda yapılan birçok çalışmada sigaranın fetüs üzerine olan olumsuz etkileri belirtilmiş, ayrıca gebeleri bilgilendirmeye ve fetüsü sigara dumanından korumaya yönelik çok sayıda çalışma yürütülmüştür. DSÖ'nün raporunda, dünyada 15 yaş üzeri kadınlarda sigara içme sıklığının %8 olduğu, Türkiye'de ise bu yüzdenin %13,1'e yükseldiği bildirilmiştir (136, 184). Yapılan başka bir araştırmada, dünya genelinde gebe kadınların ortalama %20'sinin gebelikleri süresince sigara kullanımına devam ettiği, fetüs ve yenidoğan yavruların bu sigara dumanından etkilendiği rapor edilmiştir (185). Sigara içen kadınların ancak %25'inin gebelikleri boyunca sigarayı bırakabildikleri, gebelikleri süresince sigaraya devam eden kadınların %28'inin ise günde 20'den fazla sigara içtiği bildirilmiştir (186). Almanya'da yapılan bir araştırmada ise gebelerin yaklaşık dörtte birinin gebelikleri boyunca sigara içmeye devam ettikleri ve bu nedenle, yılda 150.000 yenidoğanın sigaranın olumsuz etkilerine intrauterin olarak maruz kaldığı rapor edilmiştir (187). Diğer bazı ülkelerde yapılan nüfus ve sağlık araştırma sonuçlarına göre; gebelikte tütün kullanımının Senegal'de %0.14, Dominik Cumhuriyetinde %9.3, Madagaskar'da %11.9, Ekvator ve Guatemala'da %0.8, Uruguay'da ise %18.3'lere yükseldiği bildirilmiştir (185, 188). Gebe annelerin sigara içmelerinin yanı sıra pasif olarak sigara dumanına maruz kalmaları da fetüsü olumsuz etkilemektedir (187). Çin'de yapılan bir araştırmada kadınlar arasında sigara içme oranının %14 civarında

olduğu, bununla birlikte gerek evde gerekse iş yerlerinde %39.5 gibi çok yüksek oranlarda pasif içici konumunda oldukları bildirilmiştir (189). Güneydoğu Asya ülkelerinde pasif içiciliği saptamaya yönelik mekonyum analizi yapılan çok merkezli bir çalışmanın sonuçlarına göre; Porto Riko'da %69.8, Bangkok'da %58.6, Singapur'da %42 oranlarda fetusun intrauterin sigara dumanına maruz kaldığı tespit edilmiştir (190). Türkiye'de yapılan çalışmalarda, gebelik döneminde sigara içen kadınların oranı %15 ila %25 arasında değişmekte iken pasif içicilik oranının yaklaşık %50 civarında olduğu ortaya koyulmuştur (191, 192).

Tütün dumanının majör farmakolojik aktif kimyasal maddesi nikotindir ve prenatal dönemde nikotin maruziyetinin, doğan çocuklarda sinir sistemi, solunum ve kardiyovasküler sistemi gibi birçok multiple organ sistem gelişimlerini etkilediği bilinmektedir (126). Nikotin ve CO, tütün dumanının bütün formlarında olan zararlı kimyasallardır ve bunlar plasenta bariyerini hızlı bir şekilde geçerek fetal kompartmanda aşırı doz birikirler (193). Fetüsteki nikotin ve onun metaboliti olan kotinin miktarının annedekine yakın değerlerde olduğu yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (194). Gebe kadınlar ve laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, tütün kullanımı sonucu vücutta biriken bu kimyasal maddelerin gebelik sonuçlarına, fetüs gelişimine, yenidoğan ve sonraki yaşamına zararlı etkiler verdiği tespit edilmiştir (195). Günde ondan fazla sigara kullanan anneler üzerinde yapılan bir çalışmada annelerden alınan amniyon sıvılarında kromozom anomalilerinde artış olduğu, 11q23 kromozom bandında kırılma gözleendiği ve bunun hematopoetik maligneteler ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (196). Maternal tütün dumanı maruziyeti ile göbek kordonu ve

plasentada değişiklikler, dış gebelik, bebekte gelişme geriliği, abortus, erken doğum, düşük doğum ağırlığı, bebekte doğum öncesi ve sonrası ani ölüm, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, bilişsel yetersizlik gibi önemli sorunların ortaya çıktığı bildirilmiştir (197). Bu düşük doğum ağırlıklı ve erken doğan bebeklerin ise yetişkinlikte kronik hastalıklara yakalanma riskinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (198). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, maternal tütün dumanı maruziyeti ile yenidoğanlarda görülen konjenital orofasiyal yarıklar, konjenital kalp hastalıkları, ekstremitte malformasyonları, hipospadias, gastroşizis ve kraniyosinostoz gibi konjenital malformasyonlar arasında ilişki bulunmuştur (199, 200). Ayrıca maternal tütün dumanı maruziyetinin yenidoğan akciğer, karaciğer, mide ve böbrek dokularında histopatolojik değişikliklere, akciğerlerde apoptozis artışına, mezenşimal hücrelerde farklılaşmaya, bronşiyal kaslarda hiperplaziye, anormal hematopoez tablosuna, karaciğer safra kanallarında proliferasyona, böbrek glomerülleri, gastrik epitel ve interstisyel villusların olgunlaşmasında gecikmeye yol açtığı bildirilmiştir (201). Prenatal nikotin maruziyetinin üreme fonksiyonlarını da etkilediği, prenatal kotininin yenidoğan sıçan testislerindeki testesteron üretimini azalttığı, yetişkinliğe eriştiklerinde ölçülen serum testesteron düzeylerinde de azalma olduğu gösterilmiştir (202). Maternal tütün dumanının yenidoğan beyin sapındaki nöroadranerjik aktiviteleri azaltarak beyin biyolojik parametlerini de etkilediği ortaya koyulmuştur (203). Özellikle, tütün dumanının içeriğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan CO'nun hemoglobine bağlanarak fetal dokularda kronik hipoksiye yol açtığı rapor edilmiştir (204).

Maternal tütün dumanındaki nikotinin plasental bariyeri geçerek, yenidoğan akciğerleri üzerine olumsuz etki göstererek bronş oluşumunu ve alveolizasyonu bozduğu tespit edilmiştir (205). Prenatal nikotin maruziyeti sonucu gelişmekte olan akciğer dokusundaki nikotin ve reseptörünün interaksiyonunun, anne ve çocuktaki pulmoner mekanizmanın değişiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir (206). Nikotinin serbest radikallerden olan süperoksit anyon üretimini arttırarak oksidasyona neden olduğu, bu oksidanların alveoler-kapiller membranlarda hasar oluşturduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle sigaranın akciğerler üzerinde meydana getirdiği hasarların altında yatan mekanizmanın oksidanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (207, 208). Maymunlar üzerinde yapılan çalışmalarda prenatal nikotin maruziyetinin alveoler yüzey alanını değiştirdiği, havayolları ve kan damarlarının etrafındaki kollajen miktarını arttırdığı, havayolları direncini arttırdığı ortaya koyulmuştur (206, 209). Taramalı elektron mikroskobu altında yapılan incelemelerde prenatal nikotine maruz kalan yenidoğan sıçan akciğerlerdeki kan-hava bariyerlerinde ve tip 1 alveoler epitel hücrelerinde hasar meydana geldiği, hücre debrisinin ve enzimlerinin alveoler boşluğa salındığı ve tip 2 alveol epitel hücre yüzeylerindeki villus eksikliği rapor edilmiştir (210).

3.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren, kısa ömürlü, başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilen molekül ağırlığı düşük moleküller olarak tanımlanırlar (211). Kararsız özelliğe sahip bu moleküller, ROS veya oksidan molekülleri olarak da isimlendirilirler (212) (Tablo 2). ROS, mitokondriyal solunum, sitokrom P-450, NADPH oksidaz sistemi,

ksantin/ksantin oksidaz ve araşidonik asit metabolizması gibi hücre içindeki birçok kaynaktan endojen olarak üretilir. Fakat ultraviyole ışığı, iyonize radyasyon, çevre kirliliği, sigara, kontamine sular, güneş, ısı şoku ve diğer yüksek enerjili eksojen kaynaklara maruziyet durumlarında hücrelerden üretilen ROS'da artış olduğu bilinmektedir (213). ROS artışıyla hücrelerde meydana gelen oksidatif stres ile fetal gelişim, enfeksiyona yatkınlık ve diyabet, kanser, karaciğer tahribatı, kardiyovasküler, gastrointestinal, akciğer, göz, beyin ile ilgili çeşitli hastalıklar arasında ilişki bulunmuştur (Şekil 10) (214, 215). Serbest radikallerin bu zararlı etkilerinin antioksidan savunma mekanizmaları ile önlenebileceği bildirilmiştir (214). Antioksidanların yetersiz olduğu durumlarda ROS üretimi artar ve DNA, lipit, protein ve diğer moleküllerde oksidatif hasarlar meydana gelir (212, 216). Oksidan/antioksidan dengenin oksidan lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres, hücrelerde hasara ve ölümlere yol açar. Memeli türlerinde oksidatif stresin hücrelerdeki serbest kalsiyum ve demir iyonlarında artışa yol açarak endonükleazları aktive ettiği, DNA kırıklarına yol açtığı, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) gibi endojen antioksidan aktiviteleri azaltarak membran peroksidasyonuna ve yıkımına neden olduğu bildirilmiştir (Şekil 11) (216, 217, 218). Oksidatif stresinin akciğerlerde hasar meydana getirerek astım, KOAH, pulmoner fibrozis ve akciğer kanserleri gibi çeşitli pulmoner hastalıklara yol açtığı ortaya koyulmuştur (219, 220). ROS üretimine karşı akciğerlerdeki inflamatuvar yanıtın uyarılarak γ -interferon, IL-1 β , ve TNF- α gibi sitokinlerin üretiminde artış olduğu gösterilmiştir (221).

Tablo 2: Serbest Radikaller (222,223).

Reaktif Türler	Yarılanma süresi (saniye)	Üretim şekli	Etkileşimi	
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	Hidroksil radikali (.OH)	10-9	-Vücutta artmış demir konsantrasyonu -Biyolojik moleküllere en kuvvetli atak yapan (en reaktif) radikaldir.	Lipit, karbohidrat, protein ve nükleik asitler gibi hücrel bileşiklerle etkileşir.
	Süperoksit radikali (O ₂ .)	10-6	-Genellikle mitokondri ve kardiyovasküler sistem -Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü	Demir- kükürt içeren enzimleri inaktive eder.
	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Kararlı	Geçiş metalleri ile serbest radikal oluşturur.	Lipit, protein ve nükleik asitlerle etkileşir.
	Organik hidroperoksit (ROOH)	Kararlı	Geçiş metal iyonları reaksiyonlarıyla	PUFA daki lipit peroksidasyonu ile etkileşir.
	Singlet oksijen (1O ₂)	10-6	Fotosentez ve kimyasal reaksiyonlar	Hücrel protein ve lipitlerle etkileşir.
Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	Nitrik oksit (NO.)	5	L- arjinin aminoasitinden in vivo üretilir.	Nükleik asitlerin yıkımı ve deaminasyonu.
	Peroksinitrit (ONOO.)	10-3	NO. Ve O ₂ . formlarından	Siklooksijenaz enziminin aktive edilmesi.

histamin salınımını uyararak astım tablosunda görülen bronşiyal hiperreaktivitenin görülmesine neden olduğu rapor edilmiştir (225). KOAH'lu hastalarda artan oksidatif stresinin, α 1-antitripsin ve sekretuar lökosit proteinaz inhibitörü gibi antiproteinazların inaktivasyonuna ve matriks metalloproteinaz gibi proteinazların aktivasyonuna yol açarak proteaz/antiproteaz dengesizliğine katkı sağladığı belirtilmiştir (226). Pulmoner hastalıklardan olan, akciğer parankimindeki yaygın inflamasyon ile karakterize akut akciğer hasarı patogenezinde de oksidan aracılıklı doku hasarı rol oynadığı rapor edilmiştir (227). Havayollarındaki oksidan/antioksidan dengesizliğinin IPF patogenezinde de etkin rol aldığı ortaya koyulmuştur (228). Fibrotik stimülasyonun nasıl başladığı net olarak ortaya konulmasa da oksidan/antioksidan dengesizliği sonucunda biriken ROS'ların rol oynadığı düşünülmektedir (229). Oksidanlar etkilerini sitokin ve TGF- β gibi büyüme faktörlerinin üretimleri üzerinden göstererek pulmoner fibrozisin gelişimine katkı sağlar. Akciğerdeki oksidan/antioksidanlar ile TGF- β arasında birçok potansiyel etkileşim vardır. TGF- β , sadece NADPH oksidaz ve mitokondriyal disfonksiyon yolu ile ROS üretimini indüklemekle kalmaz, ayrıca katalaz (CAT) ve mitokondriyal SOD ekspresyonlarını azaltarak da doğal hücrel antioksidan üretiminin azalmasına yol açar (230).

Reaktif oksijen türleri ile akciğer kanserleri arasında da ilişki bulunmuştur. ROS'un Jun ve Fos gibi onkogenleri stimüle ettiği, Jun'ın aşırı ekspresyonunun akciğer kanserleriyle direk olarak ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (231). Akciğer kanserlerinde ROS üretimiyle ilişkili olarak, p53'ün mutasyona uğrayarak hücre stoplazmasında birikerek onkogen olarak fonksiyon gördüğü tespit

edilmiştir (232). Protein ve lipitlerin oksidatif etkinin hedefi olduğu ve bu moleküllerdeki lipit peroksidasyon ürünlerinin etkisiyle meydana gelen modifikasyonların mutagenез riskini arttırdığı rapor edilmiştir. Bu lipit peroksidasyon ürünlerinin etkilerini DNA'ya ulaşarak DNA polimeraz'ın oksidatif modifikasyonuna ya da DNA tamir enzimlerinin inhibisyonuna neden olarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (233).

3.6. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde, oksidatif stresin DNA, lipit, protein gibi oksidize olabilen maddeler üzerinde yol açtığı hasarları azaltan veya etkisiz hale getirebilen savunma mekanizmaları vardır. Bu savunma mekanizmalarında, endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar rol alır. Antioksidanlar, birikmiş serbest radikallerin nötralize ederek, serbest radikallerin doku ve organlardaki toksik etkilerine engel olurlar (215). Doğal yollarla üretilen ve/veya dışarıdan dengeli beslenme yolu ile tedarik edilen antioksidanlar, serbest radikalleri yakalayıp stabilize ederek oksidatif stresin önlenmesine, doku ve organlardaki hasarların yok olmasına katkı sağlar (234).

Antioksidanlar serbest radikaller üzerindeki fonksiyonlarını; süpürme etkisi, söndürme etkisi, zincir reaksiyonlarını kırma etkisi ve onarma etkisi ile gerçekleştirirler. Süpürme etkisini, oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürüp etkisizleştirerek gösterirken, söndürme etkisini oksidanlara bir hidrojen aktarıp inaktive ederek gösterir. Oksidanları kendilerine bağlama yolu ile inaktive ederek zincir reaksiyonlarını kırma etkisini, oksidatif stres oluşumunu azaltarak onarma etkisi gösterir (235). Antioksidanlar ilk etkisini klasik bir zincir

reaksiyonu örneği olan lipit peroksidasyonu önleyerek gösterir ki bunu da ROS'un hücrelerden uzaklaştırılması yolu ile gerçekleştirir (236, 237).

Hücrelerdeki endojen antioksidanlar; enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılır. SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GHS-Rd) en temel enzimatik antioksidanlardandır. Bu antioksidanların asıl işlevi ROS ve RNS'leri nötralize etmektir (236, 238). SOD, serbest radikallere karşı ilk savunmada rol alarak, süperoksit anyon radikallerinin (O_2^-) hidrojen perokside (H_2O_2) dismutasyonunu katalizler. H_2O_2 , CAT ve GPx yolu ile H_2O ve O_2 'ye dönüştürülür. Selenoprotein olan GPx enzimi ise, GSH yolu ile H_2O_2 'yi ortadan kaldırır. GPx ayrıca lipit ve lipit olmayan hidroperoksitlerin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlar. Bir flavoprotein enzim olan GHS-Rd ise GSH'ın rejenerasyonunda görev alır (236, 239).

Enzimatik olmayan antioksidanlar; metabolik antioksidanlar ve bitkisel antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Metabolik antioksidanlar, endojen antioksidanların bir üyesi olan, biyolojik sistemlerdeki metabolizma yolu ile üretilen glutatyon, L-arjinin, koenzim Q10, alfa lipoik asit, melatonin, ürik asit, bilirubin, transferin gibi antioksidanlardır. Bitkisel antioksidanlar ise eksojen antioksidanların üyesi olan, vücutta üretilmeyen, vitamin E, vitamin C, karatinoidler, selenyum, manganez, çinko gibi metaller, flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri gibi dışarıdan alınan gıdalar veya takviye yolu ile elde edilebilen antioksidanlardır (215). Enzimatik olmayan antioksidanlar oksidize ajanlarla direk etkileşime giren süpürücüler olarak isimlendirilirler. Vitamin E (α -tokoferol) membran bağlı antioksidandır ve lipit peroksil radikallerini ($LOO\bullet$) süpürerek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonuna son verir (240). Vitamin C'nin

O₂•- ve •OH'ı, β-karatenin peroksil radikalleri ve O₂•- 'yi, ürik asitin O₂•-, •OH ve peroksil radikallerini, bilirubinün LOO•'yu ortamdaki süpürücü etkileriyle uzaklaştırdıkları ortaya koyulmuştur (241).

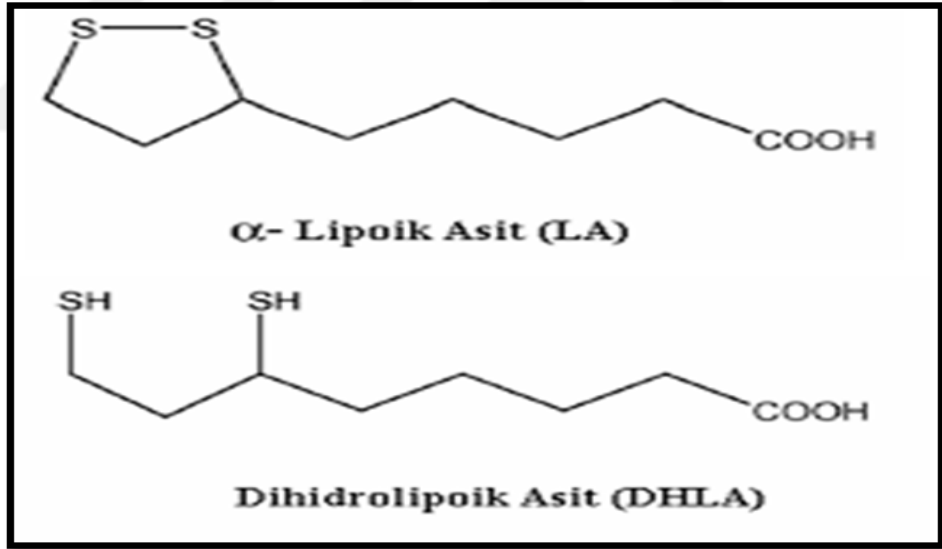
3.6.1. Alfa Lipoik Asit

3.6.1.1. Alfa Lipoik Asit'in Yapısı ve De Nova Sentezi

Alfa lipoik asit (ALA), 1950 yılında ilk olarak sığırcı karaciğerinden, daha sonra patatesten izole edilen, kan-beyin bariyerini aşabilen, 8 karbonlu küçük bir moleküldür. 1,2-ditiyolan-3-pentanoik asit veya thioctik asit olarak da adlandırılabilirler. Molekül ağırlığı 206,328 g/mol'dur (242). Memeli dokuları yaklaşık olarak 5-25 nmol/g ALA ihtiva eder ve büyük bir kısmı multienzim kompleksinin parçası olan proteinlere bağlı formda bulunur (243). ALA'nın en yaygın kaynakları ıspanak, brokoli ve domates, böbrek, kalp, dalak ve karaciğerdir. Az miktarlarda olsa da bezelye, brüksel lahanası pirinç, yumurta gibi besinler ile beyin, pankreas, akciğer gibi dokuların da ALA ihtiva ettiği bilinmektedir (244). ALA, oktanoik asidin disülfid türevinde olan non-enzimatik, doğal, metabolik bir antioksidandır (242). Potansiyel antioksidan işlevini, yapısındaki iki sülfür atomunun oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarından geçmesiyle gerçekleştirir (244).

İnsanlarda ALA de nova olarak, lipoik asit sentaz aracılığıyla, yağ asitleri ve sisteinden, bitki ve hayvanlarda ise mitokondrilerin oktanoik asit ve sülfür kaynaklarından az miktarlarda sentezlenir. Bu nedenle ALA'nın eksojen kaynaklardan tedarik edilmesi zorunludur (242, 244). Eldeki kanıtlar, diyetle alınan ALA'nın uygun dozlarda hem biyolojik olarak kullanılabilir olduğu hem de bir dizi metabolik ve klinik etkilerinin olduğunu göstermiştir (245).

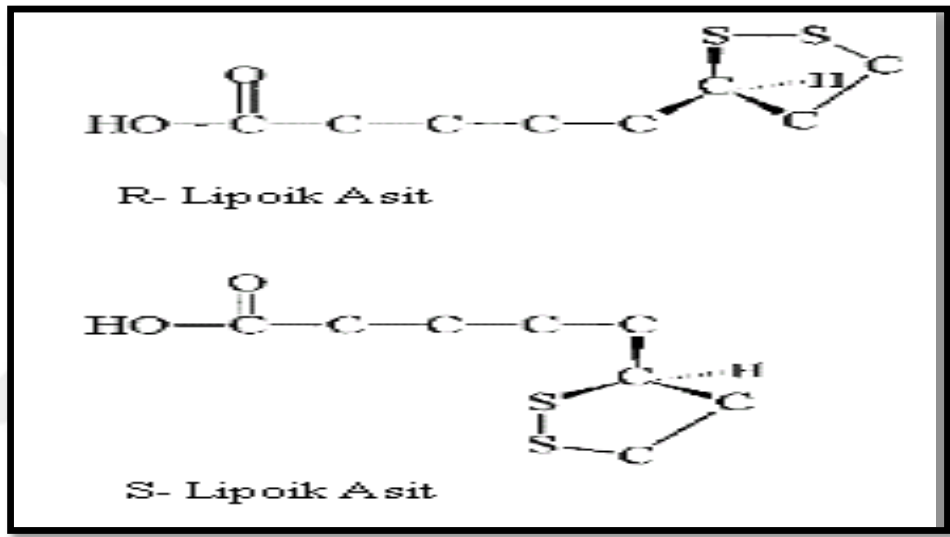
ALA'nın lipoamid içeren enzimleri, glisin yarılmasını ve α -keto asitlerin (pirüvat dehidrojenaz, 2-oksoglutarat dehidrojenaz ve transketolaz gibi) oksidatif dekarboksilasyonunu katalizleyen mitokondriyal multienzim kompleksleridir (246). ALA diyetle alınıp emildikten sonra, NAPH varlığında, lipoamid dehidrojenaz, GHS-Rd ve tiyoredoksin redüktaz enzimleri aracılığıyla indirgenmiş ve daha aktif bir formu olan dihidrolipoik asite (DHHLA) dönüştürülür (247) (Şekil 12). ALA ve DHHLA hidrolifik ve hidrofobik özelliklerinden dolayı amfipatik moleküllerdir (242). ALA tekli oksijenleri süpürürken, ALA ve DHHLA hem hidroksil radikallerini hem de hipokloröz asitleri ortamdaki uzaklaştırmada görev alır (248, 249). DHHLA'nın ayrıca vitamin E ve C gibi endojen antioksidanları rejenere ettiği tespit edilmiştir (250).



Şekil 12: ALA ve DHHLA'nın Kimyasal Yapıları (251,252).

Alfa lipoik asidin R- α -lipoik asit ve S- α -lipoik asit olmak üzere iki enantiyomeri bulunur. Bu iki form birbirinin izomeridir (253) (Şekil 13). Sadece R-ALA formunun, amid bağlarındaki korunmuş lizin tortularıyla konjugatlar oluşturduğu, bu sayede bu izoformun biyolojik sistemlerde esas kofaktör olarak

görev gördüğü bildirilmiştir (254). Ayrıca R-enantiyomerinin S-enantiyomerinden 28 kat daha hızlı olduğu tespit edilmiştir (255).Yapılan bir çalışmada, 600 mg R,S-ALA uygulaması sonucu plazmadaki R-ALA konsantrasyonunun S-ALA 'ya göre ortalama %40 daha fazla olduğu rapor edilmiştir (256). Bu sonuçlar R-enantiyomerin oral alımlar için daha uygun bir form olduğunu düşündürmüştür. Bununla birlikte rasemik karışımdaki S-ALA'nın, R-ALA'nın polimerizasyonunu önlediği, böylelikle ALA'nın biyoyararlılığını arttırdığı ortaya koyulmuştur (245).



Şekil 13: ALA'nın R ve S Formlarının Kimyasal Yapıları (252).

3.6.1.2. Alfa Lipoik Asit'in Diyetle Alımı

Oral yolla tedarik edilen ALA antioksidanlarının biyokimyasal ve tıropatik işlevleri ve biyolojik kullanılabilirlikleri, dokudaki yığılma potansiyellerinin ve metabolik kaderlerinin ortaya koyulmasıyla anlaşılmıştır. Bu konu üzerine yapılan araştırmalarda, eksojen olarak alınan ALA'ların metabolik kofaktör olarak kullanılmadığı, bunun yerine patofizyolojik hasarlara karşı koruma sağlamak amacıyla farmakoterapi özelliği olan biyokimyasal aktivitelerin kurulmasında görev aldığı ortaya koyulmuştur (248). ALA'nın primer

kaynaklarından diyetle alınan miktarı 50-600 mg'dır. ALA'nın biyoyararlılığına ilişkin birçok bilgi gıda takvileri ile ilgili yapılan çalışmalardan gelir (245). Örneğin, Takaishi ve ark. yaptıkları çalışmada transepitelyal taşınma için CACO-2 hücre hattı kullanılarak diyetle alınan ALA kaynağının mekanizmasını araştırılmıştır. Sonuçlar ALA'nın, pH bağımlı olarak, hücre tabakalarını hızlı bir şekilde geçtiğini göstermiştir (257).

ALA'nın biyoyararlılığı birçok taşıyıcı proteine bağlıdır. Yapılan çalışmalar benzoik asit ve orta zincirli yağ asitlerinin ALA'nın hücrelerden geçişini inhibe ettiğini, monokarboksilat taşıyıcıların ise ALA'nın bağırsak emiliminden sorumlu olduğunu göstermiştir. Diğer in vitro çalışmalarda ise, Na⁺ bağımlı multivitamin taşıyıcıların ALA'nın sadece gastrointestinal emiliminden değil, aynı zamanda kan plazmasından dokulara geçişinde de görev aldığı rapor edilmiştir (258, 259). Substrat rekabeti, tanskripsiyon, translasyon ve translasyon sonrası düzenleme mekanizmaları gibi birçok faktörün ALA'nın emilim özelliklerini etkilediği bilinmektedir (245).

3.6.1.3. Alfa Lipoik Asit'in Doku Dağılımı ve Metabolik Kaderi

Doğal yollarla üretilen ya da diyetle alınan ALA'nın kolayca emildiği, metabolize edildiği ve idrardan kolayca atılabildiği bilinmektedir. ALA'nın ilk fakat geçici olarak birikimi karaciğer, kalp ve iskelet kaslarında gerçekleşir. Çalışmalarda ALA'nın kan-beyin bariyerini geçerek beyinin çeşitli bölgelerinde biriktiği gösterilmiştir (260, 261). Hücrelere alınan ALA geniş bir katabolizmaya tabi tutulur. Schupke ve ark. β -oksidasyonun ALA'nın metabolik kaderi olduğunu ortaya koymuştur. Kemiriciler ve köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda en az on iki majör ALA metaboliti bulunmuş ve bunların sülfhidril gruplarının mono- ve

bis-metilasyonları ve/veya karbon omurgalarının sıralı yıkımları ile oluşan metabolitler olduğu belirtilmiştir. Bağımsız olarak incelenen hayvan türlerinde, ALA'nın bisnor lipoat, tetranor lipoat, β -hidroksi-bisnor lipoat ya da bu bileşiklerin merkaptto gruplarını da içeren yaygın metabolitlere sahip olduğu ortaya koyulmuştur (262).

3.6.1.4. Alfa Lipoik Asit'in Güvenilirliği ve Toksisitesi

Alfa lipoik asit'in uygun antioksidan etki gösterebilmesi için günlük uygun dozlarda alımı sağlanmalıdır. İnsanlarda bu doz 100-200 mg/gün olarak belirlenmiştir (263). Köpekler için LD50 miktarı 400-500 mg/kg iken, sıçan türlerinde >2000 mg/kg'a kadar toleransın yüksek olduğu bildirilmiştir (264). (Tablo 3). Fakat başka bir çalışmada sıçanlara 2000 mg/kg doz uygulaması sonucu tüylerin diken diken olması, uyuşukluk, uyku hali, kambur duruş ve gözlerde kapanma gibi sağlıklı görünümünden uzak bir tablo gözlendiği de rapor edilmiştir. Dört hafta boyunca dişi ve erkek sıçanlara oral gavaj yolu ile uygulanan günlük 61.9 mg /kg ALA'nın herhangi bir yan etkiye yol açmadığı, sadece karaciğer ve meme bezleri üzerinde histopatolojik etki gösterdiği, karaciğer enzimlerinde hafif değişikliklere yol açtığı belirtilmiştir (265). Yine yapılan başka bir çalışmada yirmi dört hafta boyunca oral yol ile 60 mg/kg uygulanan ALA'nın sıçanlarda herhangi bir histopatolojik etkiye ve kilo kaybına neden olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte kronik yüksek dozlarda (180 mg/kg) ALA uygulamasının belirgin bir patolojik bulgu oluşturmamasına rağmen, vücut ağırlığında ve gıda tüketiminde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (265, 266). İnsanlar ile yapılan klinik çalışmalarda, günlük 2400 mg kadar yüksek değerlerde ALA kullanımında bile çoğu denekte herhangi bir yan etki yaratmadığı

rapor edilmiştir (267, 268). Çakatay ve ark. sıçanlar ile yaptıkları çalışmada ise intraperitoneal olarak iki hafta boyunca uygulanan 100 mg/kg (insanlardaki eşdeğeri 5-10 gr) rasemik ALA'nın, plazma lipit hidroperoksit düzeylerini ve oksidatif protein hasarlarını arttırdığı bildirilmiştir (269). Yine 100 mg/kg dozdaki intraperitoneal olarak uygulanan ALA'nın sıçan kalbi ve beyinde protein hasarlarına yol açtığı tespit edilmiştir (270, 271). Bu çalışmalar, yüksek dozlardaki ALA'nın oksidatif hasara aracılık edebileceğini ortaya koymuştur (245).

Tablo 3: ALA toksisite değerleri (264, 265, 272, 273).

Hayvan türü	LD50 (akut oral)
Köpek	400-500 mg/kg
Fare	500 mg/kg
Kedi	30 mg/kg
Sıçan	>2000 mg/kg

3.6.1.5. Alfa Lipoik Asit'in Görevleri

Alfa Lipoik Asit, yaşla ilgili kardiyovasküler, bilinçsel ve nöromuskuler eksikliklerin iyileştirilmesinde, diyabette, çeşitli inflamasyon sinyal yollarının düzenlenmesinde ve detoksifikasyonda görev alan potansiyel antioksidan olarak tanımlanmıştır (248, 260, 267, 268, 270, 274). ALA, biyolojik ve farmakolojik özelliklerinin geniş olması, oksidatif stres yolları üzerinde düzenleyici etkisinin yüksek olması, düşük molekül ağırlığa sahip olması ve kan-beyin bariyerini geçebilen çeşitli özellikleri sebebiyle son yıllarda tıp alanında büyük ilgi gören ve 'güçlü antioksidan' olarak adlandırılmıştır (275). Mitokondrilerin α -ketoglutarat dehidrogenaz ve pirüvat dehidrogenaz enzimlerinde kofaktör olarak görev alan ALA, pirüvatı asetil koenzime dönüştüren oksidatif dekarboksilasyon proseslerini de katalizler. Bu nedenle, hücrelerdeki enerji üretimi açısından vücuttaki ALA

antioksidan seviyesi oldukça büyük öneme sahiptir ALA ve metaboliti olan DHLA'nın hidroksil, süperoksit ve peroksil radikalleri gibi birçok reaktif oksijen türlerini süpürdüğü, GSH, tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidanları rejenera ettiği ortaya koyulmuştur (242). Yapılan in vivo çalışmalarda, ALA'nın böbrek, kalp dokularında antioksidan koruma mekanizmalarında artışa yol açarak oksidatif stresi azalttığı rapor edilmiştir (276, 277). Bir diğer çalışmada DHLA'nın askorbat oksidasyonlarını inhibe ederek ve beyindeki demir, bakır iyonlarını süpürerek alzheimer patofizyolojisine iyileştirici bir etki sağladığı ortaya koyulmuştur (278).

Hücre kültürleri ve diyabetli hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda ALA'nın iskelet kaslarında glikoz kullanımını ve glikoliz metabolizmasında glikoz oksidasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (279, 280). ALA'nın hiperglisemik durumlarda artış gösteren hücre içi serbest oksijen radikallerini süpürerek diyabetle ilgili embriyonik malformasyonların görülme oranlarını azalttığı, diyabetle ilişkili embriyopati ve plasental hasarlara karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (281). Bu bağlamda gebe diyabetik farelerde, ALA tedavisi ile birlikte yenidoğan kardiyovasküler ve iskelet sistemi anomalilerinde ve nöral tüp defektlerinde azalma olduğu gösterilmiştir (282).

Serbest radikaller sonucu artan oksidatif stresin, kronik inflamasyonda önemli rol aldığı bilinmektedir. Oksidatif stresle ilgili inflamasyonun, matriks metalloproteinaz aktivitesi ve vasküler adhezyon moleküllerinin üretimindeki artış da dâhil olmak üzere aterogenezdeki erken vasküler olaylara neden olduğu düşünülmektedir. Bu olaylar için inflamasyonda ve endotel hücre göçünde görev alan birçok gen ekspresyonunu başlatan NF-kappa β ve transkripsiyon faktör

aktivasyonları gereklidir. İnflamasyonun oksidatif doğası göz önüne alındığında, oksidatif hasarı ve oksidan üretimini azaltmaya yönelik tedavi stratejileri araştırılmaktadır (264). ALA'nın TNF- α indüklü NF-kappa β aktivasyonunu ve insan aortik endotel hücrelerinden adhezyon molekül ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (283). Ayrıca metabolik sendromlu hastalarda dört hafta boyunca ALA (300 mg/gün) uygulamasının serum IL-6 seviyelerini %15 oranında azalttığı da tespit edilmiştir (284). IL-6'nın koroner aterosklerotik plaklardaki inflamasyon markırı olarak tanımlanması ve IL-1 ve TNF- α gibi diğer inflamatuvar sitokinlerin üretimini düzenlemesi bakımından önemli olması, bu bulgunun ALA'nın insan sağlığına olumlu etkiler gösterdiğinin bir kanıtı olduğunu düşündürmüştür (285). ALA tedavisinin plazma, karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeylerini düşürdüğü, mesane, göğüs, kolon, hepatom, over ve akciğer kanserlerinde çoğalan hücreleri baskıladığı bildirilmiştir (286, 287, 288). Akciğer kanserinin ileri evresindeki hastalarda ALA uygulamasının, T hücre defektlerini düzelttiği ve T hücre fonksiyonlarını arttırdığı rapor edilmiştir (289). ALA'nın proinflamatuvar sitokinler ile aktive olan moleküler sinyal yollarını inhibe ederek inflamatuvar yanıtları baskıladığı, TNF- α ile indüklenen NF- κ B bağımlı E-selektin gen ekspresyonlarını bloke ederek dolaşımdaki monositlerin endotele bağlanmasını engellediği ortaya koyulmuştur (283). Ayrıca ALA'nın hücrelerdeki GPx sentezlerini artırma yoluyla NF- κ B aktivasyonlarını önlediği ve anti-inflamatuvar özellik gösterdiği de bildirilmiştir (275). ALA tarafından stümüle edilen PI3K/Akt sinyal yolağının eNOS aktivasyonunda önemli rol aldığı tespit edilmiştir. ALA

uygulamasıyla insan aort endotel hücrelerinde NO sentezinin arttığı, yaşlı sıçanlarda ise aort eNOS fosforilasyon kaybının önlendiği bildirilmiştir (290).

Alfa lipoik asit'in hücrelerdeki antioksidan durumu koruduğu bunu da antioksidan enzimlerinin ya da düşük molekül ağırlıklı endojen antioksidanlarının sentezini arttırarak sağladığı bilinmektedir. Michels ve ark. tarafından yaşa bağlı olarak azalan sodyum bağımlı vitamin C taşıyıcı 1 (SLC23A1) kaybının azalan hepatik askorbat seviyeleri ile ilişkili olduğu, ALA tedavisiyle düşüş gösteren askorbat düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (291). Yine sıçan kardiyomisitlerinde yaşa bağlı olarak gözlenen askorbat konsantrasyonlarındaki azalmanın diyetle alınan R-ALA tarafından iyileştirildiği, oksidan üretim oranlarını genç sıçanlarda görülen oranlara kadar düşürdüğü tespit edilmiştir (292). ALA'nın askorbat düzeylerini düzeltme etkisinin yanı sıra hücre ve dokulardaki hücre içi GSH düzeyleri ile doğal tiyol antioksidan düzeylerini de arttırdığı gösterilmiştir (293). Packer ve ark. tarafından ALA tedavisi ile eritrosit, lenfosit ve glial hücrelerdeki GSH düzeylerinin arttığı ortaya koyulmuştur (294). Ayrıca ALA'nın plazmadan sistin alımlarını arttırarak hücrelerdeki sistin seviyelerini düzenlediği, böylelikle yaşa bağlı olarak azalan miyokardiyal GSH düzeylerini sistin alımlarını arttırarak kontrol ettiği belirtilmiştir (295). ALA'nın dokulardaki bu GSH düzeylerini arttırarak ve Ca^{2+} kanallarındaki modifiye sülfidril gruplarının zararlarını önleyerek hipertansiyona karşı terapötik etki gösterdiği, hipertansif sıçanlara karşı ALA tedavisiyle sistolik kan basıncının ve sistolik serbest Ca^{2+} seviyelerinin normaleştiği, olumsuz renal vasküler değişikliklerin azaldığı tespit edilmiştir (296, 297). Ayrıca diyetle alınan ALA'nın endotelden üretilen vazokonstriktör özellikteki vasküler endotelin-1 'in aşırı üretimini engellediği, metabolik

sendromlu ve yüksek tansiyonlu hastalara uygulanan ALA'nın sistolik basıncı azaltarak anti-hipersantif tedavi sağladığı rapor edilmiştir (298).

4. GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 07/10/2015 tarih ve 2015/17 sayılı 159 no'lu kararı gereğince etik yönden uygun bulunarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarları, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik laboratuvarı ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı.

Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)' nin TF. 16.06 proje no'lu kararı gereğince karşılandı.

4.1. Deney Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları

Çalışmamızda FÜDAM'dan temin edilen ortalama ağırlığı 160 ± 10 gr olan 28 adet 6 haftalık Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları FÜDAM hayvan laboratuvarında 12 saat (07:00-19:00) aydınlık - 12 saat (19:00- 07:00) karanlık periyodunda, 21 ± 1 °C ortam sıcaklığında takip edildi. Özel olarak tasarlanmış kafeslerde barındırılan sıçanlar, Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanmış pelet yem şeklindeki sıçan yemleriyle beslenerek ad libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Pelet yemlerin içeriği tablo 4'de gösterilmiştir. Yemler için çelik kaplar, su için ise paslanmaz çelik bilyeli cam biberonlar kullanıldı.

Tablo 1: Sıçanlara verilen pelet yemin bileşimi.

Madde adı (%)	Miktarı
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM23-Z	0,2
Methionin*	0,2
DCP**	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Yirmi sekiz adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar deney başlangıcında ilk tartımları yapıldıktan sonra her grupta 7 adet sıçan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup I : Kontrol grubu

Grup II : Tütün dumanı grubu

Grup III: Tütün dumanı + alfa lipoik asit (ALA) grubu

Grup IV: Alfa lipoik asit (ALA) grubu

Kontrol grubu (Grup I) : Bu gruptaki sıçanlara deney süresi boyunca hiçbir uygulama yapılmadı.

Tütün dumanı grubu (Grup II) : Bu gruptaki sıçanlar çiftleşme öncesi sekiz hafta deney için özel olarak tasarlanmış cam kafes içerisinde günde 2 defa

1'er saat tütün dumanına maruz bırakıldı. Çiftleşme sonrası gebe kalan sıçanların gebelikleri boyunca tütün dumanı maruziyetine devam edildi.

Tütün dumanı + ALA grubu (Grup III) : Bu gruptaki sıçanlar çiftleşme öncesi sekiz hafta deney için özel olarak tasarlanmış cam kafes içerisinde günde 2 defa 1'er saat tütün dumanına maruz bırakıldı. Çiftleşme sonrası gebe kalan sıçanların, gebelikleri boyunca tütün dumanı maruziyetine devam edildi. Ayrıca deney süresi boyunca 20mg/kg dozunda serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş ALA (cat: 29862 Lot: 002241-20161019, DL- α -Lipoic acid, Chem-Impex Int'l Inc, USA) gün aşırı oral gavaj yoluyla uygulandı (299).

ALA grubu (Grup IV) : Bu gruptaki sıçanlara çiftleşmeden önce sekiz hafta boyunca ve çiftleşme sonrası gebelik boyunca gün aşırı 20 mg/kg dozunda serum fizyolojikte çözdürülmüş ALA oral gavaj yoluyla verildi.

Gebeliğin oluşturulması: Deney süresinin başlangıcından itibaren 8 hafta boyunca tütün dumanı ve ALA uygulamaları yapıldı. 8.haftanın sonunda bütün gruptaki dişi sıçanlar, sağlıklı seksüel olgunluğa erişmiş erkek sıçanlar ile çiftleştirildi ve vajinal smearda spermin gözlendiği tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi (Şekil 14). Gebelik boyunca tütün dumanı ve ALA uygulamalarına devam edildi.



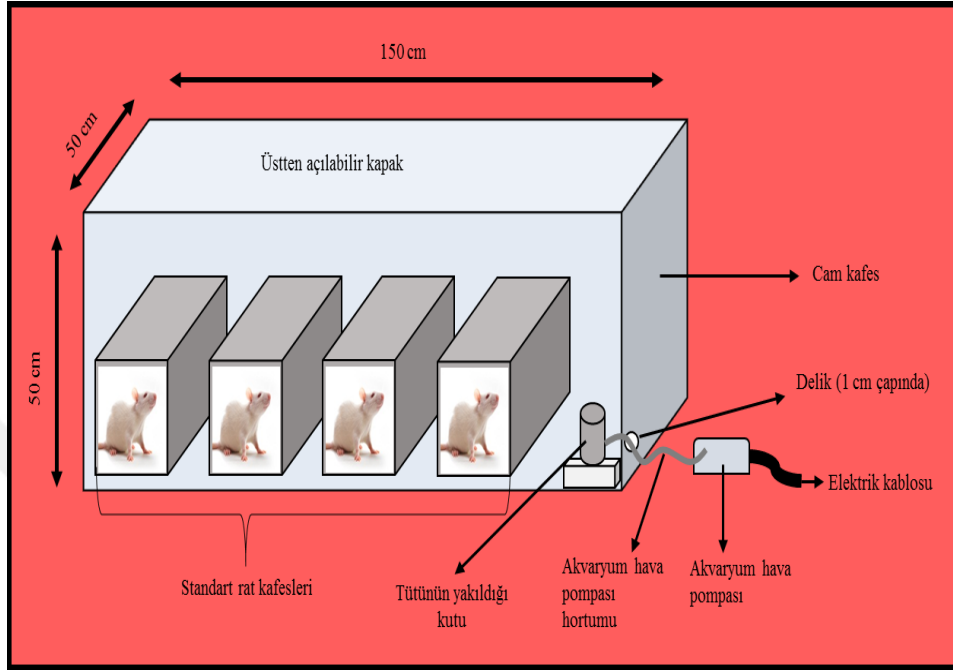
Şekil 14: Sperm pozitif vajinal smear görüntüsü.

Doğum ile birlikte bütün uygulamalar durduruldu. Postnatal 7. ve 21.günlerde her bir gruptan yedişer adet olacak şekilde yavrular alınarak vücut ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra ketamin ve ksilazin (5 mg/kg-50 mg/kg) anestezisi altında dekapitasyon yöntemiyle yavrular sakrifiye edildi (n=7). Postnatal 7 günlük yavrular akciğer gelişiminin erken postnatal evresinin incelenmesi amacıyla, postnatal 21 günlük yavrular ise damarlanmanın tamamlanmasının ardından akciğer dokusunun incelenmesi amacıyla seçildi (91).

4.3. Deney Düzenegi ve Tütün Dumanının Verilmesi

Sıçanlar 150x50x50 boyutlarında kapağı üstten açılabilir şekilde özel bir cam kafes içerisinde tütün dumanına maruz bırakıldı. 10 gramlık tütünün yanması ile ortaya çıkan duman, akvaryum hava pompası (AP-001 XILONG Aquarium Air Pump, China) aracılığıyla cam kafes içerisine verildi. Tütün dumanı verilecek her bir gruba ait sıçanlar, ayrı kafeslerde olacak biçimde bu düzenek aracılığıyla deney süresi boyunca her gün 9:00-10:00 ve 14:00-15:00 saatleri arası toplam iki

saat dumana maruz bırakıldılar (Şekil 15). Ayrıca FÜDAM'daki deney hayvanları ünitesinde bulunan diğer deney hayvanlarının duman kokusundan etkilenmemesi için tütün dumanına maruz bırakılan sıçanlar ayrı bir odada barındırıldılar.



Şekil 15: Deney hayvanlarının tütün dumanına maruz bırakılma düzeneği.

4.4. Akciğerlerin Alınması

Dekapitasyon sonrası yavru sıçanların akciğerleri hızlıca çıkarılarak ağırlıkları tartıldı. Alınan akciğer dokularının bir kısmı histolojik analizler için %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi. Diğer bir kısmı ise biyokimyasal analizler için alınıp, daha sonra çalışılmak üzere -20 °C'de saklandı.

4.5. Akciğer Ağırlıklarının Ölçülmesi

Dekapitasyon sonrası yavru sıçanlara ait akciğer dokuları çevre yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartılarak rölatif akciğer ağırlıkları hesaplandı.

$$\text{Rölatif Akciğer Ağırlığı} = \frac{\text{Absolut akciğer ağırlığı (gr)} \times 100}{\text{Vücut ağırlığı (gr)}}$$

4.6. Histolojik Takip ve Boyama

Histopatolojik değerlendirmeler için 24 saat süre ile %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilen dokular fiksasyon işleminin ardından 24 saat boyunca çeşme suyu altında yıkandı. Yıkanan dokular rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 5) geçirilerek dehidrate edildi. Dehidratasyondan sonra ksilolde parlatılıp parafine (P3558-1kg Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, U.S.A) gömüldü. Parafin bloklardan Leica RM125RT (Leica, Tokyo, Japan) marka mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler elde edildi. Elde edilen kesitler iyice açılmaları için sıcak su banyosunda bekletildikten sonra rodajlı ve polilizinli lamlara alındı. Hazırlanan preparatlar genel histolojik yapılarını değerlendirebilmek amacıyla Hematoksilol- Eozin (H&E), hiyalin membran yapılarını gözlemleyebilmek için Periyodik Asit Schiff (PAS) ve bağ dokusu değişikliklerini inceleyebilmek için Masson'un Üçlü boyası ile boyanarak (Tablo 6, 7, 8) ışık mikroskobu altında (Novel N-800M x20) incelenip fotoğraflandı. Değişiklikler histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirilerek histoskor tablosu çıkarıldı.

Tablo 2: Histolojik takip işlem basamakları.

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1.5 saat
3	% 96 Alkol	30 dakika
4	% 96 Alkol	30 dakika
5	% 100 Alkol	30 dakika
6	% 100 Alkol	30 dakika
7	Alkol + Ksilol	15 dakika
8	Ksilol I	10 dakika
9	Ksilol II	20 dakika
10	Yumuşak parafin + Ksilol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin – Sert parafin	1.5 saat
13	Sert Parafin	3 saat
14	Gömme	

Tablo 6: Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	Etüvde	5-6 saat
2	Oda ısısında soğutma	10-15 dakika
3	Ksilol	Gece boyu
4	%100 Alkol	3 dakika
5	%100 Alkol	3 dakika
6	%96 Alkol	2 dakika
7	%80 Alkol	1 dakika
8	%70	1 dakika
9	%50	1 dakika
10	Distile su	1 dakika
11	Kurutma	
12	Harris Hematoksilen	3 dakika
13	Çeşme suyu	5 dakika
14	Asit-alkol solüsyonu	8-10 defa daldırıp çıkar.
15	Çeşme suyu	2 dakika
16	Distile su	30 saniye
17	Blueing solüsyonu	1 dakika
18	Çeşme suyu	2 dakika
19	%80 Alkol	30 saniye
20	Eozin	30 saniye
21	%70 Alkol	1 dakika
22	%96 Alkol	1 dakika
23	%96 Alkol	1 dakika
24	%100 Alkol	30 saniye
25	%100 Alkol	30 saniye
26	Ksilol	5 dakika
27	Ksilol	5 dakika
28	Kanada balzamu ile kapatma	

Tablo 7: Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	Ksilol I	3 dakika
2	Ksilol II	3 dakika
3	%100 Alkol	3 dakika
4	%96 Alkol	3 dakika
5	%80 Alkol	3 dakika
6	%70 Alkol	3 dakika
7	Distile su	Çalkala
8	Periodik Asit (%1)	10 dakika
9	Distile su	Çalkala
10	Schiff leuco-Fuksin	10 dakika
11	Çeşme suyu	10 dakika
12	Distile su	Çalkala
13	Harris Hematoksilen	1 dakika
14	Distile su	Çalkala
15	%96 Alkol I	2 dakika
16	%96 Alkol II	2 dakika
17	%100 Alkol	3 dakika
18	Ksilol I	3 dakika
19	Ksilol II	3 dakika
20	Kanada balsamı ile kapatıldı.	

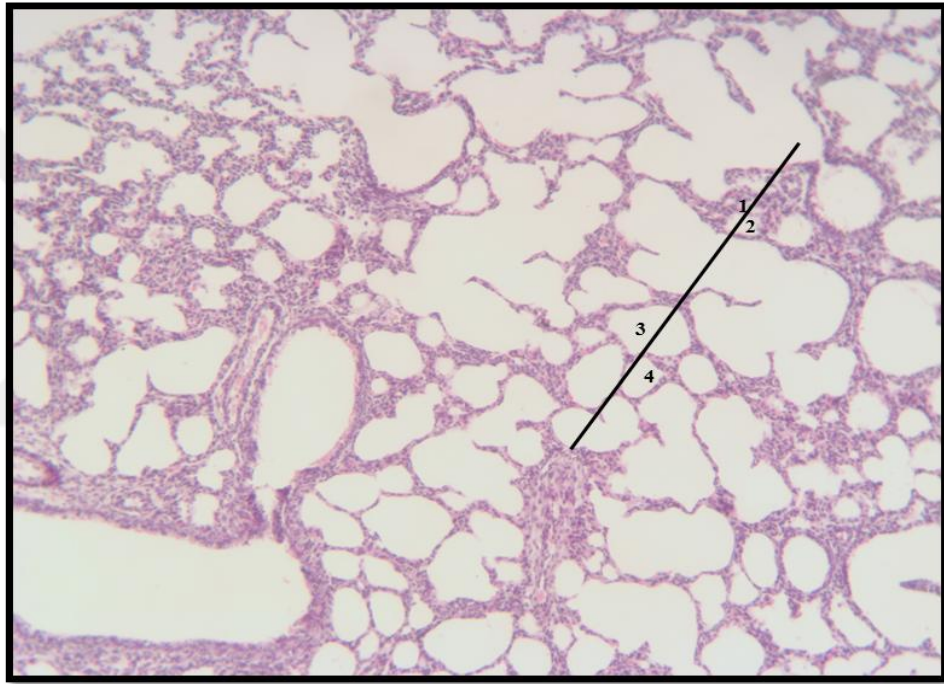
Tablo 8: Masson'un Üçlü Boyama Tekniği

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	Ksilol I	5 dakika
2	Ksilol II	5 dakika
3	% 100 alkol	3 dakika
4	% 96 alkol	2 dakika
5	% 80 alkol	2 dakika
6	% 70 alkol	2 dakika
7	Çeşme suyu	5 dakika
8	Distile su	Çalkala
9	Weigert Hematoksilen	15 dakika
10	Çeşme suyu	10 dakika
11	Distile su	Çalkala
12	Bierbrich Scarlet Asit Fuksin	10-20 saniye
13	Distile su	Çalkala
14	Fosfotungstik-Fosfomolibdik Asit	15 dakika
15	Anilin blue	3-5 dakika
16	Distile	Çalkala
17	Glacial Asetik Asit (% 1)	5 dakika
18	% 96 alkol	2 dakika
19	% 96 alkol	2 dakika
20	% 100 alkol	3 dakika
21	Ksilol I	5 dakika
22	Ksilol II	
23	Kanada balsamı ile kapatıldı	

4.7. Morfometrik ölçümler

İntrauterin ve erken ve geç postnatal akciğer gelişiminin incelenmesi amacıyla Cooney ve Thurlbeck tarafından geliştirilmiş radial alveoler sayım (RAC) metodu uygulandı (300). Bu amaçla respiratuar bronşiyollerden en

yakınındaki bağ doku septumuna kadar doğrusal bir çizgi çizildi. Bu hat boyunca çizginin kestiği kapalı alveoller sayıldı. Fakat çizginin kestiği alveoler kanal veya alveol keselerinde bulunan açık alveoller sayıma dahil edilmedi. Simetrik respiratuar bronşiyollerde çizginin başlangıç noktası bronşiyolün merkezinden başlatılırken, simetrik olmayan respiratuar bronşiyoller ile yapılan ölçümlerde ise respiratuar bronşiyol epiteli ile ilk açılan alveoler kanal epitelinin orta noktası başlangıç noktası olarak kabul edildi (301).



Şekil 16: Postnatal 7 günlük yavru sıçan akciğerine ait RAC metodu ile ölçülen alveol sayısı (H&E x10).

4.8. TUNEL Metodu

Soğutulan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Negatif kontrol için doku üzerine Tdt enzimi yerine Reaction Buffer kullanılarak diğer basamaklarda herhangi bir değişiklik yapılmadı. Kit içeriğinde belirtilen (Lot No: 2470976, ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Millipore) ve Tablo 9' da gösterilen terminal deoxynucleotidyl

transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling (TUNEL) boyama işlemleri uygulanarak apoptoze giden hücreler belirlendi. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Değerlendirmede Mayer hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi çekirdek boyaması gösteren hücreler ise apoptotik hücreler olarak kabul edildi. Kesitlerde x400 büyütmede rastgele yedi alan seçilerek, normal ve apoptotik en az 1000 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı.

Tablo 9: TUNEL boyaması işlem basamakları.

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	60°C etüv	Bir gece
2	Ksilol	3x15 dakika
3	% 100, % 96, % 80, % 70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS (phosphate buffered saline)	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	7 dakika
7	PBS	3x5 dakika
8	Endojen peroksit blokağı (%3 H ₂ O ₂)	5 dakika
9	PBS	3x5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	6 dakika
11	Çalışma solüsyonu (% 70 µl Reaction Buffer + % 30 TdT Enzyme)	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2 ml) + Distile su (68 ml) oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3x5 dakika
15	DAB Dilution Buffer (600 µl) + DAB Substrate (12 µl)	5-10 dakika
16	PBS	3x5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Mayer's hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	Uygun kapatma solüsyonu ile kapatma.	

4.9. İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Akciğer dokusunda SP-A, VEGF ve Kaspas-3 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı (Tablo 10). Polilizinli lamlara soğutulmuş parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Ksilol ile deparafinizasyon ve şeffaflaştırma işleminden sonra dokular azalan dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit bloker (TA-125-HP Lot No: HP18180, Hydrogen Peroxide Block, Thermo Scientific) ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Ultra V Block, Thermo Scientific) uygulamasından sonra primer antikor (RB-9031-P lot No: 9031P1505A, Polyclonal Anti-VEGF Antibody, Thermo Scientific, SC-13977 lot No: G2314, Polyclonal Anti-SP-A Antibody, Santa Cruz Biotechnology, PA5-16335 lot No: QD2017719, Polyclonal Anti-Caspase-3 Antibody, Thermo Scientific) damlatılan dokular 60 dakika oda ısısında karanlık ve nemli ortamda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra dokular, PBS (P4417-100TAB, Phosphate Buffered Saline, Sigma Aldrich) ile yıkandı. 30 dakika nemli ve karanlık ortamda oda ısısında sekonder antikor (TP-060-BN, Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), Thermo Scientific) ile inkübe edildi. PBS ile yıkanan dokular VEGF ve SP-A immünboyaması için Streptavidin-Alkalen fosfataz (TS-060-AP, Streptavidin alkalen fosfataz, Thermo Scientific) enzimi, Kaspaz-3 immünboyaması için ise horse radish peroksidaz enzimi (TS-060-HR, lot no: SHR150121AA, Streptavidin Peroxidase, Thermo Scientific) kullanıldı. Enzimler damlatıldıktan sonra 40 dakika nemli ortamda oda ısısında

inkübe edilen preparatlar PBS içerisine alındı. VEGF ve SP-A boyaması yapılan preparatlara Fast Red substrat solüsyonu (TA-125-AF, Large Volume Fast Red Substrate System, Thermo Scientific), Kaspaz-3 boyaması yapılan preparatlara ise Large Volume AEC substratı (REF TA-060-HA lot no: HA29752, Large Volume AEC Substrate System, Thermo Scientific) damlatıldı. Işık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra reaksiyon bütün dokularda eş zamanlı olarak distile su ile sonlandırıldı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapıldı. Distile su ile yıkanan preparatlar kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Negatif kontrol olarak kullanılan dokularda ise primer antikor yerine PBS kullanıldı, diğer basamaklarda herhangi bir değişiklik yapılmadı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Novel N-800M x20) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu (Histoskor= yaygınlık x şiddet).

Tablo 10: İmmünohistokimyasal boyama prosedürü.

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	Ksilol I	10 dakika
2	Ksilol II	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS	3x5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3x5 dakika
13	UV blok	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3x5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3x5 dakika
18	Streptavidin alkalen fosfataz	20 dakika
19	PBS	3x5 dakika
20	Fast Red	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Çeşme suyu	5 dakika
24	Kapatma	

4.10. Biyokimyasal Analizler

Dekapitasyondan hemen sonra eksize edilen akciğer dokuları serum fizyolojik ile yıkayıp -20 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. Çözdürülen doku örnekleri % 1.15'lik KCl ile 1:100 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp homojenize edildikten sonra, 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda MDA ve GSH düzeyleri ile CAT ve SOD aktiviteleri aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapıldı.

4.10.1. Akciğer dokusunda malondialdehit düzeyinin tayini

Dokuda malondialdehit (MDA) tayini Placer metoduna göre yapıldı (302). Bu metodun temeli lipid peroksidasyonu sonucu oluşan aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda pembe renkli bir kompleks oluşmakta ve çözeltinin absorbansı 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonunun derecesi saptanmaktadır.

4.10.2. Akciğer dokusunda katalaz aktivitesinin tayini

Dokuda katalaz (CAT) aktivitesinin ölçümü Aebi metoduna göre yapıldı (303). Bu yöntemde H₂O₂'nin CAT tarafından iki molekül su ve bir molekül oksijene yıkım hızı 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

4.10.3. Akciğer dokusunda glutatyon düzeyinin tayini

Dokularda glutatyon (GSH) düzeyi Beutler metoduna göre ölçüldü (304). GSH seviyesi, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) ile sülfhidril gruplarının stabil sarı renk oluşturması ve bu rengin 412 nm'de ölçülmesi temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir.

4.10.4. Akciğer dokusunda süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini

Dokularda SOD aktivite ölçümü Sun metodu ile yapıldı (305). Bu metotta SOD aktivite ölçümü ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalının nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgeyerek renk oluşması esasına dayanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikalının NBT'u indirgemesi 560 nm'de maksimum absorbans veren mavi renkli formazon oluşumu ile sonlanır

4.11. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programında yapıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma değerleri olarak sunuldu. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Normal dağılım gösteren çoklu grupların aralarındaki farklılıkları test etmek için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulandı. İkili karşılaştırmalar için ise Post-hoc Tukey testi kullanıldı.



5. BULGULAR

5.1.Vücut Ağırlıkları

5.1.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları

Postnatal 7 günlük dişi ve erkek yavru sıçan gruplarının vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; tütün dumanı grubuna ait vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı+ALA ve ALA gruplarına ait vücut ağırlıklarında ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 11).

Tablo 11: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları

GRUPLAR	Dişi Vücut Ağırlığı (gr)	Erkek Vücut Ağırlığı (gr)
Kontrol grubu	9,86± 0.4	9,80± 0.57
Tütün dumanı grubu	8,85±0.3 ^a	8,84± 0.45 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	9,84± 0.7 ^b	9,37± 0.36 ^b
ALA grubu	9,70± 0.57 ^b	9,82± 0.74 ^b

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



Şekil 17: Postnatal 7 günlük yavru sıçan görüntüsü

5.1.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları

Postnatal 21 günlük dişi yavru sıçan gruplarının vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; tütün dumanı grubuna ait vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0.05$), ALA grubu ile karşılaştırıldıklarında anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Postnatal 21 günlük erkek yavru sıçan gruplarının vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; tütün dumanı grubuna ait vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0.05$), tütün dumanı+ALA grubuna ait vücut ağırlığında tütün dumanı grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vücut Ağırlıkları

GRUPLAR	Dişi Vücut Ağırlığı (gr)	Erkek Vücut Ağırlığı (gr)
Kontrol grubu	29,00± 1,45	30,2± 0,27
Tütün dumanı grubu	27,30±1,56	29,5± 0,93
Tütün dumanı + ALA grubu	30,6± 2,02	31,8± 1,15 ^b
ALA grubu	32,56± 2,83 ^b	31,5± 1,73

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



Şekil 18: Postnatal 21 günlük yavru sıçan ağırlığının digital terazi ile tartılması

5.2. Rölatif Akciğer Ağırlığı

5.2.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları

Tütün dumanı ve tütün dumanı + ALA grubundaki dişi ve erkek yavru sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu (p<0.05). ALA grubundaki yavru

sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarında ise tütün dumanı grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları

GRUPLAR	Dişi Rölatif Akciğer Ağırlığı (gr)	Erkek Rölatif Akciğer Ağırlığı (gr)
Kontrol grubu	2,36± 0,09	2,41± 0,12
Tütün dumanı grubu	3,19±0,16 ^a	3,24± 0,16 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	2,86± 0,25 ^a	2,88± 0,37 ^a
ALA grubu	2,44± 0,24 ^b	2,36± 0,22 ^b

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.2.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları

Dişi ve erkek yavru sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Rölatif Akciğer Ağırlıkları

GRUPLAR	Dişi Rölatif Akciğer Ağırlığı (gr)	Erkek Rölatif Akciğer Ağırlığı (gr)
Kontrol grubu	1,28± 0,1	1,18± 0,01
Tütün dumanı grubu	1,23±0,55	1,41± 0,12
Tütün dumanı + ALA grubu	1,28± 0,06	1,21± 0,13
ALA grubu	1,19± 0,08	1,17± 0,1

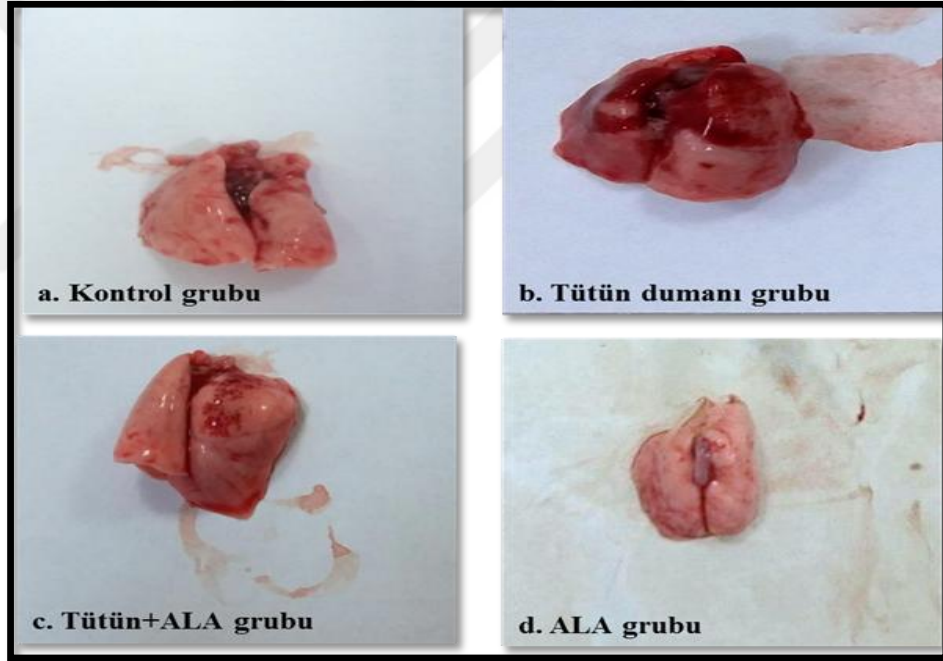
Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.2.3. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarına Ait Akciğer Dokularının Makroskobik Bulguları

Histopatolojik inceleme yapılmak üzere çıkarılan akciğer dokuları kesitler alınmadan önce fotoğraflandı ve makroskobik değişiklikler kaydedildi. Tütün dumanı grubuna ait akciğer dokularında yer yer kanama alanları olduğu dikkat çekiciydi (Şekil 19b). Bu kanama alanlarının tütün dumanı+ALA grubunda daha hafif olduğu (Şekil 19c), kontrol ve ALA grubuna ait akciğer dokularında ise kanama alanlarına rastlanmadığı ve sağlıklı bir görünüme sahip oldukları gözlemlendi (Şekil 19a,d).



Şekil 19: Postnatal 21 günlük yavru sıçan gruplarına ait makroskobik akciğer görüntüleri

5.3. Işık Mikroskopik Bulgular

5.3.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Histolojik

Bulguları

Kontrol grubuna ait (grup I) akciğer kesitlerinde bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları normal olarak izlendi (Şekil 20).

Tütün dumanı grubuna ait (grup II) akciğer kesitlerinde inflamatuvar hücre artışı, hemorajik alanlar, ödem, interalveoler septal kalınlaşma, bazı bronş ve bronşiyol epitellerinde dejenerasyon, lümene dökülen epitel hücreleri ve hiyalin membran oluşumları izlendi (Şekil 21, 22, 23, 24, 25, 26). PAS boyama metodu uygulanan kesitlerde, hiyalin membran yapılarının PAS (+) pozitif olduğu belirlendi (Şekil 25).

Tütün dumanı+ALA grubuna ait (grup III) akciğer kesitlerinde tütün dumanı grubuna göre inflamatuvar hücre artışında, hemorajik alanların yaygınlığında, ödemde, epitel dejenerasyonunda, lümene dökülen epitel hücre sayısında, interalveoler septal kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi ($p<0.05$). Hiyalin membran oluşumlarına rastlanılmadı (Şekil 27, 28, 29).

ALA grubuna ait (grup IV) akciğer kesitlerinde bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları kontrol grubuna yakın şekilde normal histolojik yapıda izlendi ($p>0.05$) (Şekil 30) (Tablo 15).

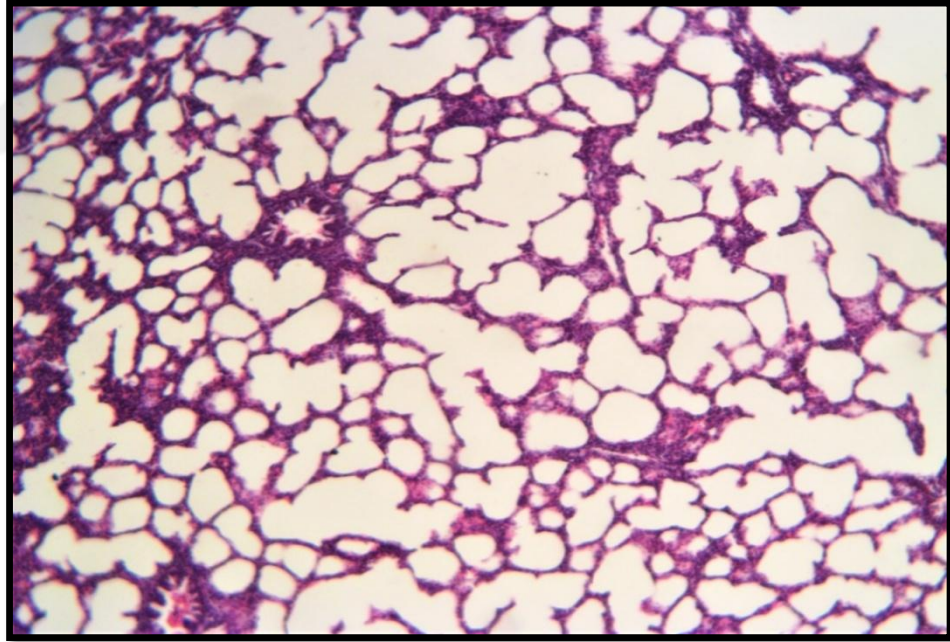
Tablo 15: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki histolojik değerlendirmelere ait histoskor tablosu.

	Hemoraji	İnfiltrasyon	Ödem	İnteralveoler septal kalınlık	Epitel dejenerasyonu	Lümen dökülen hücre	Bağ doku artışı
Kontrol grubu	0,14±0,37	0,00±0,00	0,00±0,00	0,29±0,48	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Tütün dumanı grubu	2,71±0,48 ^a	2,00±1,00 ^a	2,57±0,78 ^a	2,29±0,75 ^a	2,14±0,69 ^a	2,00±1,00 ^a	1,28±0,48 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	1,29±0,48 ^{ab}	1,00±0,81 ^{ab}	1,43±0,78 ^{ab}	1,00±0,57 ^{ab}	0,57±0,53 ^b	0,86±0,37 ^b	0,71±0,48 ^{ab}
ALA grubu	0,71±0,48 ^b	0,29±0,48 ^b	0,86±0,69 ^b	0,14±0,37 ^b	0,29±0,48 ^b	0,43±0,78 ^b	0,43±0,53 ^b

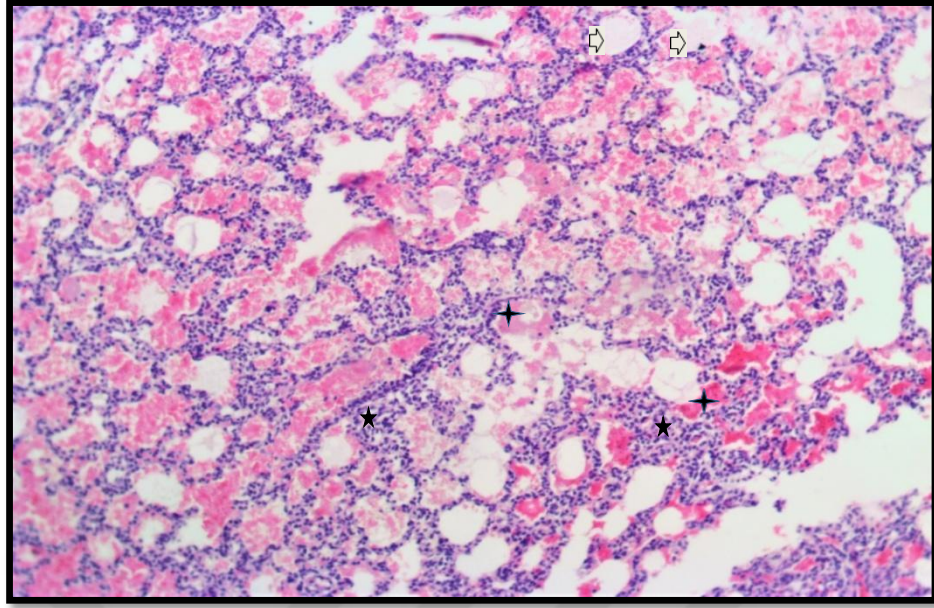
Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



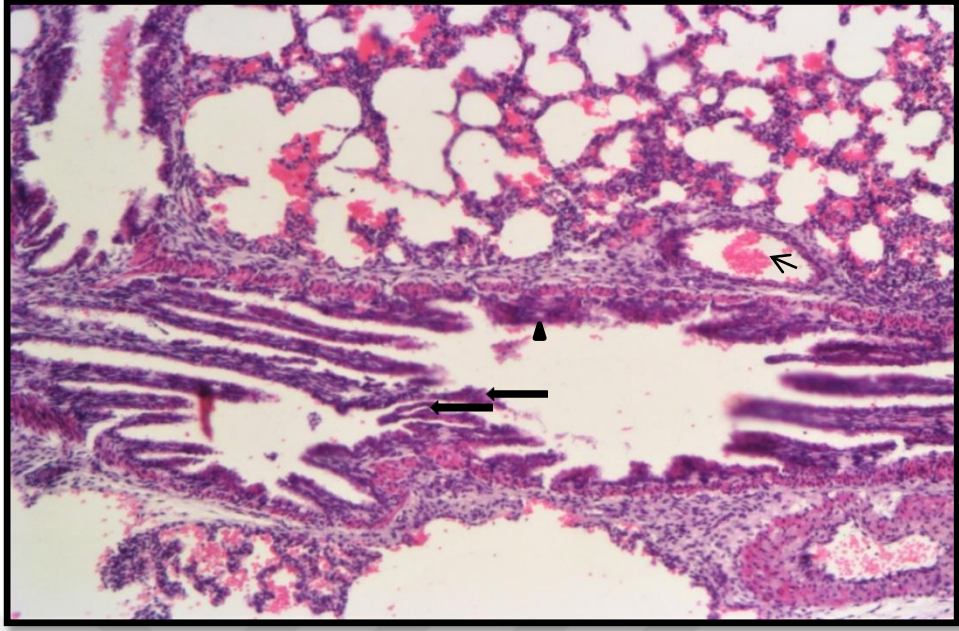
Şekil 20: Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x10).



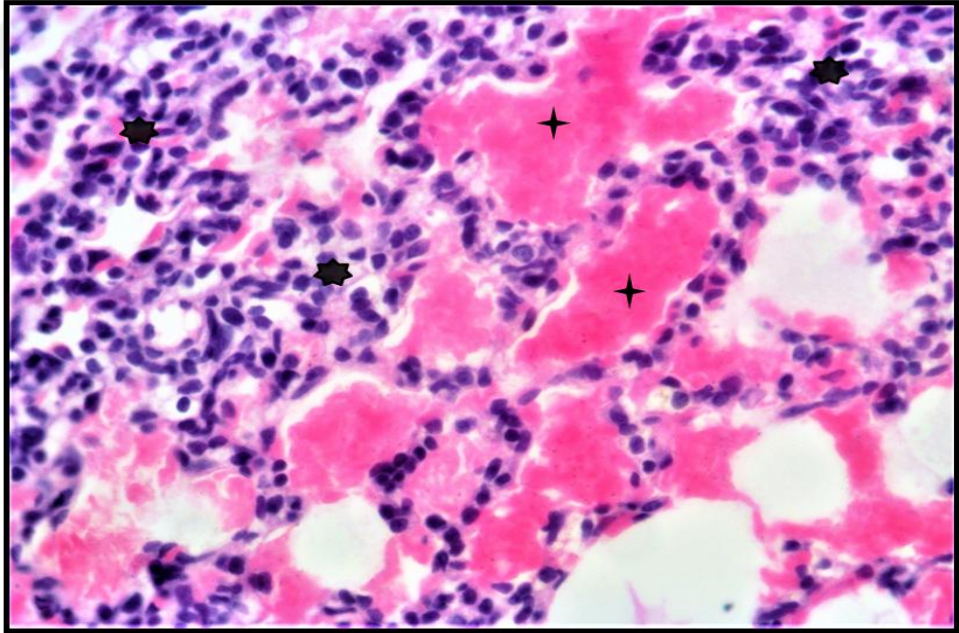
Şekil 21: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki inflamatuvar hücre artışı (★) ödem (◻) ve hiyalin membran oluşumları (✚). (H&E x10).



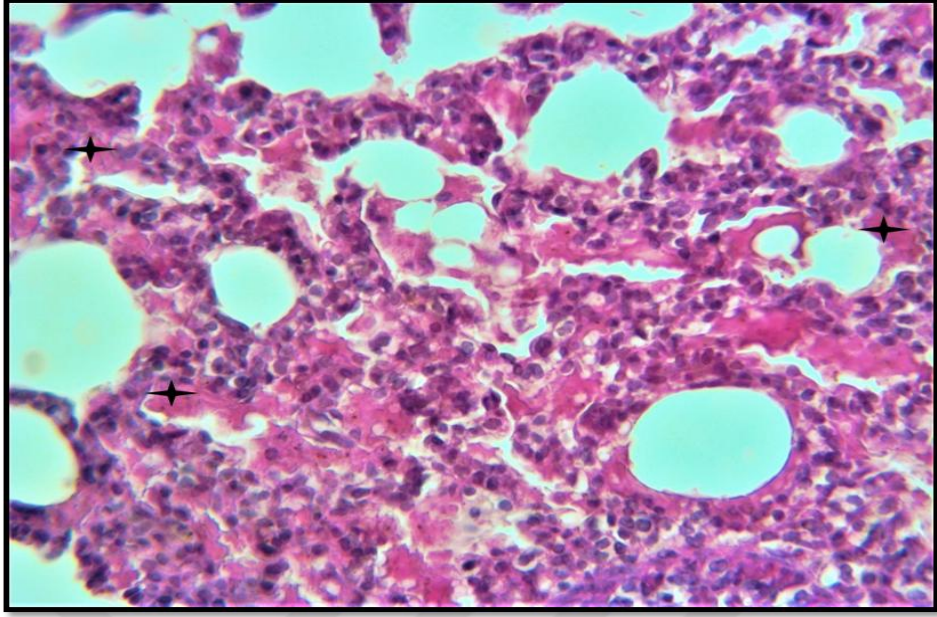
Şekil 22: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde hemorajik alanlar (↗) ve perivasküler alanda ödem (➡). (H&E x20).



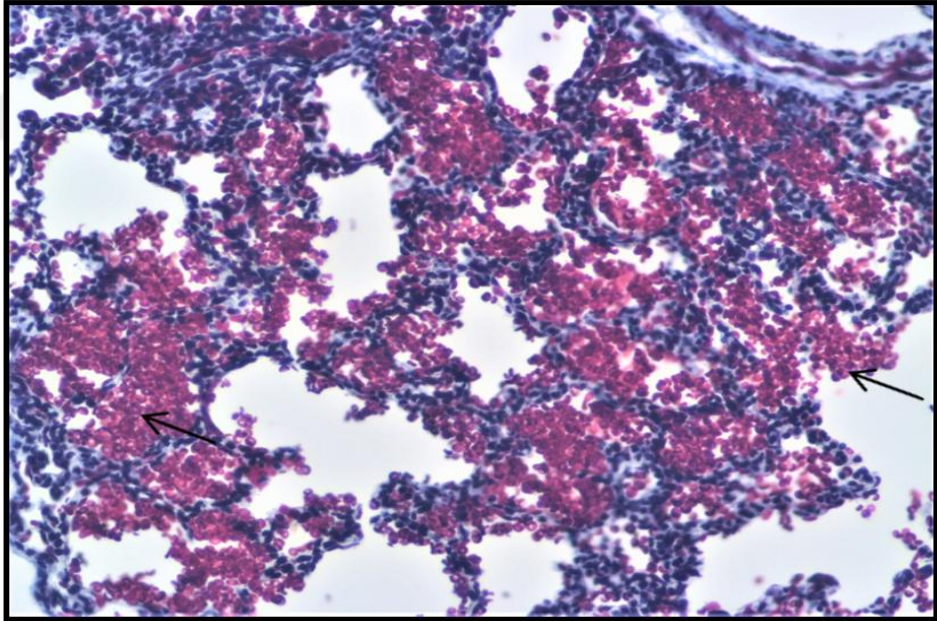
Şekil 23: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde bronşa ait epitel dejenerasyonu (▲), lümeneye dökülen hücre (←) ve hemorajik alanlar (↖). (H&E x20).



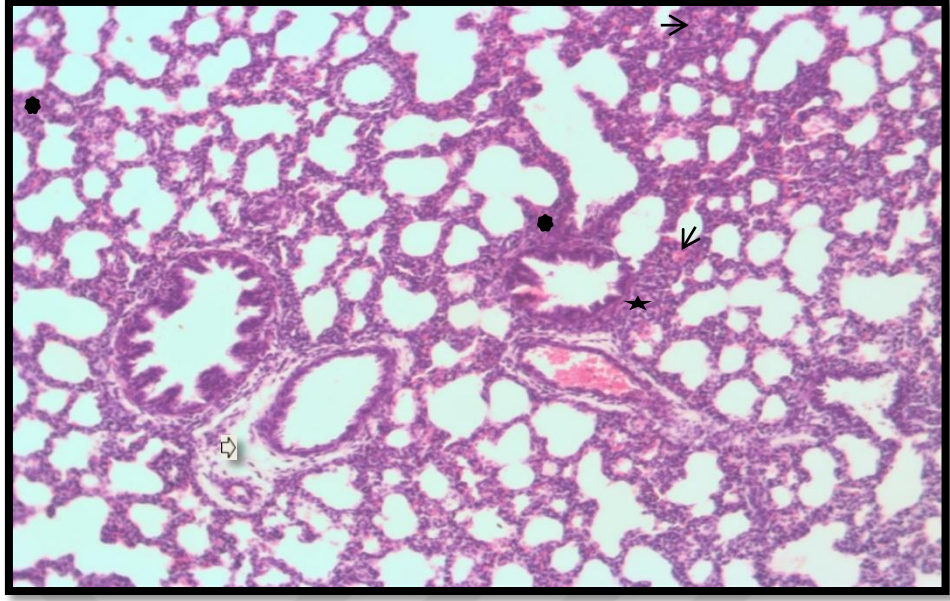
Şekil 24: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde hiyalin membran oluşumu (★) ve interalveoler septal kalınlaşma (●). (H&E x40).



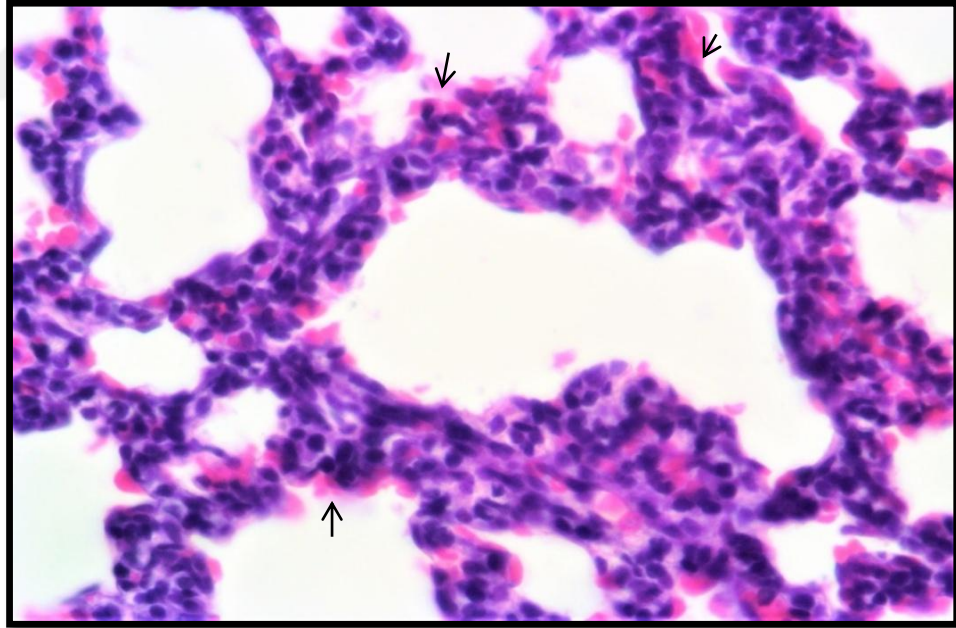
Şekil 25: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde PAS (+) pozitif hiyalin membran oluşumları (↖). (PAS x40).



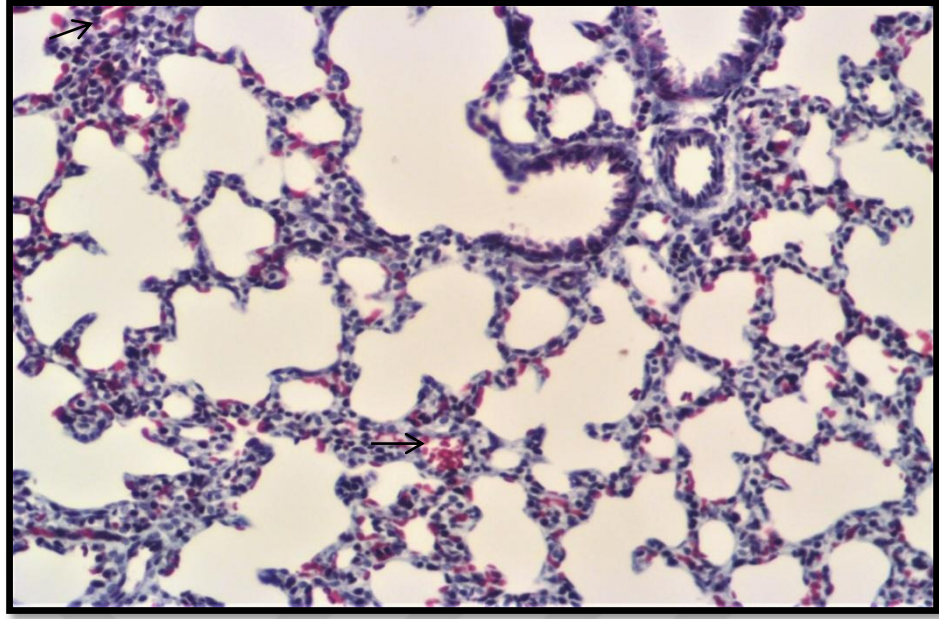
Şekil 26: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitinde yaygın hemorajik alanlar (↖). (Masson'un üçlü boyası x20).



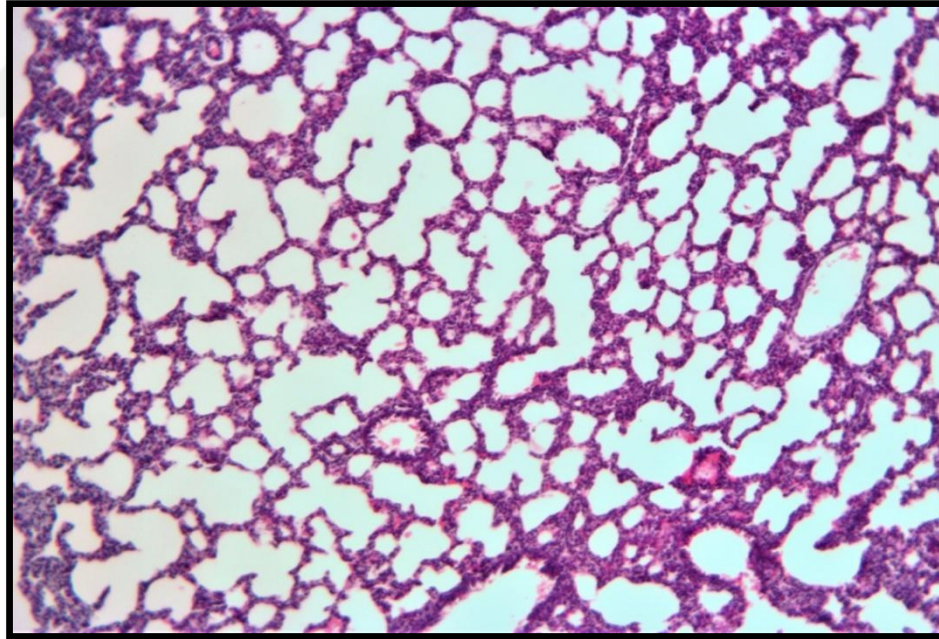
Şekil 27: Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitinde interalveoler septal kalınlaşma (●) hemorajik alanlar (←), ödem (↖) ve inflamatuvar hücre artışı (★). (H&E x10).



Şekil 28: Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (↑). (H&E x40).



Şekil 29: Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (→). (Masson'un üçlü boyası x20).



Şekil 30: ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x10).

5.3.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Histolojik

Bulguları

Kontrol grubuna ait (grup I) akciğer kesitlerinde bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları normal olarak izlendi (Şekil 31, 32, 33).

Tütün dumanı grubuna ait (grup II) akciğer kesitlerinde inflamatuvar hücre artışı, hemorajik alanlar, ödem, interalveoler septal kalınlaşma, bazı bronş ve bronşiyol epitellerinde dejenerasyon, ve lümene dökülen epitel hücresi ve hiyalin membran oluşumları izlendi (Şekil 34, 35, 36, 37, 38, 39). Bağ dokusundan zengin perivasküler alanlardaki artmış kollajen lif içeriği Masson'un üçlü boyama metoduyla gösterildi (Şekil 38).

Tütün dumanı+ALA grubuna ait (grup III) akciğer kesitlerinde tütün dumanı grubuna göre inflamatuvar hücre artışında, hemorajik alanların yaygınlığında, ödemde, epitel dejenerasyonunda, lümene dökülen epitel hücre sayısında, interalveoler septal kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi ($p<0.05$). Hiyalin membran oluşumlarına rastlanılmadı (Şekil 40, 41)

ALA grubuna ait (grup IV) akciğer kesitlerinde bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları kontrol grubuna yakın şekilde izlendi ($p>0.05$) (Şekil 42, 43) (Tablo 16).

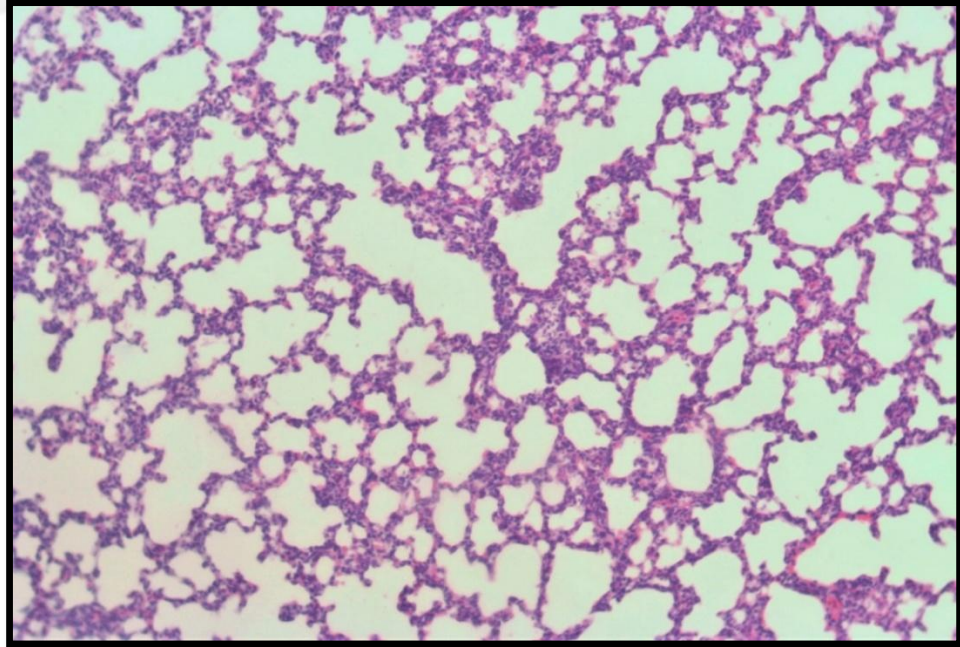
Tablo 16: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki histolojik değerlendirmelere ait histoskor tablosu

	Hemoraji	İnfiltrasyon	Ödem	İnteralveoler septal kalınlık	Epitel dejenerasyonu	Lümen dökülen hücre	Bağ doku artışı
Kontrol grubu	0,14±0,37	0,14±0,37	0,14±0,37	0,29±0,48	0,00±0,00	0,00±0,00	0,14±0,37
Tütün dumanı grubu	2,57±0,53 ^a	2,29±0,75 ^a	2,57±0,78 ^a	2,00±1,00 ^a	2,29±0,75 ^a	2,00±1,00 ^a	2,43±0,53 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	1,29±0,75 ^{ab}	1,00±0,81 ^{ab}	1,14±0,69 ^{ab}	1,00±0,48 ^{ab}	0,57±0,53 ^b	0,86±0,69 ^b	1,00±0,57 ^{ab}
ALA grubu	0,71±0,48 ^b	0,29±0,48 ^b	0,86±0,69 ^b	0,43±0,53 ^b	0,29±0,48 ^b	0,43±0,78 ^b	0,57±0,53 ^b

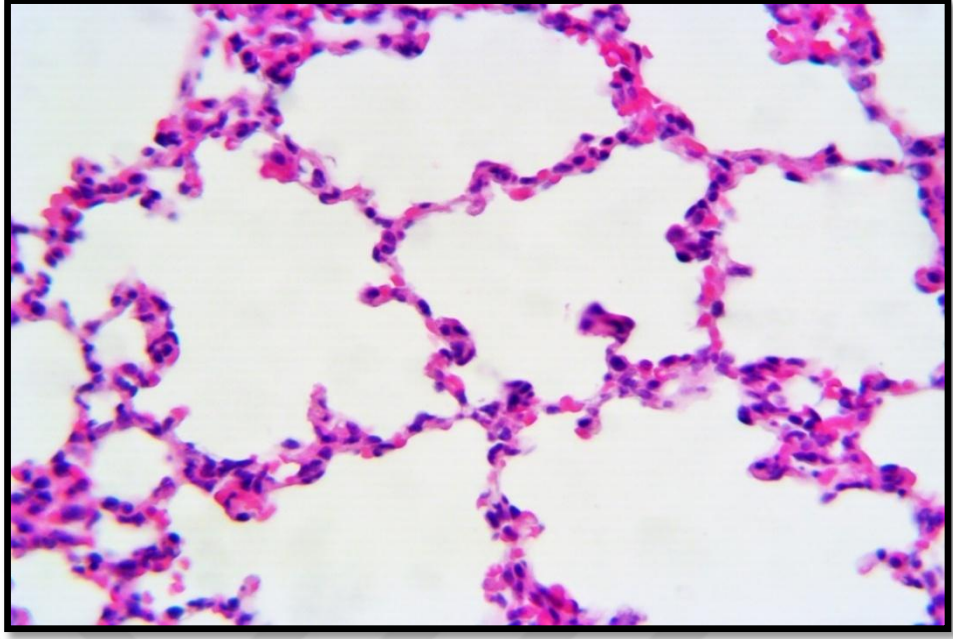
Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

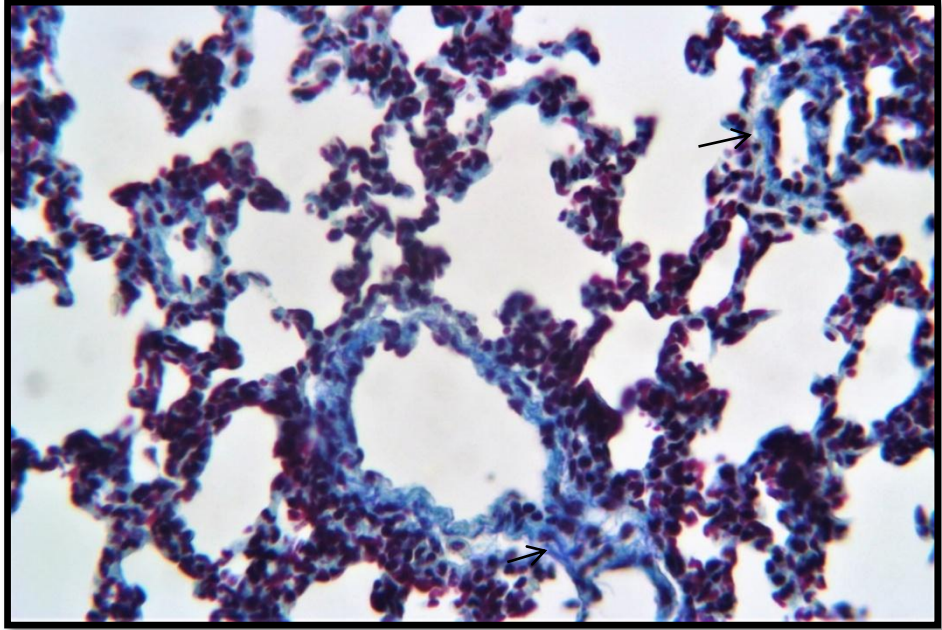
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



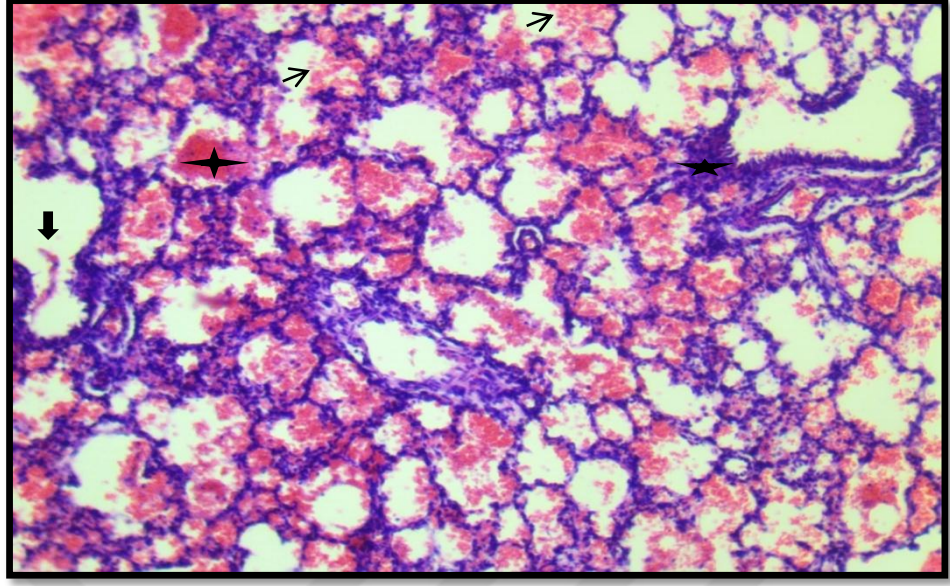
Şekil 31: Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x10).



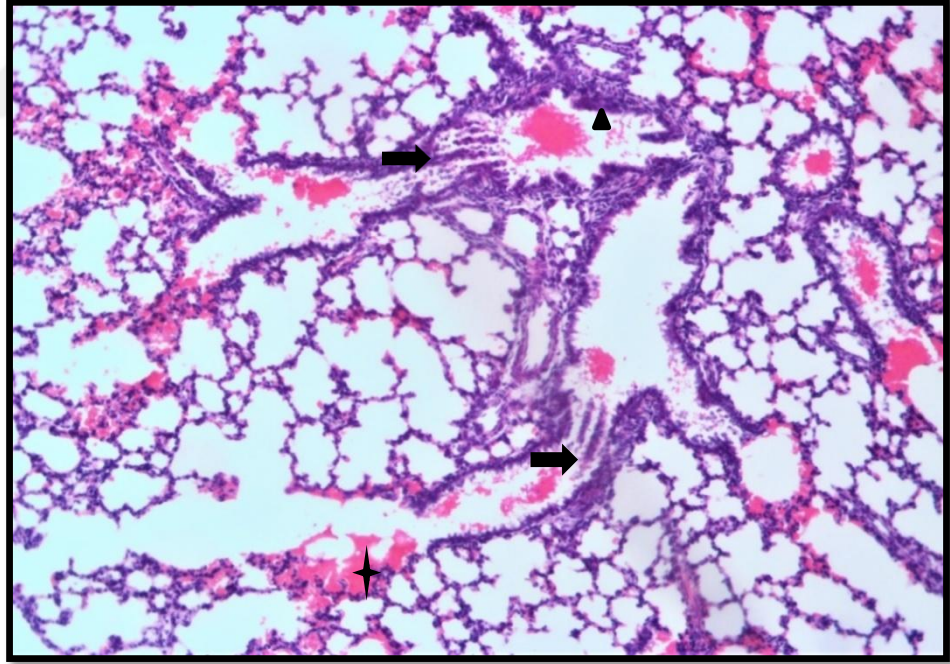
Şekil 32: Kontrol grubuna ait normal akciğer histolojisi. (H&E x40).



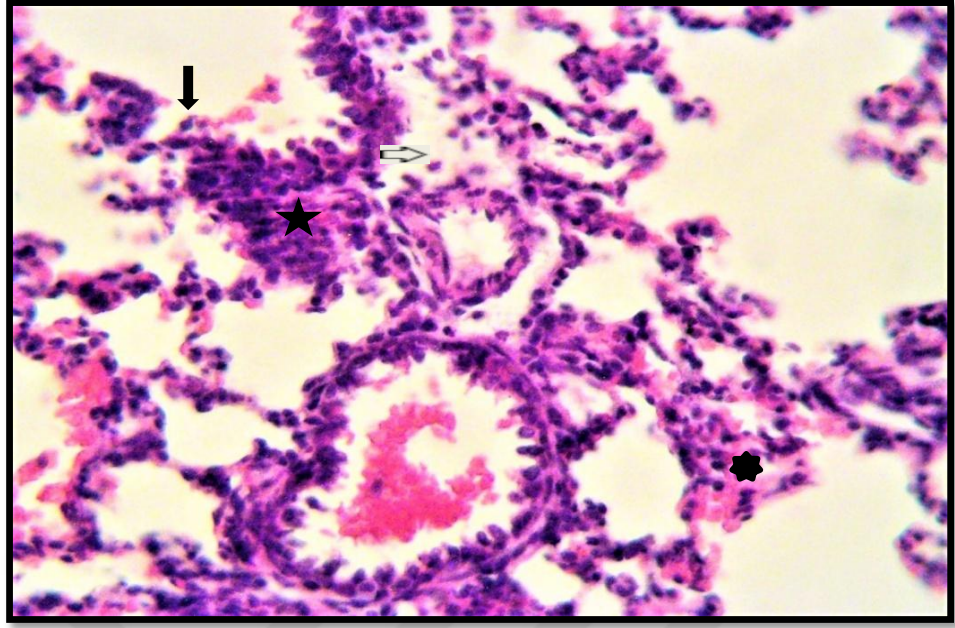
Şekil 33: Kontrol grubuna ait perivasküler bağ doku lifleri (↗). (Masson'un üçlü boyası x20).



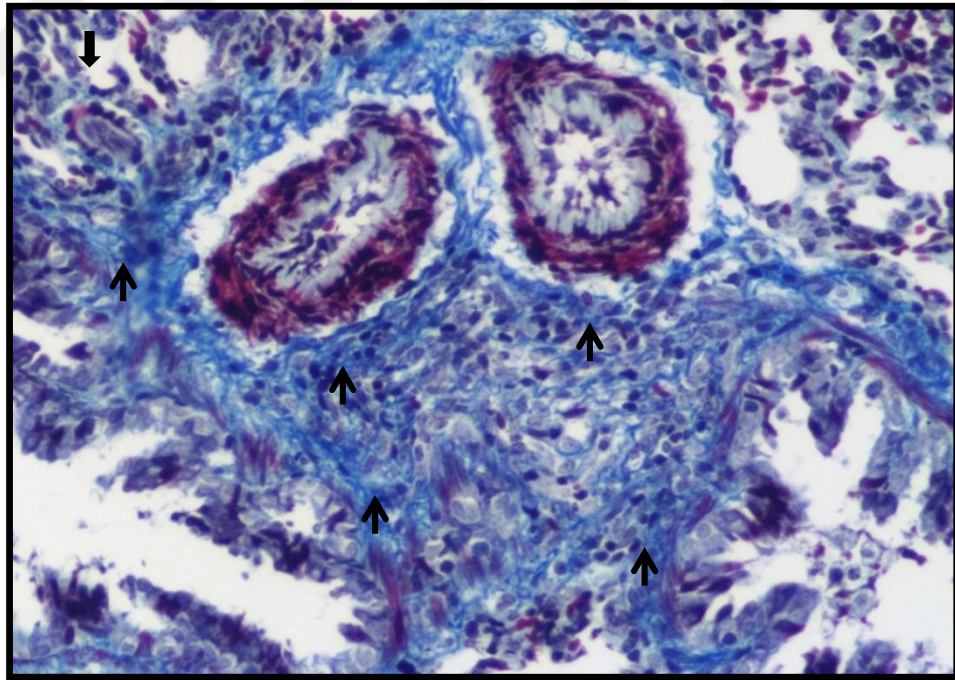
Şekil 34: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (↗), inflamatuvar hücre artışı (★), lümeneye dökülen hücre (↓) ve hiyalin membran oluşumları (✦). (H&Ex10).



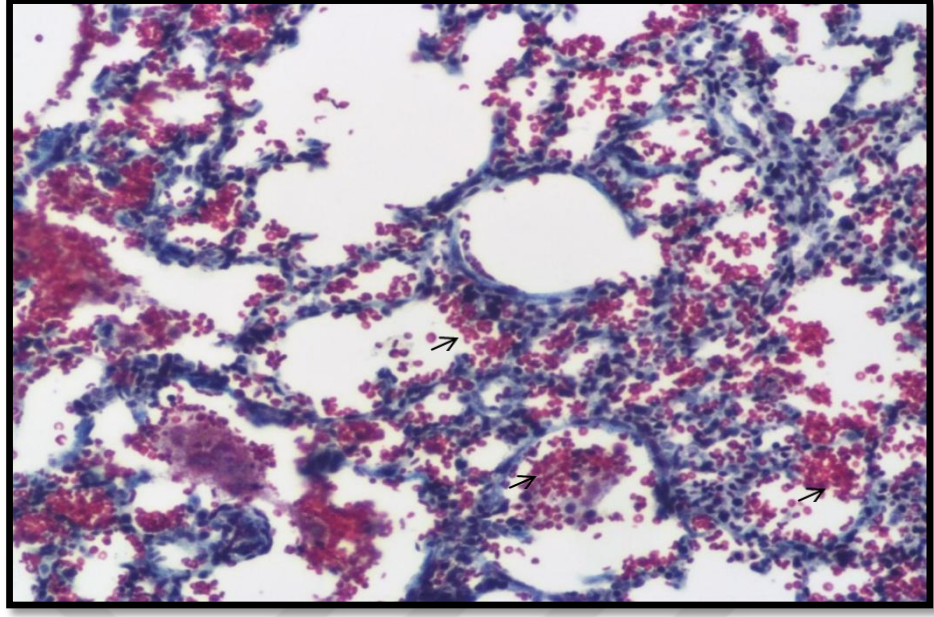
Şekil 35: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki bronşiyal epitel dejenerasyonu (▲), lümeneye dökülen hücre (➡) ve hiyalin membran oluşumları (✦). (H&E x10).



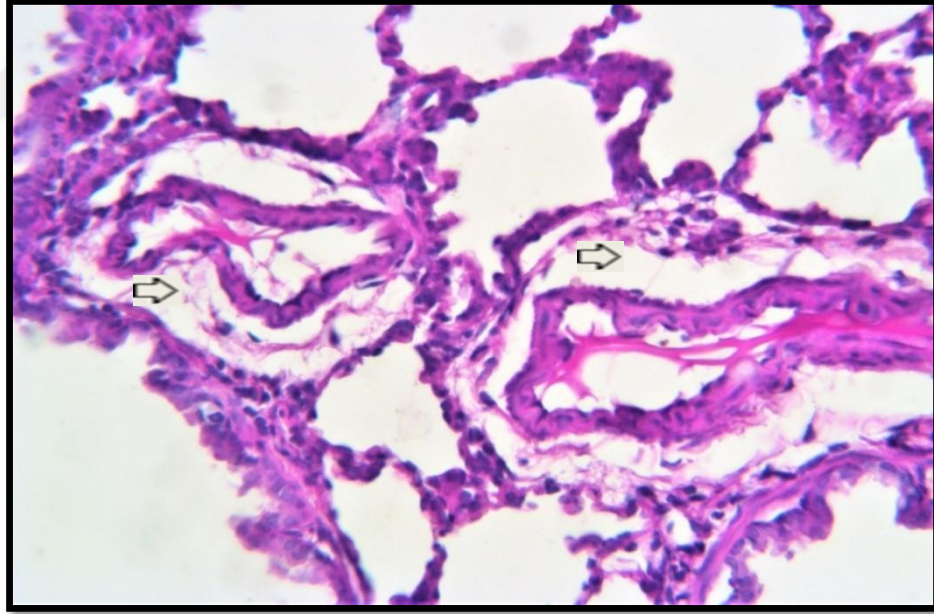
Şekil 36: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki inflamatuvar hücre artışı (★), lümeneye dökülen hücre (↓), interalveoler septal kalınlaşma (★) ve ödem (⇨). (H&E x40).



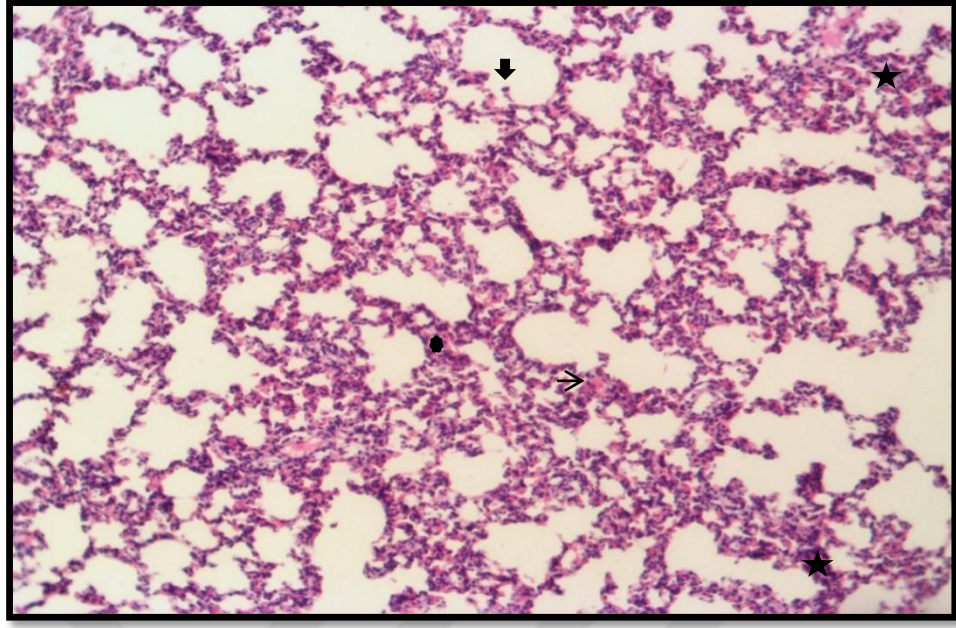
Şekil 37: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki bağ doku artışı (↑). (Masson'un üçlü boyası x40).



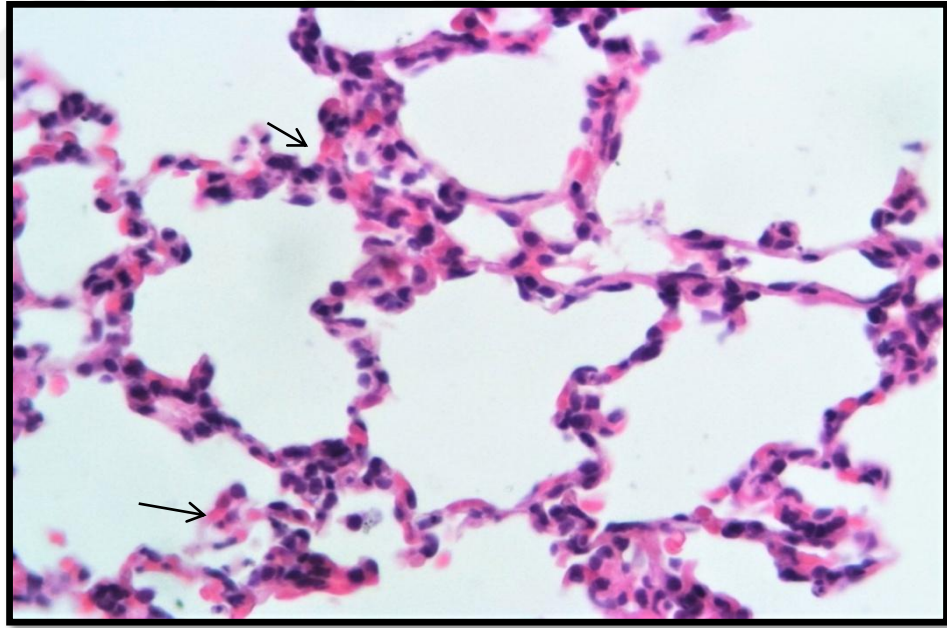
Şekil 38: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki yoğun hemorajik alanlar (↗). (Masson'un üçlü boyası x20).



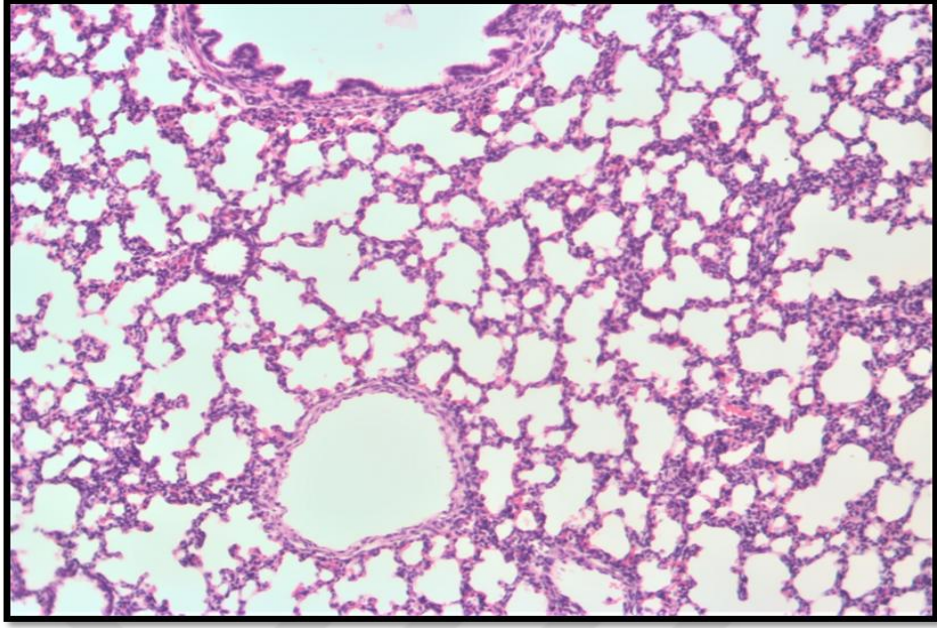
Şekil 39: Tütün dumanı grubuna ait akciğer doku kesitindeki perivasküler ödem (⇨). (PAS x40).



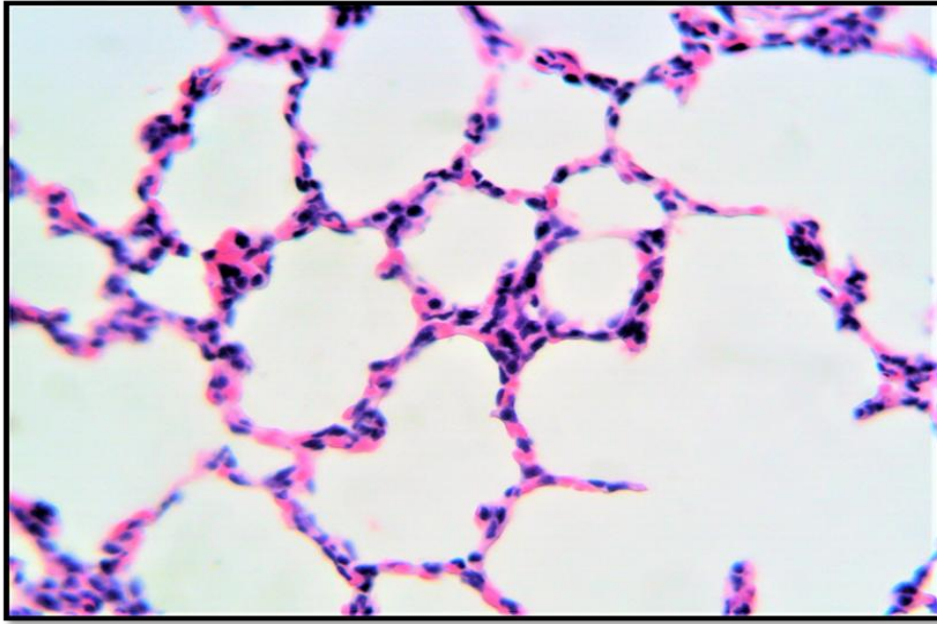
Şekil 40: Tütün dumanı+ALA grubuna ait akciğer doku kesitinde inflamatuvar hücre artışı (★), interalveoler septal kalınlaşma (◆) ve lümeneye dökülen hücre (↓). (H&E x10).



Şekil 41: Tütün dumanı +ALA grubuna ait akciğer doku kesitindeki hemorajik alanlar (↘). (H&E x40).



Şekil 42: ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x10).



Şekil 43: ALA grubuna ait akciğer doku kesiti. (H&E x40).

5.4. Morfometrik Ölçümler

5.4.1. Postnatal 7 ve 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarına ait Alveol

Sayıları

Radial alveoler sayım (RAC) metodu ile belirlenen postnatal 7 ve 21 günlük kontrol grubuna ait sıçan akciğer kesitlerindeki alveol sayıları ile ALA grubuna ait alveol sayılarının birbirlerine yakın olduğu gözlemlendi ($p>0.05$). Tütün dumanı grubuna ait alveol sayılarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 17).

Tablo 17: RAC metodu ile belirlenen postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer dokularındaki alveol sayıları

GRUPLAR	Postnatal 7 günlük alveol sayıları	Postnatal 21 günlük alveol sayıları
Kontrol grubu	5,33± 0.33	7,42± 0.20
Tütün dumanı grubu	3,00±0.25 ^a	4,00±0.53 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	4,5± 0.42 ^b	6,28± 0.28 ^b
ALA grubu	5,16± 0.30 ^b	7,28± 0.18 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.5. TUNEL Bulguları

5.5.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği akciğer dokusunda

alveoler epitel, bronş ve bronşiyol epitel ve interalveoler alanda gözlendi (Şekil 44, 45, 46, 47, 48). TUNEL pozitifliği; kontrol grubu (Şekil 45) ve ALA grubunda (Şekil 48) benzerdi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 45, 46). Tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında tütün dumanı + ALA grubunda ise anlamlı bir azalma gözlendi ($p<0.05$) (Şekil 47) (Tablo 18).

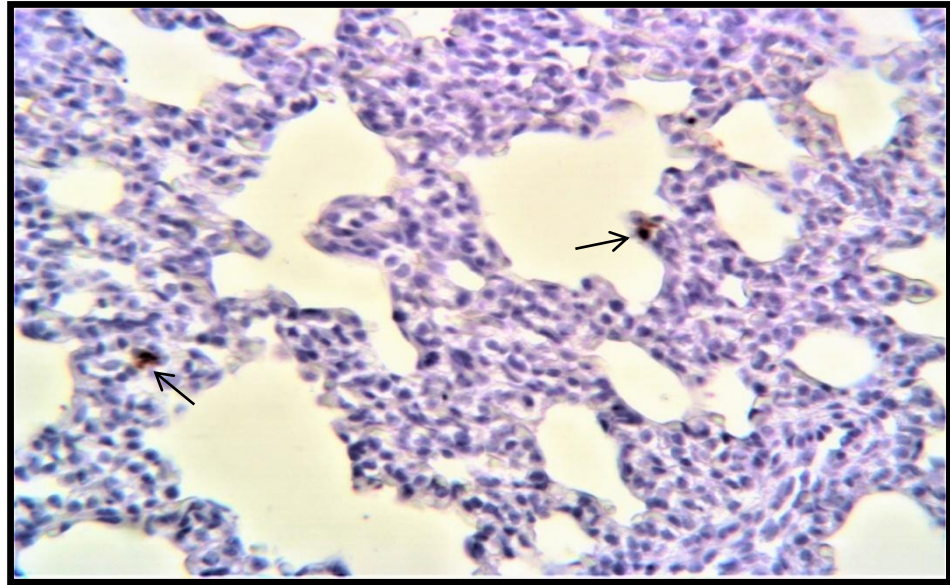
Tablo 18: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki apoptotik indeks (%).

GRUPLAR	APOPTOTİK İNDEKS (%)
Kontrol grubu	2,92 ± 1.82
Tütün dumanı grubu	35,50 ± 6.11 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	14,05 ± 1.54 ^{ab}
ALA grubu	4,05 ± 0.89 ^b

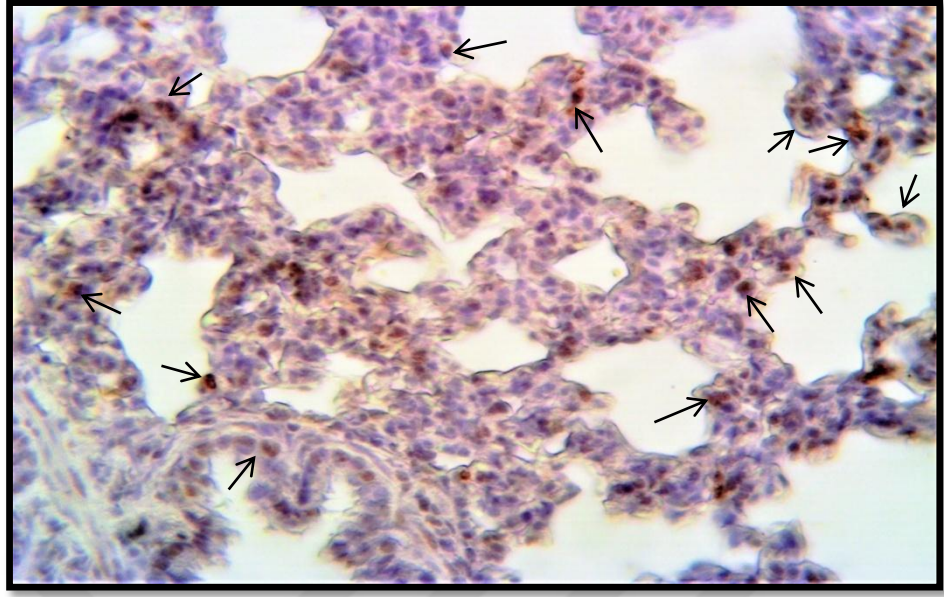
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

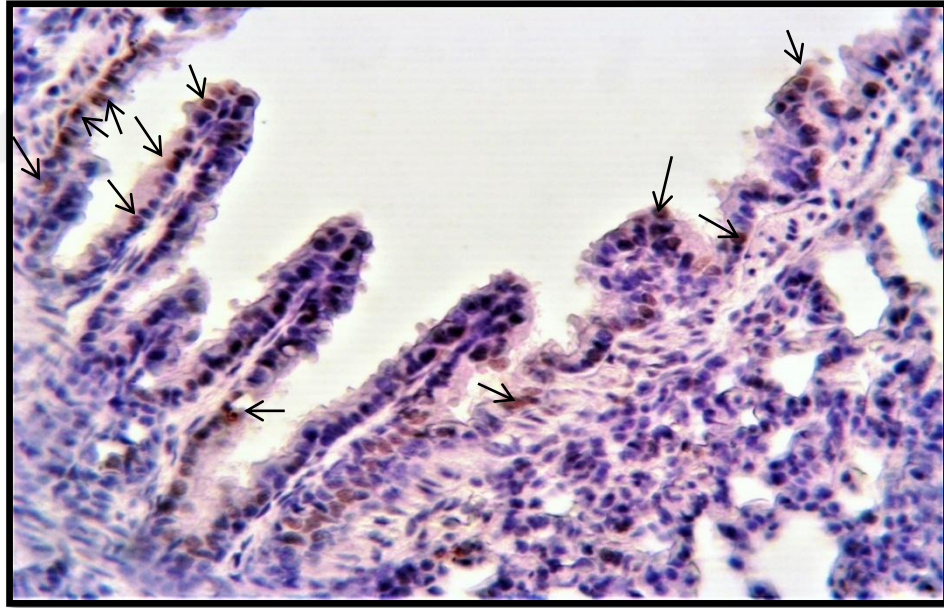
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



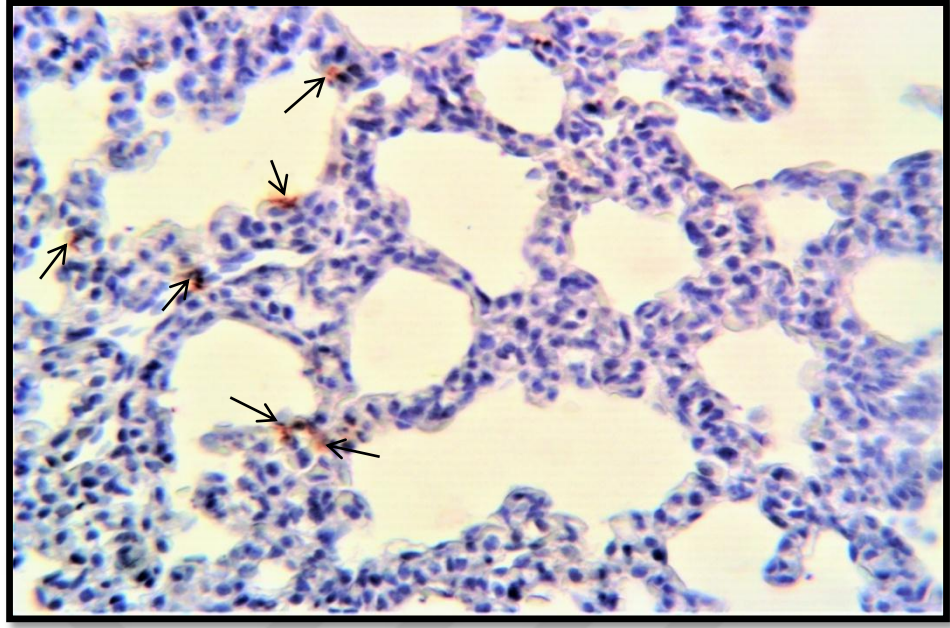
Şekil 44: Kontrol grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



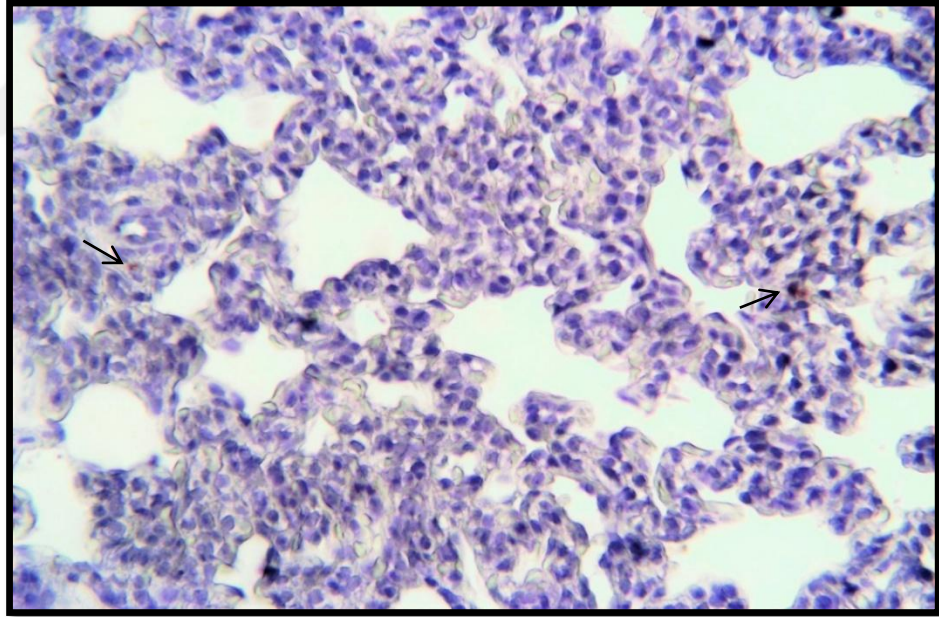
Şekil 45:Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



Şekil 46: Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



Şekil 47: Tütün dumanı +ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40



Şekil 48: ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.

5.5.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği; kontrol grubu (Şekil

49) ve ALA grubunda (Şekil 52) benzerdi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 50). Tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında tütün dumanı + ALA grubunda ise anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 51). Negatif kontrolde ise TUNEL pozitifliğine rastlanmadı (Şekil 54) (Tablo 19).

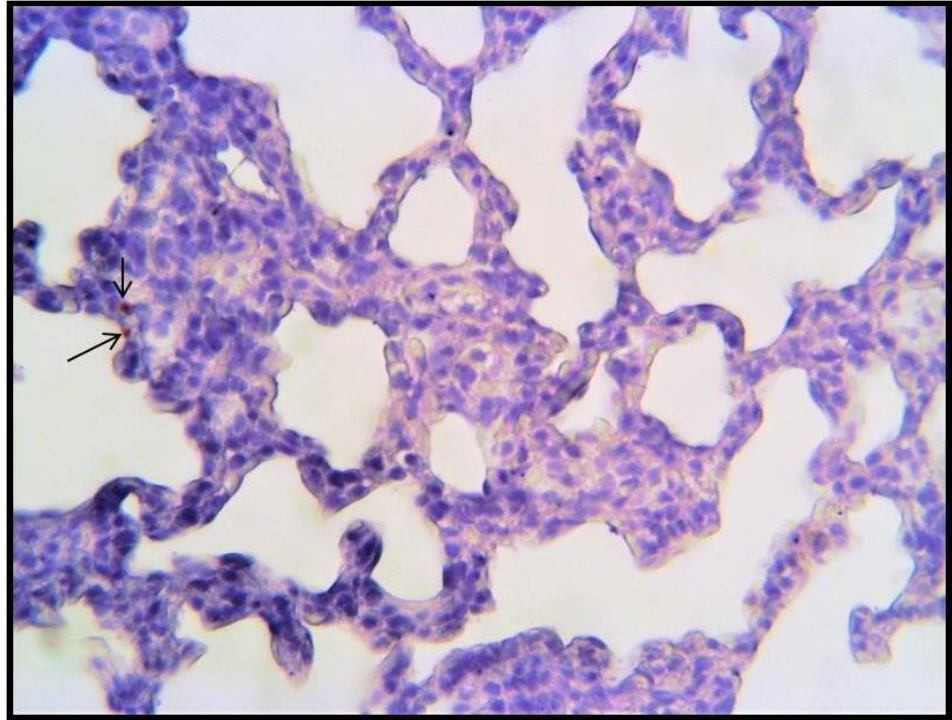
Tablo 19: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki apoptotik indeks (%).

GRUPLAR	APOPTOTİK İNDEKS (%)
Kontrol grubu	3,01 ± 1.78
Tütün dumanı grubu	30,07 ± 6.84 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	12,54 ± 2.43 ^{ab}
ALA grubu	4,25 ± 1.48 ^b

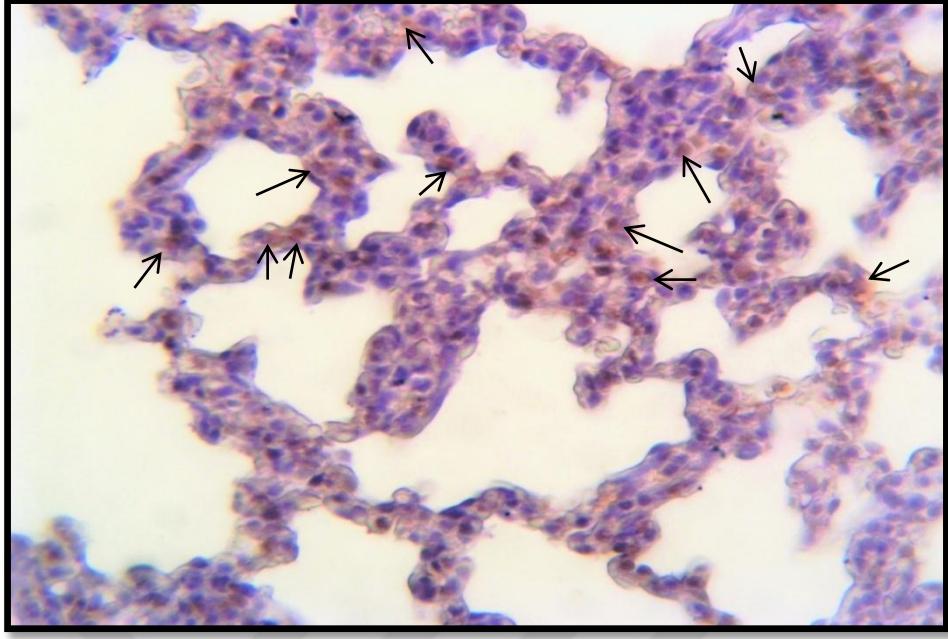
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



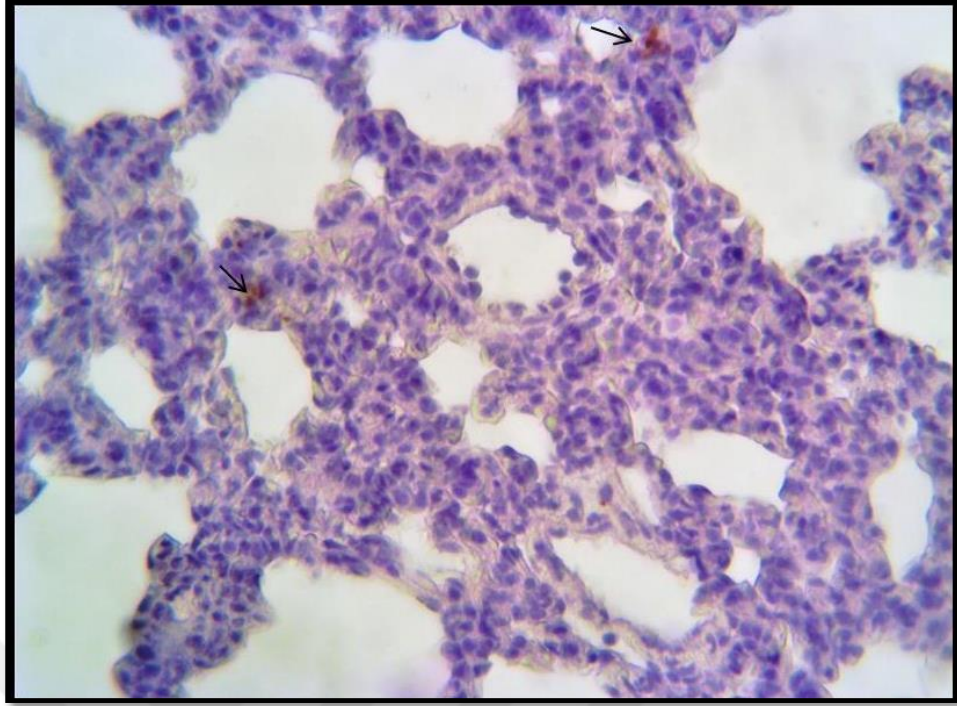
Şekil 49: Kontrol grubu. TUNEL pozitif hücreler (). x40.



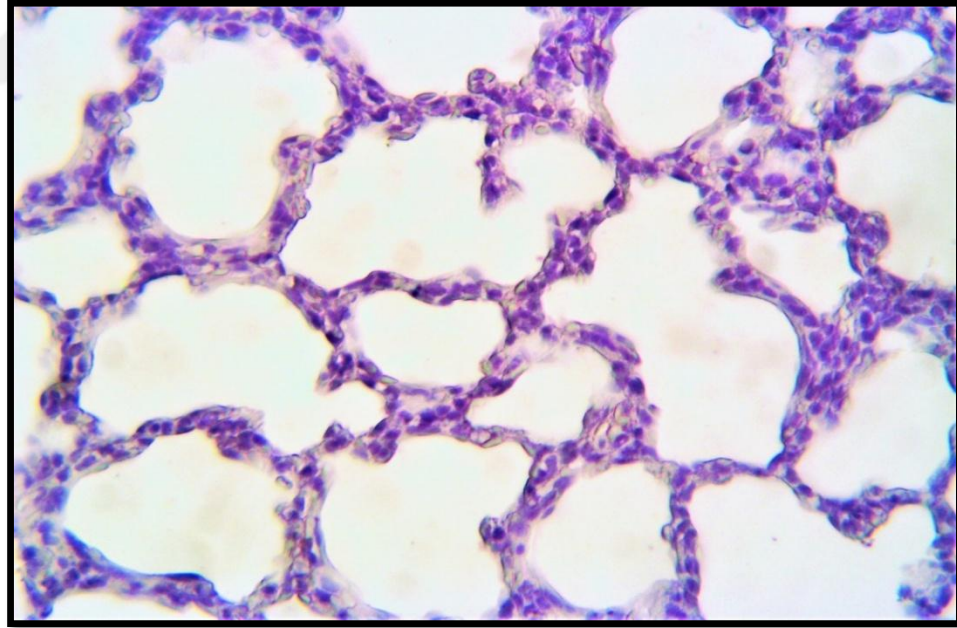
Şekil 50: Tütün dumanı grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



Şekil 51: Tütün dumanı +ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



Şekil 52: ALA grubu. TUNEL pozitif hücreler (↗). x40.



Şekil 53: Negatif kontrol. TUNEL pozitif hücre görülmemekte. x40.

5.6. Kaspaz-3 immünreaktivitesi

5.6.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi

Kaspaz-3 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; Kaspaz-3 immünreaktivitesi akciğer dokusunda bronş ve bronşiyol epitelde, Tip 1 ve Tip 2 alveoler hücrelerde ve interalveoler septumdaki bazı hücrelerde gözlemlendi (Şekil 54, 55, 56, 57). Kontrol grubuna ait Kaspaz-3 immünboyamasında çok ender hücrenin tutulum gösterdiği, bazılarında ise hiç tutulum olmadığı gözlemlendi (Şekil 54). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 55). Tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında tütün dumanı + ALA grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 56). ALA grubuna ait Kaspaz-3 immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi ($p>0.05$) (Şekil 57). Negatif kontrolde ise Kaspaz-3 immünreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 58) (Tablo 20).

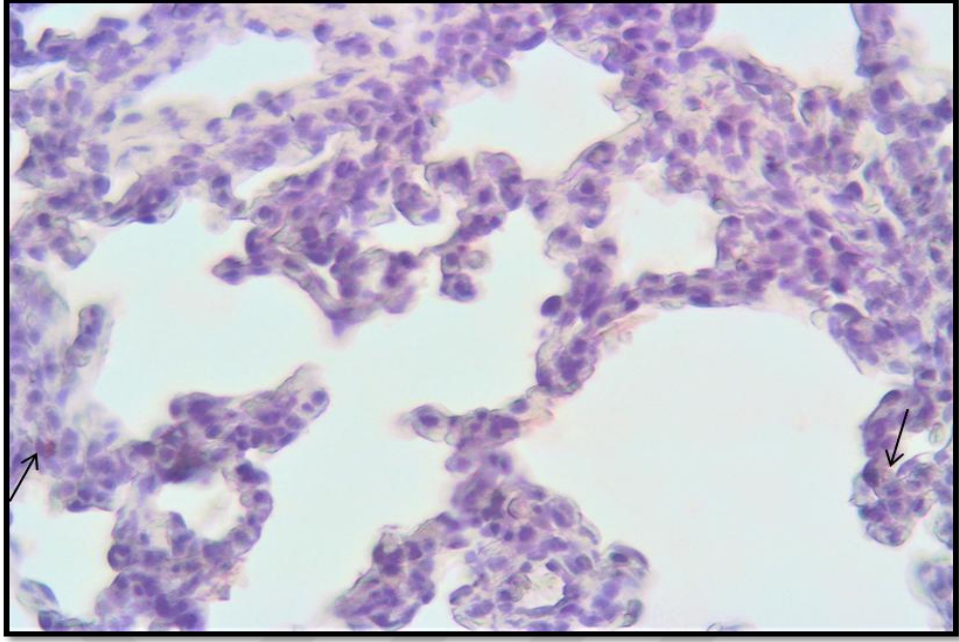
Tablo 20: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki Kaspaz-3 immünreaktivitesi.

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	0,35± 0.15
Tütün dumanı grubu	2,30±0.48 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	1,04± 0.39 ^{ab}
ALA grubu	0,52± 0.23 ^b

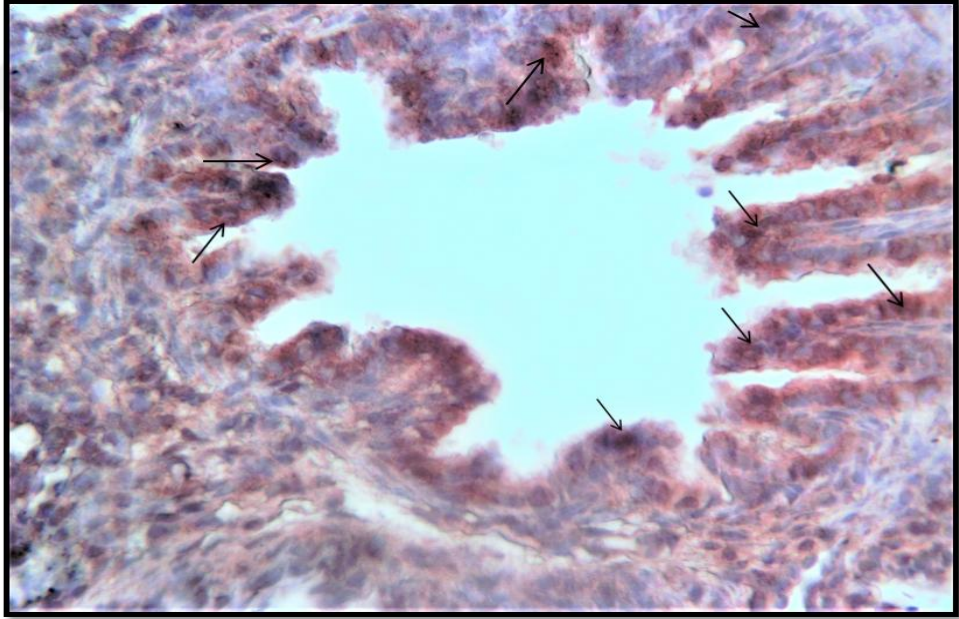
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

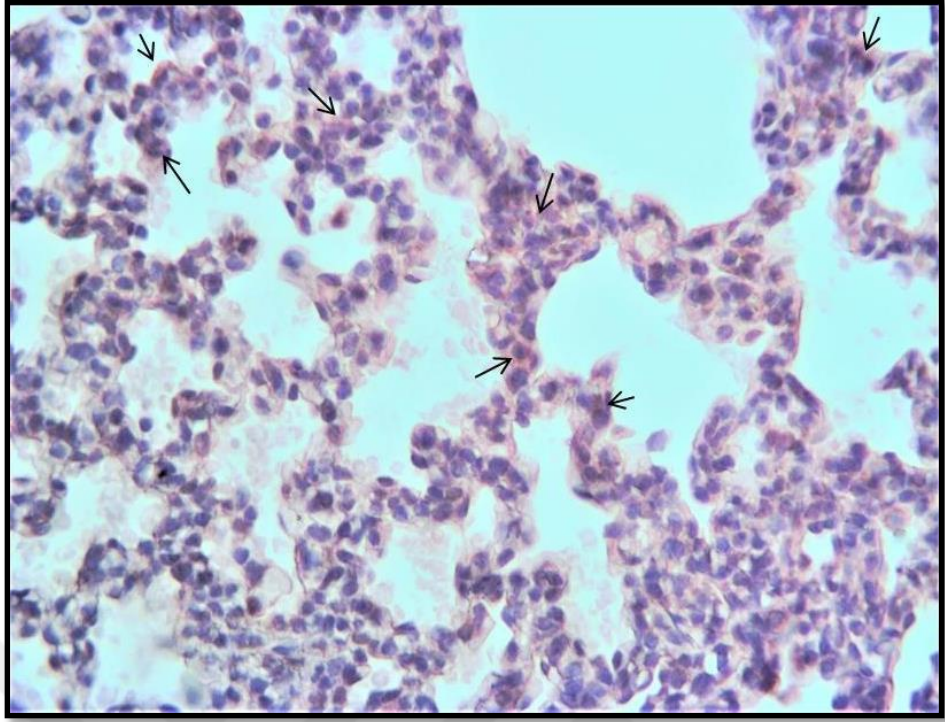
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



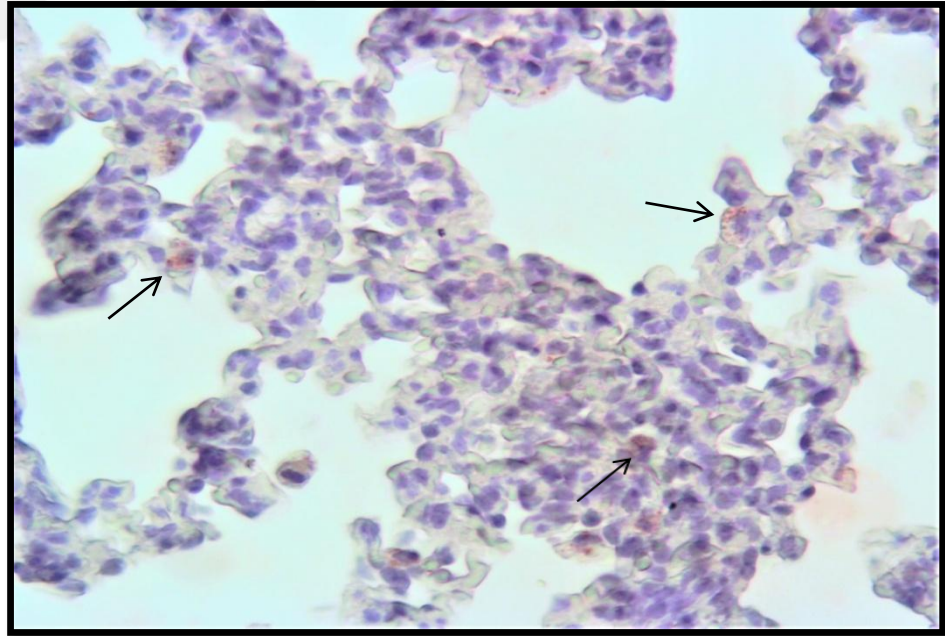
Şekil 54: Kontrol grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada nadir kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



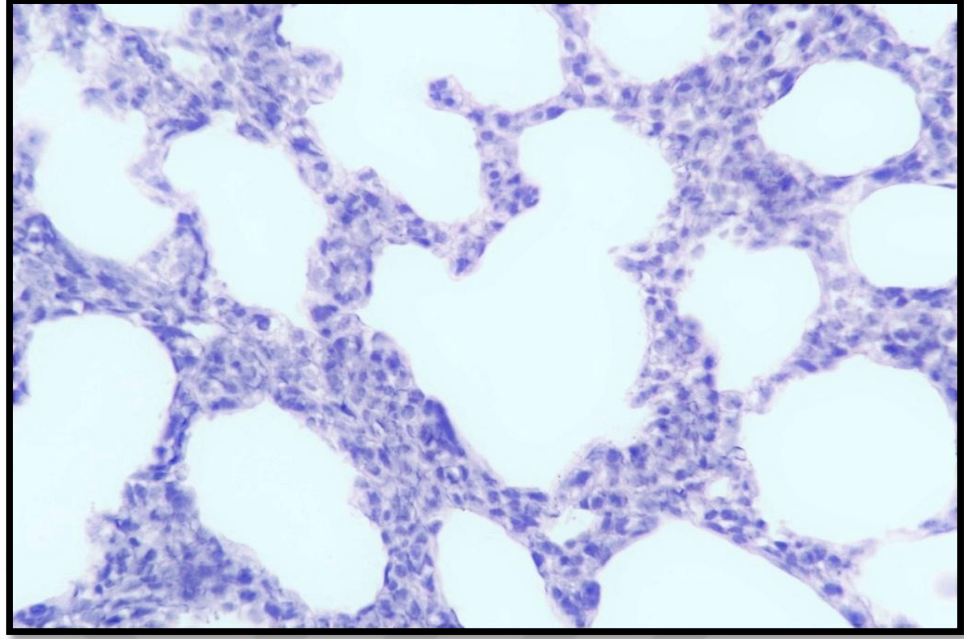
Şekil 55: Tütün dumanı grubu. Bronşiyol epitelde yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi. (↗). x40.



Şekil 56: Tütün dumanı + ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



Şekil 57: ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada hafif kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



Şekil 58: Negatif kontrol. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi görülmemekte. x40.

5.6.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi

Kaspaz-3 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kaspaz-3 immünreaktivitesi akciğer dokusunun bronş ve bronşiyollerine ait epitelde ve bağ dokusundaki bazı hücrelerde, Tip 1 ve Tip 2 alveoler hücrelerinde ve interalveoler septumun bazı hücrelerinde gözlemlendi (Şekil 59, 60, 61, 62, 63). Kontrol grubuna ait kaspaz-3 immünboyamasında çok ender hücrenin tutulum gösterdiği, bazılarında hiç tutulum olmadığı gözlemlendi (Şekil 59). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tütün dumanı grubunda anlamlı bir artış vardı ($p < 0.05$) (Şekil 60, 61). Tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında tütün dumanı + ALA grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 62). ALA grubuna ait kaspaz-3

immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi ($p>0.05$) (Şekil 63) (Tablo 21).

Tablo 21: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki Kaspaz-3 immünreaktivitesi.

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	0,2± 0.13
Tütün dumanı grubu	2,1±0.6 ^a
Tütün dumanı+ ALA grubu	0,81± 0.2 ^{ab}
ALA grubu	0,4± 0.15 ^b

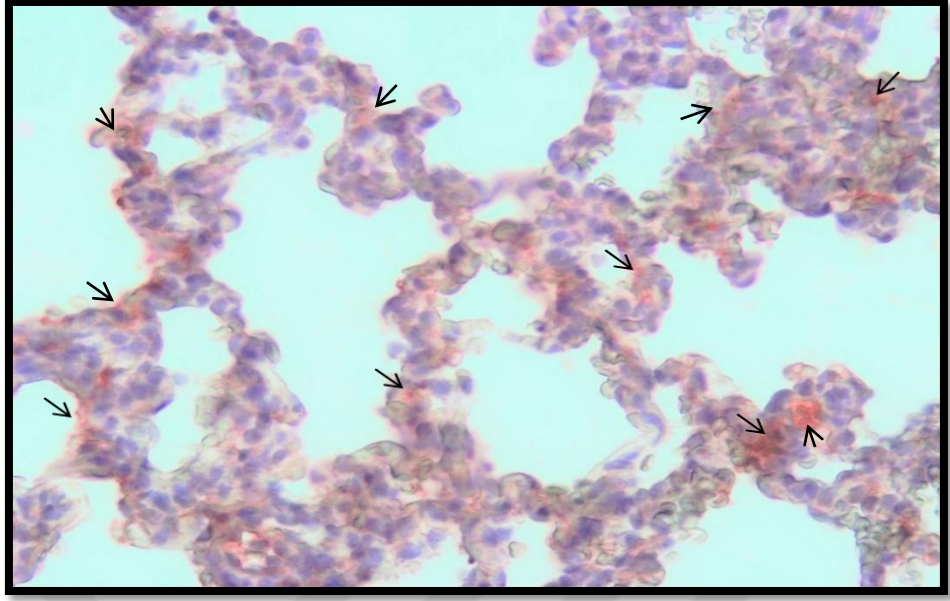
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

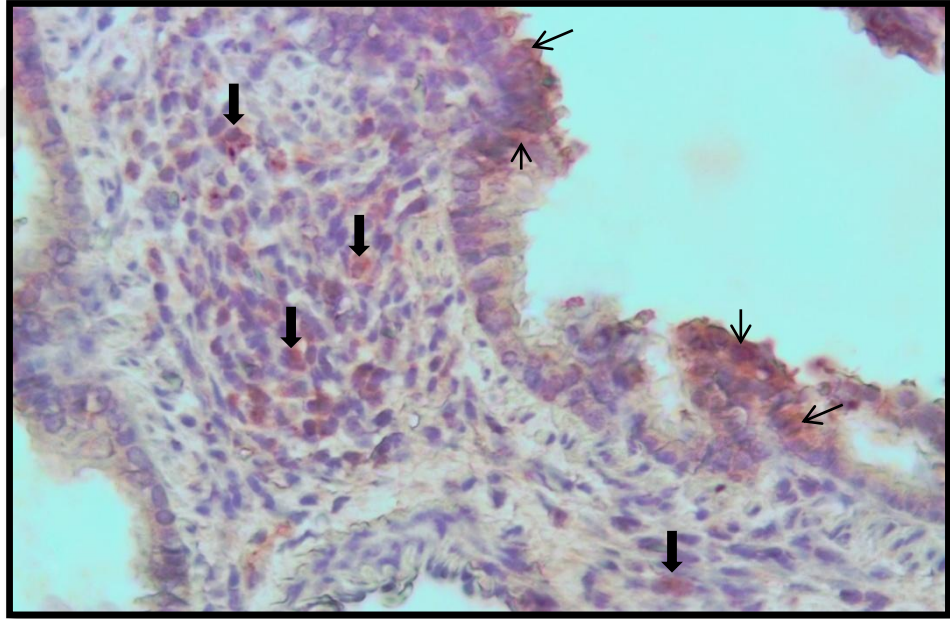
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



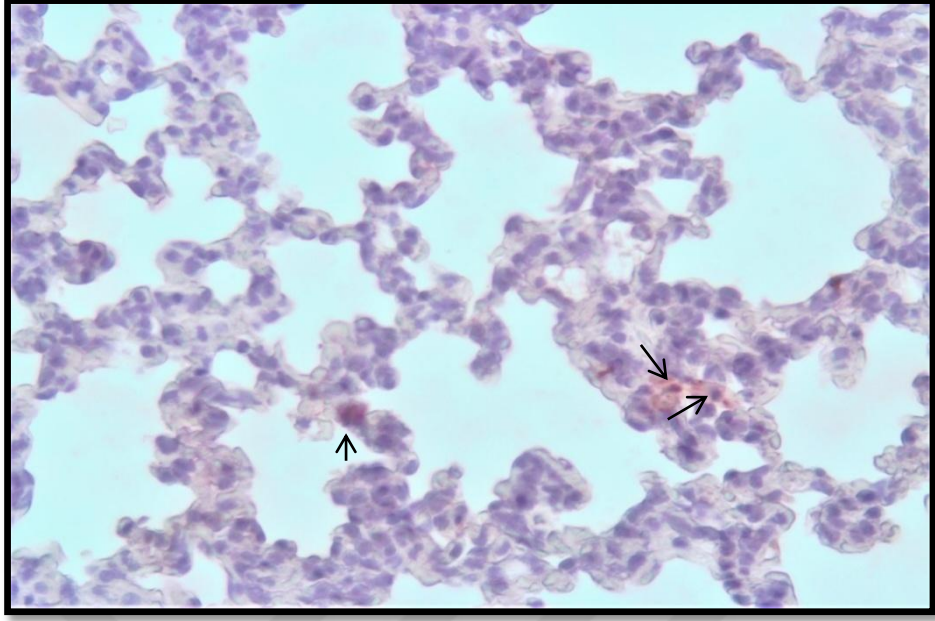
Şekil 59: Kontrol grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada nadir kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



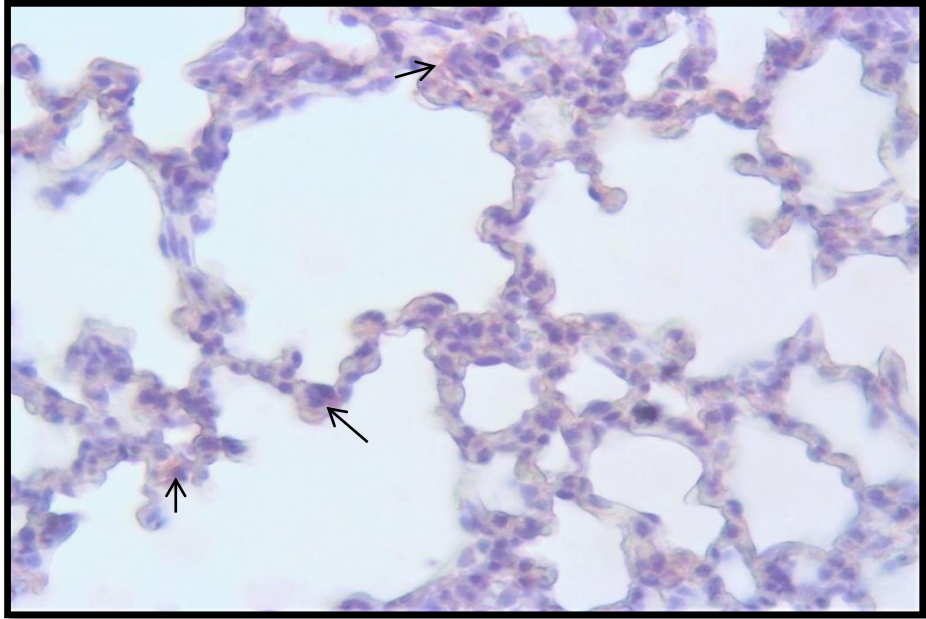
Şekil 60: Tütün dumanı grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



Şekil 61: Tütün dumanı grubu. Bronşiyal epitel (↙) ve bağ dokusundaki bazı hücrelerde (↓) yoğun kaspaz-3 immünreaktivitesi . x40.



Şekil 62: Tütün dumanı+ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.



Şekil 63: ALA grubu. Alveoler epitel ve interalveoler septada hafif kaspaz-3 immünreaktivitesi (↗). x40.

5.7. Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi

5.7.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi

SP-A immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubuna ait SP-A immünreaktivitesi akciğer dokusunda bronşiyol epitellerde ve Tip 2 alveoler hücrelerde gözlemlendi (Şekil 64, 65, 66, 67). Tütün dumanı grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Şekil 65). Tütün dumanı + ALA grubunda ise, tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 66). ALA grubuna ait SP-A immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi ($p>0.05$) (Şekil 67). Negatif kontrolde ise SP-A immünreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 68) (Tablo 22).

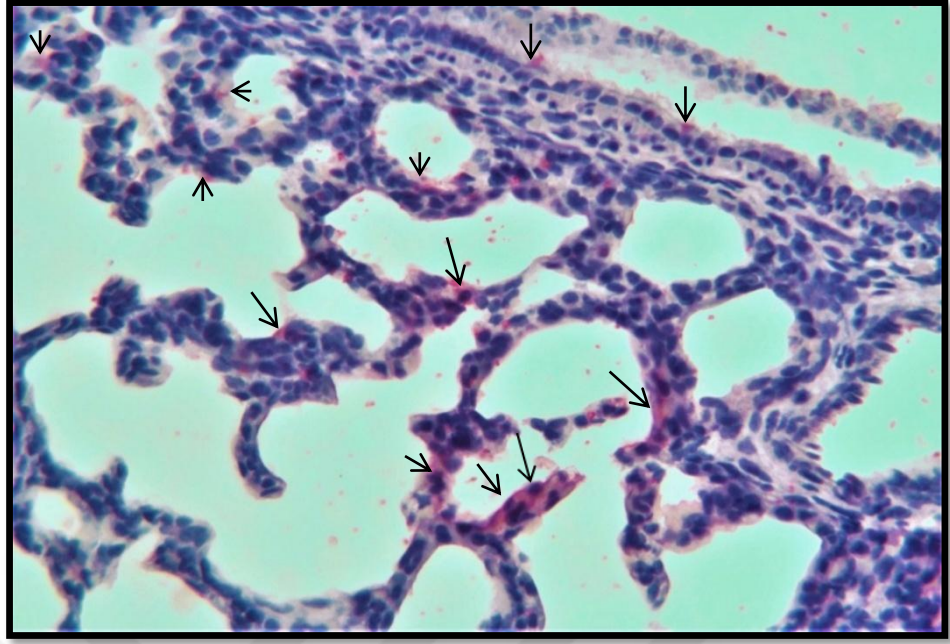
Tablo 22: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki SP-A immünreaktivitesi.

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	1,43± 0.17
Tütün dumanı grubu	0,22±0.08 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	1,03± 0.18 ^b
ALA grubu	1,13± 0.16 ^b

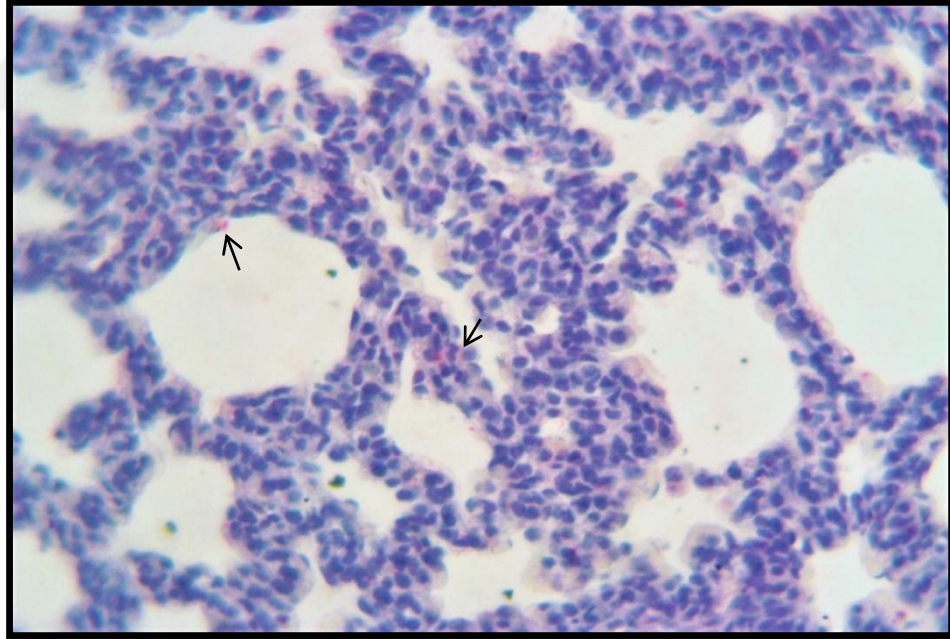
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

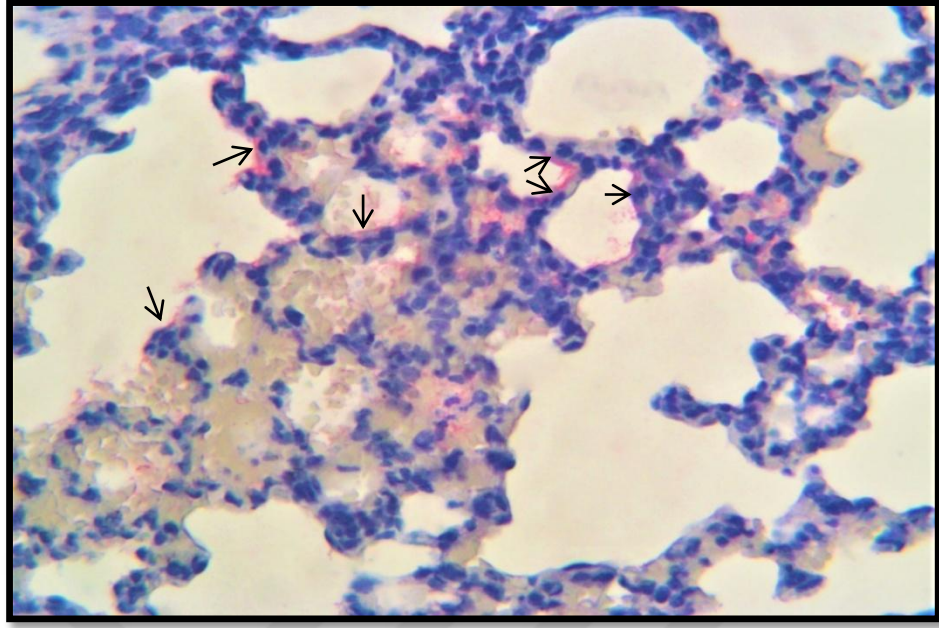
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



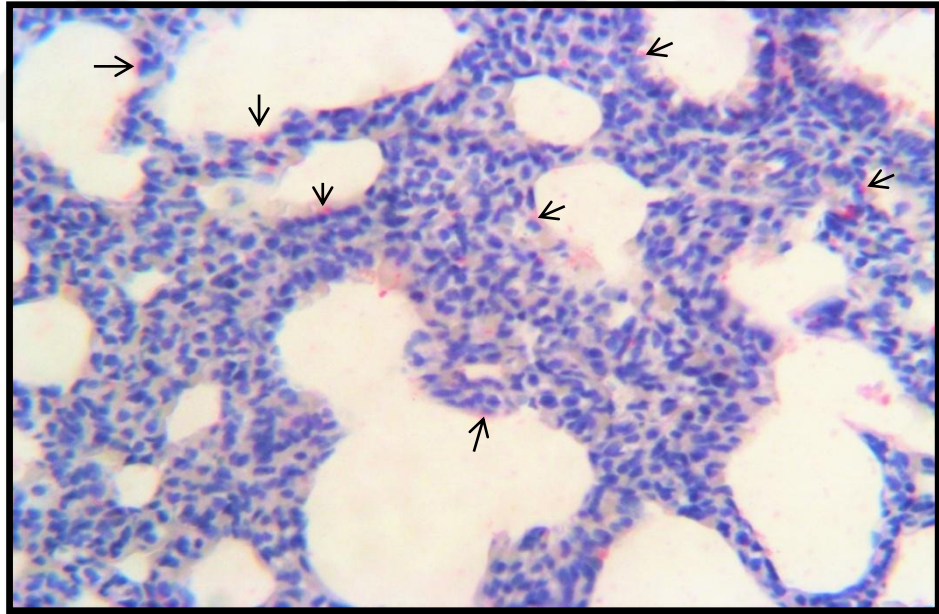
Şekil 64: Kontrol grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) yaygın SP- A immünreaktivitesi. x40.



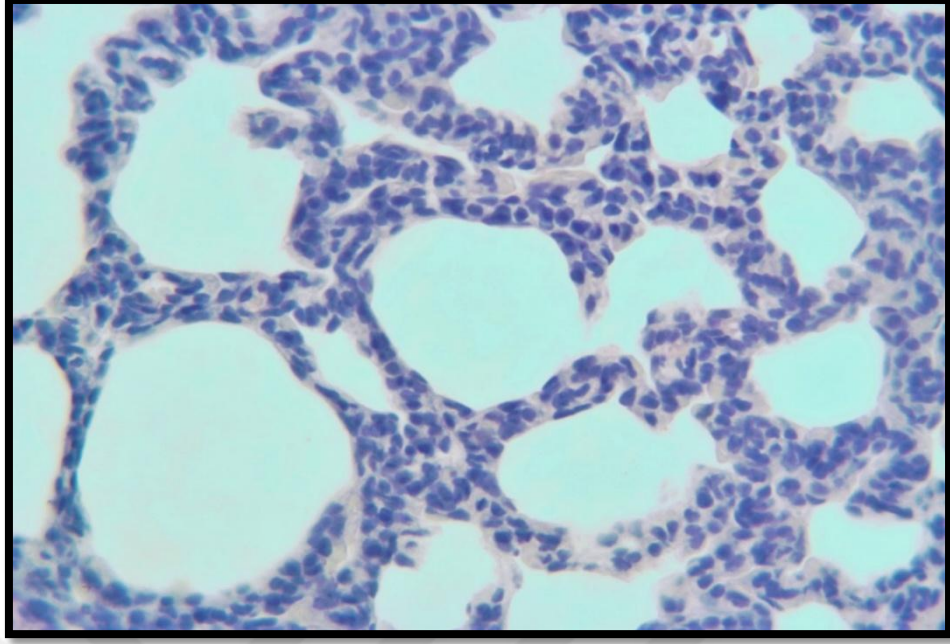
Şekil 65: Tütün dumanı grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) azalmış SP- A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 66: Tütün dumanı +ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) SP-A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 67: ALA grubu. Tip 2 alveoler ve bronşiyol epitel hücrelerinde (↗) SP-A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 68: Negatif kontrol. Alveoler epitelde SP-A immünreaktivitesi görülmemekte.x40.

5.7.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Sürfaktan Protein-A İmmünreaktivitesi

SP-A immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubuna ait SP-A immünreaktivitenin akciğer dokusunda Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde yaygın olduğu gözlemlendi (Şekil 69, 70, 71, 72) Tütün dumanı grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma vardı ($p < 0.05$) (Şekil 70). Tütün dumanı + ALA grubunda ise, tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 71). ALA grubuna ait SP-A immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi ($p > 0.05$) (Şekil 72) (Tablo 23).

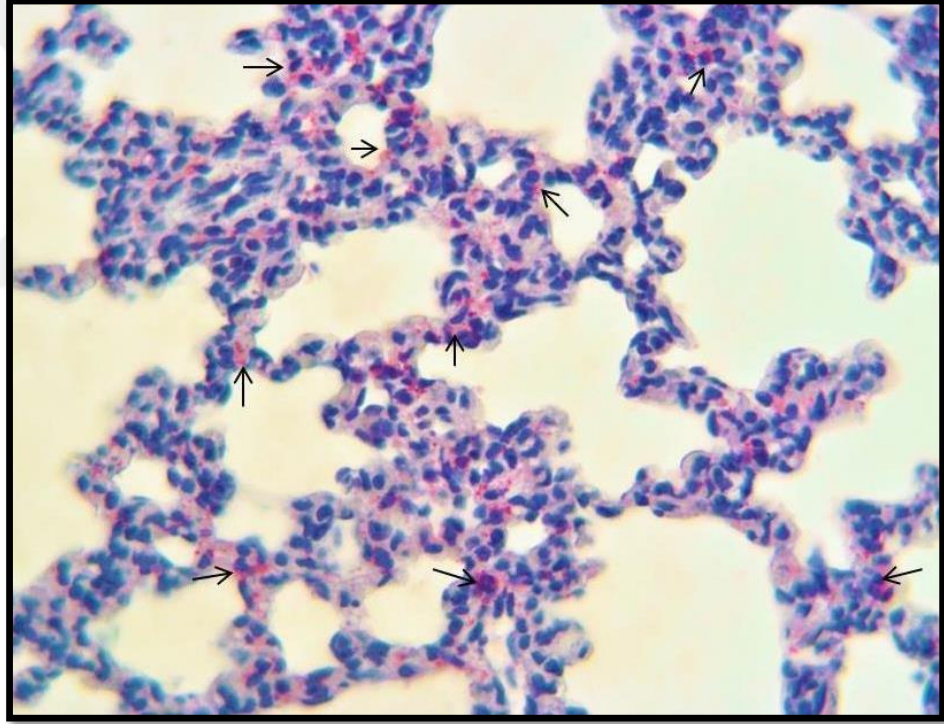
Tablo 23: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki SP-A immünreaktivitesi

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	2,00± 0.24
Tütün dumanı grubu	0,43±0.08 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	1,30± 0.10 ^{a b}
ALA grubu	1,85± 0.19 ^b

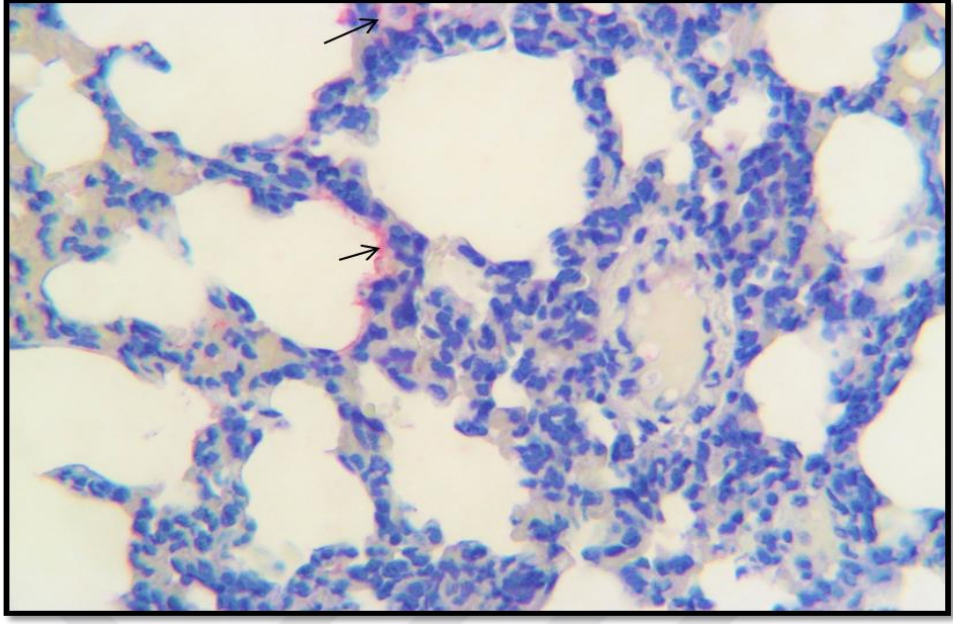
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

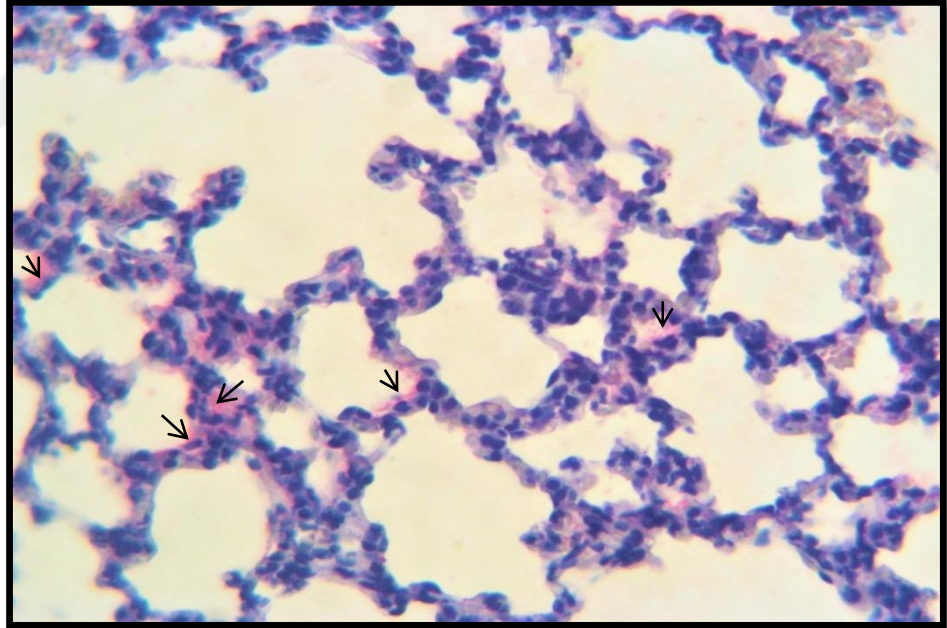
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



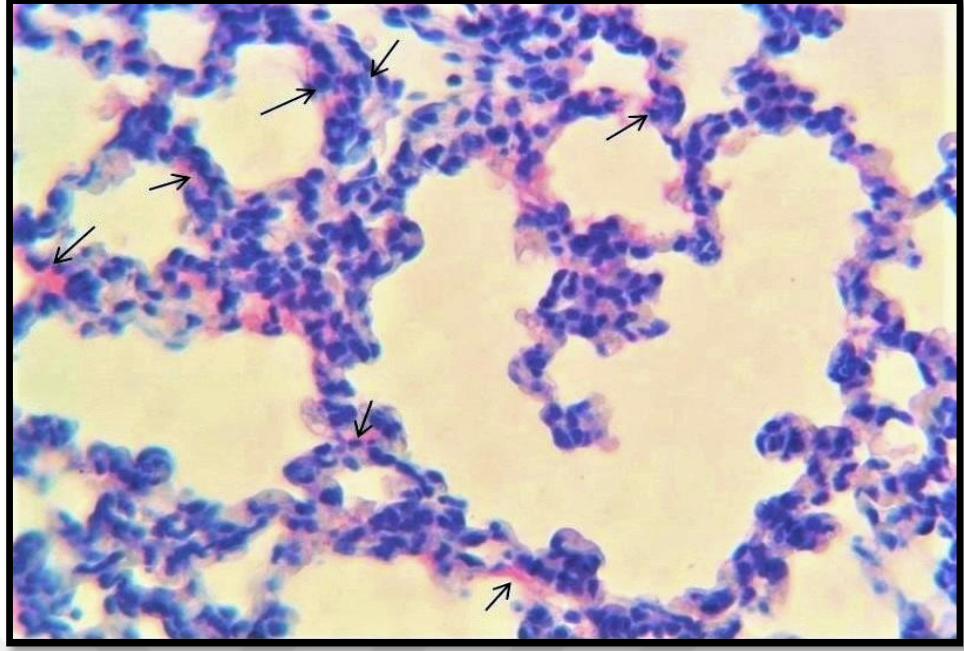
Şekil 69: Kontrol grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) yaygın SP- A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 70: Tütün dumanı grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) azalmış SP-A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 71: Tütün dumanı +ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) SP-A immünreaktivitesi. x40.



Şekil 72: ALA grubu. Tip 2 alveoler epitel hücrelerinde (↗) SP-A immünreaktivitesi. x40.

5.8. Vasküler Endotelial Büyüme Faktör İmmünreaktivitesi

5.8.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vasküler Endotelial Büyüme Faktör İmmünreaktivitesi

VEGF immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubuna ait VEGF immünreaktivitesi akciğer dokusunda bronş ve bronşiyol epitellerinde, alveoler epitel hücrelerinde, damar ve bronş düz kas hücrelerinde gözlemlendi (Şekil 73, 74, 75, 76, 77). Tütün dumanı grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma vardı ($p < 0.05$) (Şekil 75). Tütün dumanı + ALA grubunda ise, tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 76). ALA grubuna ait VEGF immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi ($p > 0.05$) (Şekil 77). Negatif kontrolde ise VEGF immünreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 78) (Tablo 24).

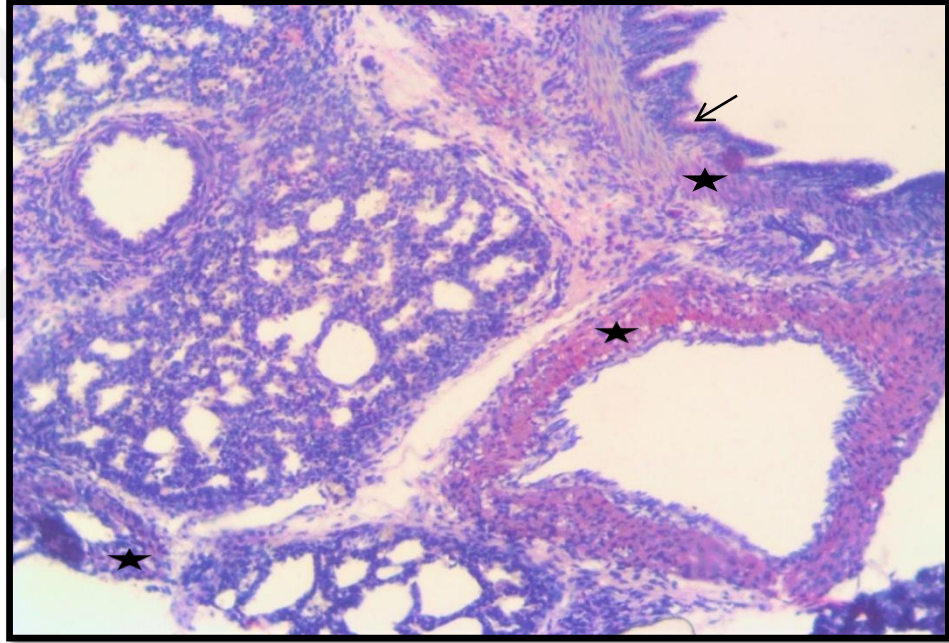
Tablo 24: Postnatal 7 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki VEGF immünreaktivitesi.

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	1,23± 0.13
Tütün dumanı grubu	0,43±0.05 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	0,91± 0.21 ^b
ALA grubu	1,16± 0.14 ^b

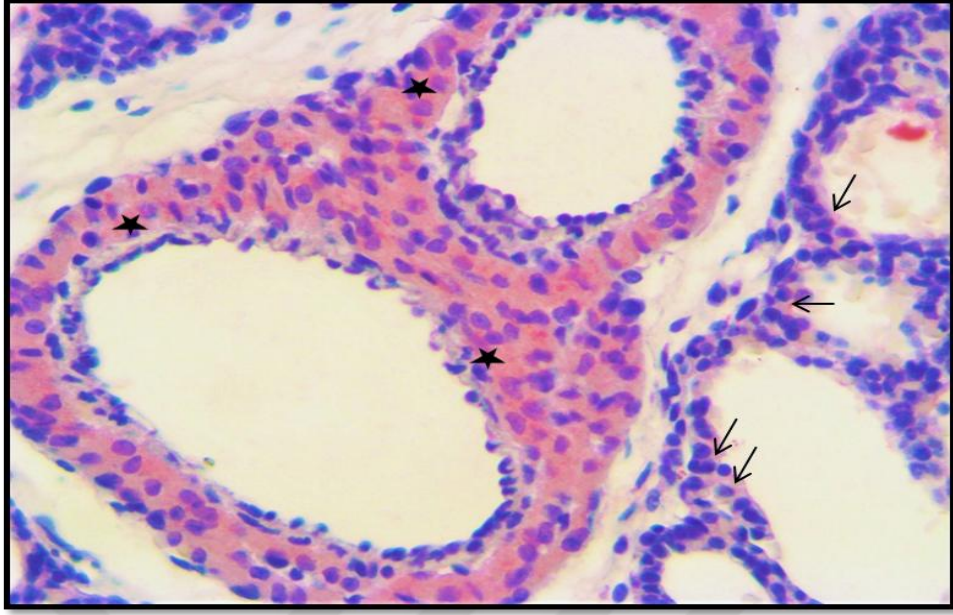
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

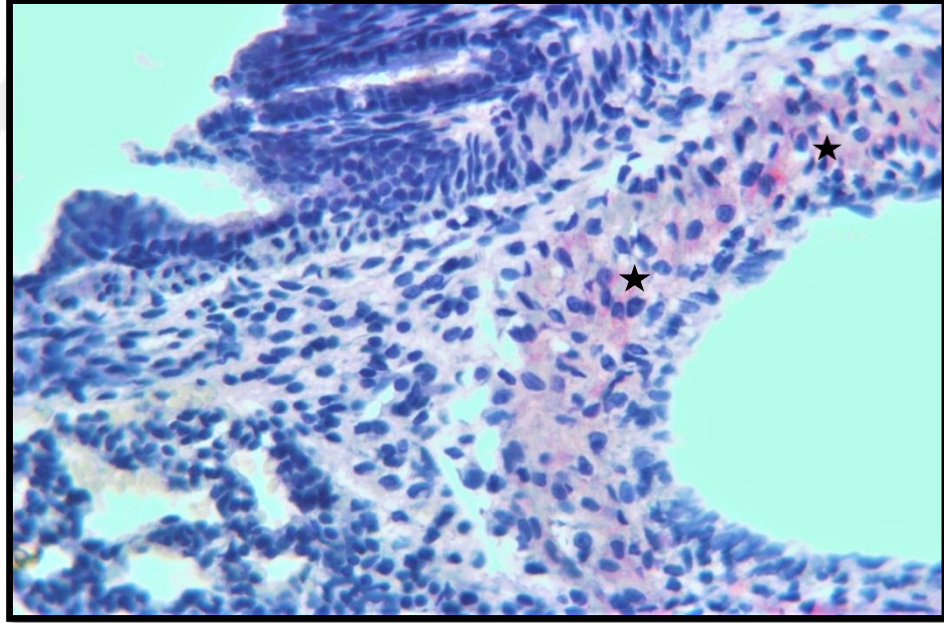
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05)



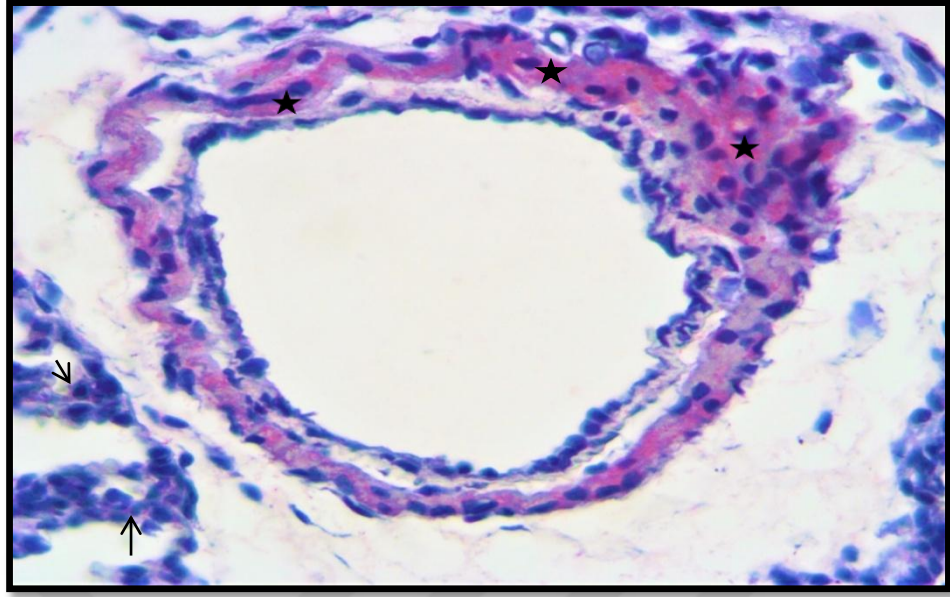
Şekil 73: Kontrol grubu. Damar ve bronş düz kas hücreleri (★) ve bronş epitel hücrelerinde (↙) yaygın VEGF immünreaktivitesi. x10.



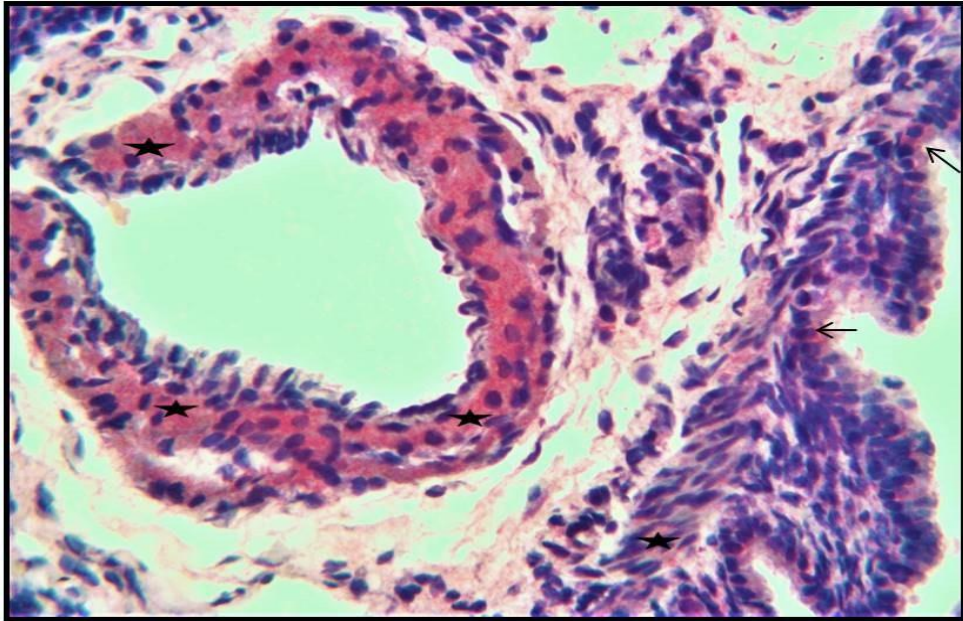
Şekil 74: Kontrol grubu. Damar düz kas hücreleri (★) alveoler epitel hücrelerinde (↙) VEGF immünreaktivitesi. x40.



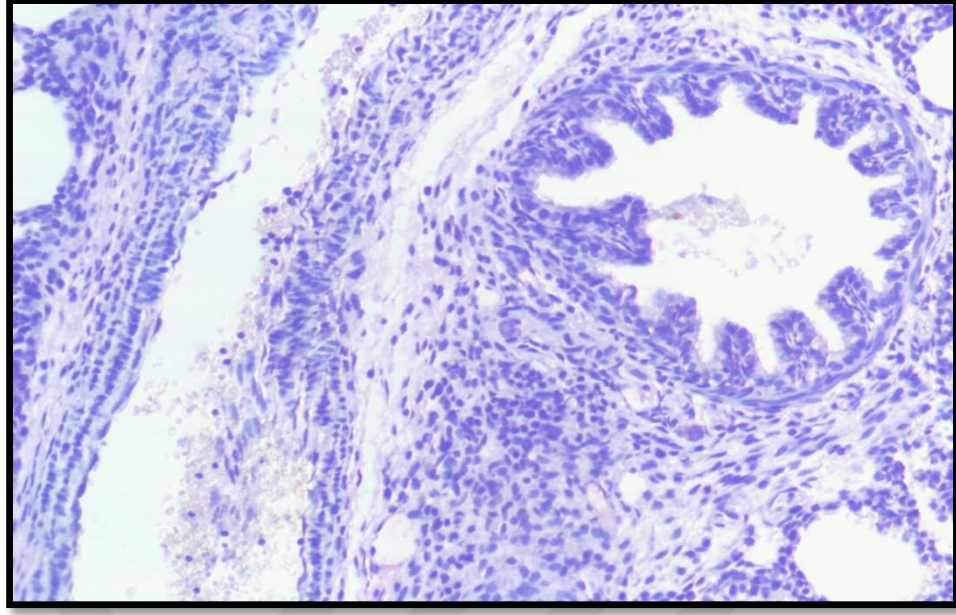
Şekil 75: Tütün dumanı grubu. Damar düz kas hücrelerinde (★) azalmış VEGF immünreaktivitesi.x40.



Şekil 76: Tütün dumanı +ALA grubu. Damar düz kas hücreleri (★) ve alveoler epitel hücrelerinde (↑) VEGF immünreaktivitesi. x40.



Şekil 77: ALA grubu. Damar ve bronşiyal düz kas hücreleri (↔) ve bronşiyal epitel hücrelerinde (★) VEGF immünreaktivitesi. x40.



Şekil 78: Negatif kontrol. VEGF immünreaktivitesi görülmemekte. x20.

5.8.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör İmmünreaktivitesi

VEGF immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubuna ait VEGF immünreaktivitesi akciğer dokusunda bronş ve bronşiyol epitellerinde, alveoler epitel hücrelerinde, damar ve bronş düz kas hücrelerinde gözlemlendi (Şekil 79, 80, 81, 82, 83). Tütün dumanı grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma vardı ($p < 0.05$) (Şekil 81). Tütün dumanı + ALA grubunda ise, tütün dumanı grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 82). ALA grubuna ait VEGF immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi (Şekil 83) (Tablo 25).

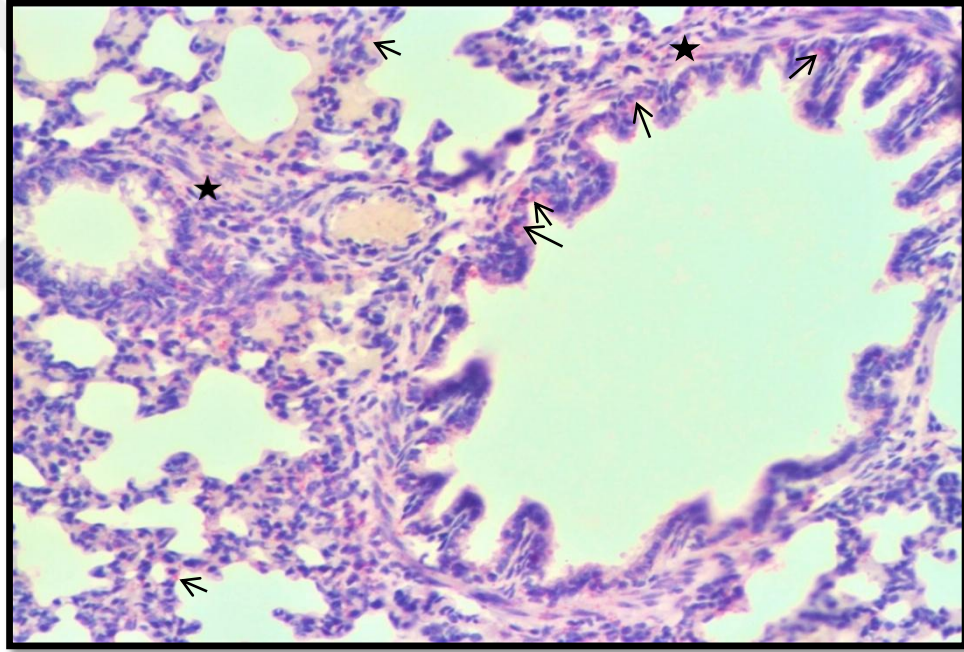
Tablo 25: Postnatal 21 günlük yavru sıçanların akciğer dokularındaki VEGF immünreaktivitesi

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	2,00± 0.24
Tütün dumanı grubu	0,51±0.11 ^a
Tütün dumanı+ ALA grubu	1,45± 0.16 ^b
ALA grubu	1,75± 0.32 ^b

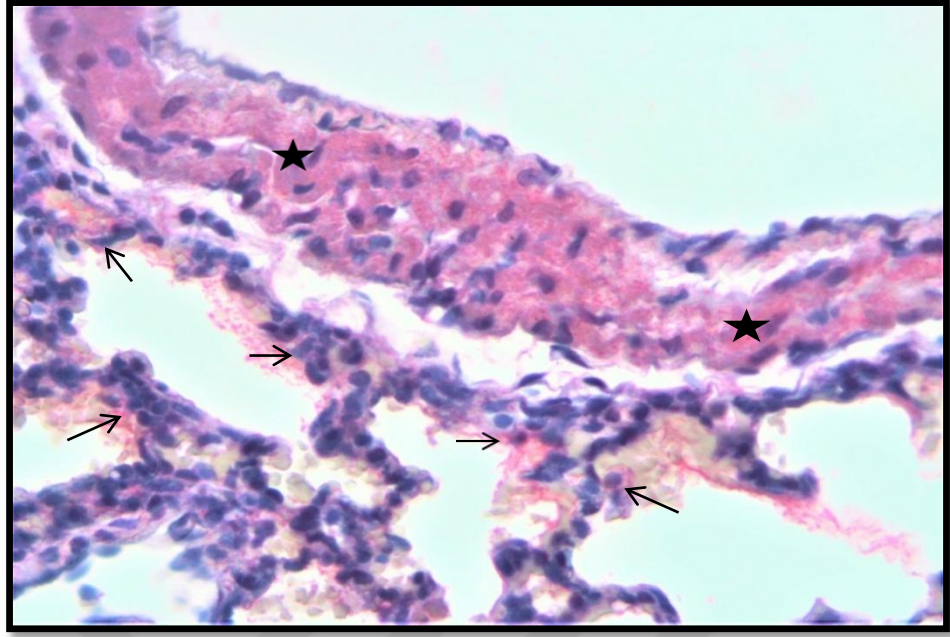
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

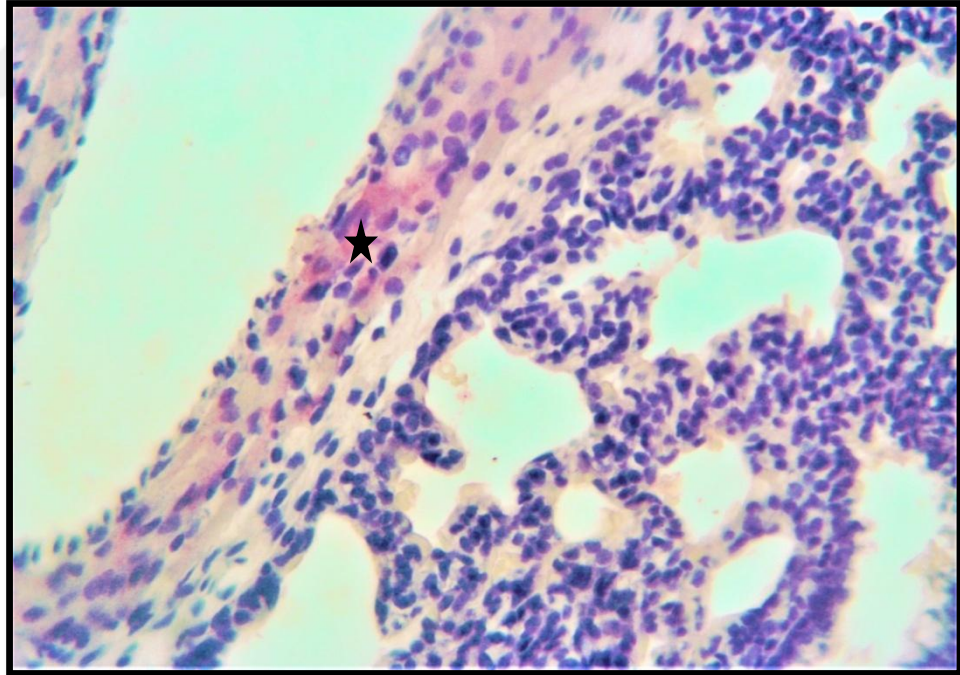
^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).



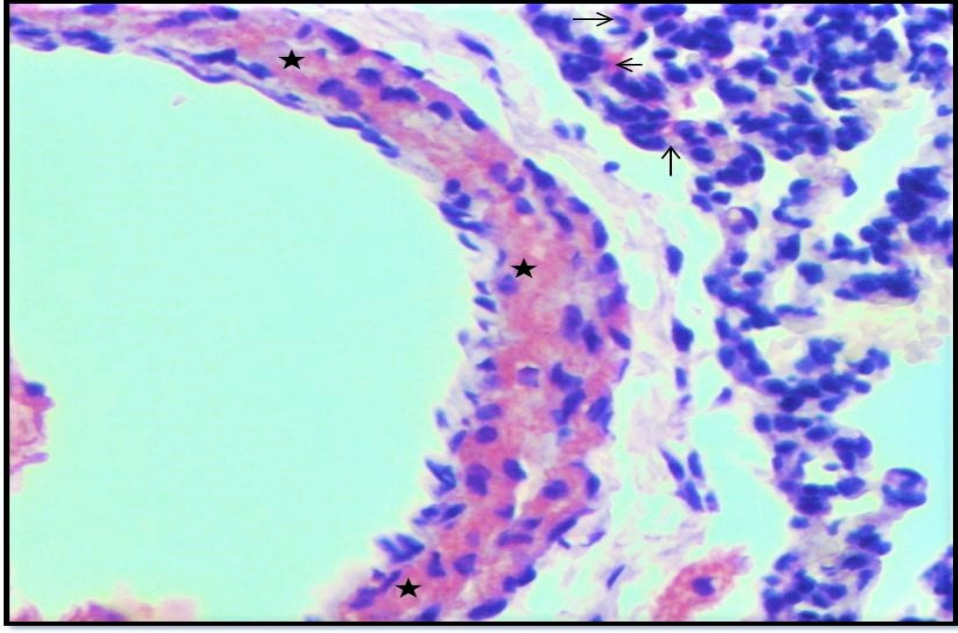
Şekil 79: Kontrol grubu. Bronş ve bronşiyol düz kas hücreleri (★) ve alveol ve bronşiyal epitel hücrelerinde (↗) yaygın VEGF immünreaktivitesi. x20.



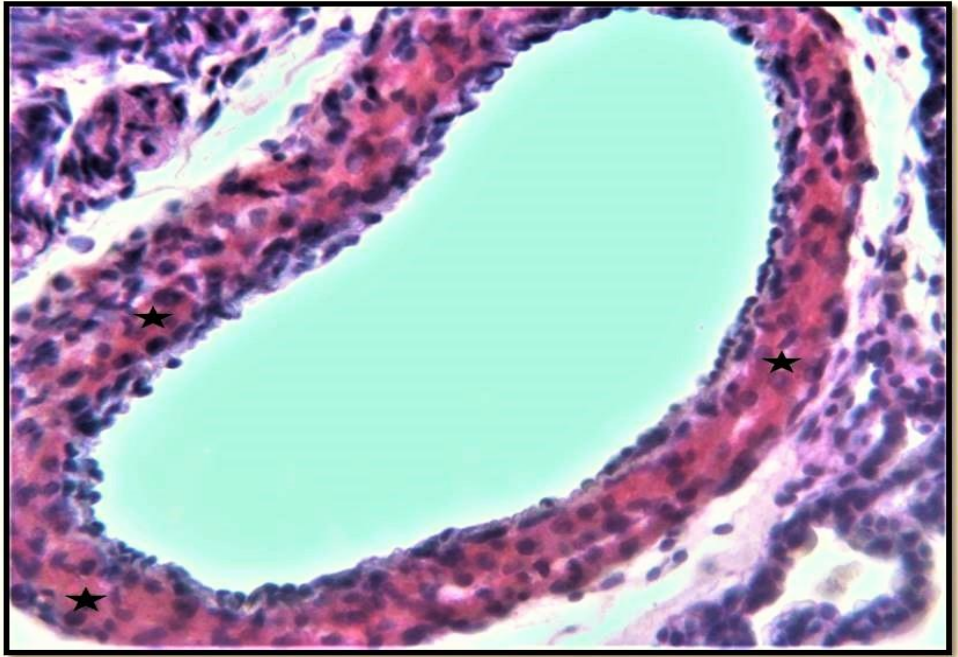
Şekil 80: Kontrol grubu. Damar düz kas hücreleri (★) alveoler epitel hücrelerinde (↗) yaygın VEGF immünreaktivitesi. x40.



Şekil 81: Tütün dumanı grubu. Damar düz kas hücrelerinde (★) azalmış VEGF immünreaktivitesi. x40.



Şekil 82: Tütün dumanı +ALA grubu. Damar düz kas hücrelerinde (★) ve alveol epitel hücrelerinde (←) VEGF immünreaktivitesi. x40.



Şekil 83: ALA grubu. Damar düz kas hücrelerinde (★) yoğun VEGF immünreaktivitesi. x40.

5.9. Biyokimyasal Analizler

5.9.1. Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri

Grupların akciğer dokusu MDA ve GSH düzeyleri ile, CAT ve SOD aktiviteleri Tablo 26'da verilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin tütün dumanı grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı düzeyde azalarak kontrol grubuna yakın düzeylerde olduğu saptandı ($p<0.05$). Bununla birlikte antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan SOD enzim aktivitelerinin ve GSH düzeylerinin tütün dumanı grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). CAT enzim aktivitelerinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda GSH düzeylerinin ve SOD enzim aktivitelerinin tütün dumanı grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile tütün dumanı + ALA grubu arasında CAT, SOD enzim aktiviteleri ve GSH düzeyleri açısından benzer oldukları belirlendi ($p>0.05$).

Tablo 26: Postnatal 7 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri

GRUPLAR	MDA (nmol/gr doku)	CAT (k/gr protein)	GSH (nmol/gr doku)	SOD (U/gr protein)
Kontrol grubu	68,134 ± 4.01	26,740 ± 1.72	35,555± 1.732	164,109± 1.056
Tütün dumanı grubu	96,206± 1.68 ^a	23,632 ± 0.81	14,545 ± 0.89 ^a	126,852± 1.403 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	70,811 ± 2.17 ^b	29,384± 2.38	33,692 ± 5.02 ^b	160,691± 1.442 ^b
ALA grubu	59,645± 4.92 ^{ab}	26,205 ± 1.11	42,442 ± 2.937 ^b	170,2155± 2.462 ^b

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.9.2. Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri

Yapılan değerlendirmelerde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin tütün dumanı grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı düzeyde azalma saptandı ($p<0.05$). Bununla birlikte antioksidan savunma sistemi enzimlerinden olan CAT ve SOD enzim aktivitelerinde ve GSH düzeylerinde tütün dumanı grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma belirlendi ($p<0.05$). Tütün dumanı + ALA grubunda ise CAT ve SOD enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinin tütün dumanı grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile tütün dumanı + ALA grubu arasında CAT aktivitesi ve GSH düzeyi açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). SOD enzim aktivitesinde ise tütün dumanı+ALA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalma olduğu belirlendi ($p<0.05$). ALA grubuna ait MDA ve GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 27).

Tablo 27: Postnatal 21 günlük Yavru Sıçan Gruplarının Biyokimyasal Analizleri

GRUPLAR	MDA (nmol/g doku)	CAT (k/g protein)	GSH (nmol/g doku)	SOD (U/g protein)
Kontrol grubu	80,359 ± 2.149	34,137 ± 6.148	23,734± 1.146	184,444± 3.084
Tütündumanı grubu	95,316± 2.365 ^a	13,481 ± 1.881 ^a	17,839 ± 0.737 ^a	136,852± 1.403 ^a
Tütün dumanı + ALA grubu	83,090 ± 2.613 ^b	38,066± 4.084 ^b	25,901 ± 1.470 ^b	153,901± 4.456 ^{ab}
ALA grubu	60,180± 1.707 ^{ab}	39,839 ± 5.637 ^b	36,144 ± 1.137 ^{a b}	191,025± 0.9

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bTütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

6. TARTIŞMA

Tütün ve tütün ürünleri kullanımının ve maruziyetinin insan sağlığını olumsuz etkileyen önemli hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca insan gelişimi üzerine toksik ve teratojenik etkileri olduğu da bildirilmiştir (126, 127, 130, 150). Tütün ürünleri kullanımı ile yetişkinlerde akciğer, larinks, ağız boşluğu, farinks, özofagus, pankreas, böbrek, mesane, testis ve meme kanserleri arasında ilişki olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (130, 137, 152, 306). Tütün dumanındaki toksik komponentlerin plasentadan geçebilme yetenekleri ile doğmamış bebeğin gelişimini de etkilediği, hatta yetişkinlere kıyasla fetüsün bu kimyasallara karşı daha duyarlı olduğu ortaya koyulmuştur (307). Tütün dumanı maruziyetinin fetal gelişim üzerindeki zararlı etkilerinin düşük doğum ağırlığı ve erken doğum ile ilişkili olduğu, ayrıca spontan düşüklükler ve ani bebek ölümlerinin etiolojisinde de bu maruziyetin rol oynadığı gösterilmiştir (308, 309). Annenin hem aktif sigara içicisi olduğu durumlarda, hem de çevresel tütün dumanına maruz kaldığı durumlarda tütün dumanının fetüs gelişimi üzerine zararlı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (310). Yapılan çalışmalarda gebelik süresince maternal tütün dumanı maruziyetinin yenidoğan sağlığı üzerine negatif etkilere yol açtığı ve yenidoğanın vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (197, 311). Drummond ve ark. çiftleşmeden önce iki hafta ve gebelik süresince günde 2 saat 9 adet sigara dumanına maruz bıraktıkları 24 haftalık dişi fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, yenidoğan farelerin vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre önemli derecede azalma olduğunu tespit etmişlerdir (312). Yine başka bir çalışmada 8 haftalık dişi fareler çiftleşmeden önce 33 gün boyunca ve gebelik süresince de devam edilerek sigara dumanı maruz bırakılan ve postnatal 4.

ve 6.günlerde sakrifiye edilen yenidoğan farelerin vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalma olduğu belirlenmiştir (313). Farelerin gebeliğin 5-15. günleri arası günde 20 dk üç kez sigara dumanına maruz bırakıldığı ve aynı günler arasında oral yolla tokoferol uygulandığı diğer bir çalışmada sigara dumanı grubunda kontrole göre fetüslerin vücut ağırlıklarında anlamlı azalma olduğu, sigara+tokoferol uygulanan grupta ise vücut ağırlığının kontrole yakın olduğu rapor edilmiştir (314). Güneş ve ark. yaptıkları çalışmada ise bir grup sıçana gebelik ve laktasyon süresince subkutan yolla nikotin ve diğer bir gruba da nikotin+ askorbik asit uygulanmış, ancak postnatal 21 günlük sıçan vücut ağırlıklarında gruplar arası anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (315). Bizim çalışmamızda tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 günlük sıçan vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalma olduğu, tütün dumanı+ALA grubuna ait vücut ağırlıklarının ise kontrole yakın olduğu, fakat tütün dumanına maruz kalan postnatal 21 günlük sıçan vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı belirlenmiştir.

Maternal tütün kullanımının veya maruziyetinin, yenidoğan akciğer fonksiyonlarında bozukluğa sebebiyet verdiği, akciğer yapısına ve metabolizmasına birçok negatif etkisi olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (316, 317). Yapılan bir çalışmada dişi sıçanlara çiftleşmeden iki hafta öncesi başlanarak, gebelik ve laktasyon dönemi boyunca devam eden subkutan nikotin uygulaması sonucu, postnatal 1 günlük sıçan akciğer ağırlıklarında kontrole göre önemli bir değişikliğin olmadığı, postnatal 21 günlük sıçan akciğer ağırlıklarında ise kontrole göre azalma olduğu rapor edilmiştir (318). Başka bir çalışmada ise dişi sıçanlara gebeliğin 3-21 günleri arası subkutan

nikotin uygulanmış ve doğduktan 1, 7, 14 gün sonra sakrifiye edilen sıçan yavrularının ortalama vücut ve akciğer ağırlıklarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı rapor edilmiştir (319). Bizim yaptığımız çalışmada tütün dumanına maruz kalan postnatal 7 günlük sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarında kontrole göre artış olduğu, postnatal 21 günlük sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarında ise kontrole göre fark olmadığı saptanmıştır. Tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 günlük sıçanların rölatif akciğer ağırlıklarındaki artışın tütün dumanının akciğer dokusunda yol açtığı ödemden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

RAC (radial alveoler sayım) akciğerlerdeki alveol sayısını ortaya koyarak intrauterin, erken-geç postnatal ve çocukluk evresindeki akciğer gelişimleri hakkında bilgi veren morfometrik bir metottur (300, 320). İntrauterin dönemde sigara maruziyetinin akciğer gelişimini olumsuz etkileyerek alveol sayılarında azalmaya yol açtığı ve alveolizasyonu bozduğu ortaya koyulmuştur (321, 322). Yapılan bir çalışmada gestasyon ve laktasyon süresince sıçanlara subkutan olarak uygulanan nikotinin yenidoğan sıçanlara ait akciğerlerdeki RAC metodu ile ölçülen alveol sayılarını düşürdüğü, askorbik asit uygulamasının ise alveol sayılarında artışa yol açtığı bildirilmiştir (323). Bu çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda da postnatal 7 ve 21 günlük tütün dumanı grubuna ait akciğer dokularında RAC metodu ile ölçülen alveol sayılarının kontrol grubuna göre azaldığı saptandı. Tütün dumanı+ALA grubuna ait alveol sayılarının ise tütün grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi. Ayrıca kontrol ve tütün dumanı+ALA gruplarına ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularındaki alveol sayıları arasında %39'luk, tütün dumanı grubuna ait

postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularındaki alveol sayıları arasında ise %33'lük bir artışın olduğu belirlendi. Bu aradaki %6'lık farkın, tütün dumanı grubuna ait akciğer gelişiminin kontrol grubuna göre daha yavaş olduğunun bir kanıtı olabileceği, bununla birlikte ALA uygulamasının ise alveol sayılarında artışa yol açarak alveolizasyona katkı sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

Akciğerlerdeki ekstrasellüler matriks moleküllerinin temel kaynağının mezenşimal hücreler olduğu düşünülmektedir (324). Küçük havayollarında gelişen fibrozis; fibroblast ve miyofibroblast hücre proliferasyonları ile onların ürettikleri başlıca kollajen lifler olmak üzere ekstrasellüler matriks birleşenlerinin birikmesiyle karakterizedir (325). Sekhon ve ark. maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, prenatal nikotin maruziyeti ile yenidoğan maymun akciğerlerinde respiratuar havayollarının genişlediğini, alveoler yüzey alanının azaldığını, havayolları ve kan damarlarının etrafındaki kollajen fibril artışına bağlı olarak da alveoler duvar kalınlığının arttığını tespit etmişlerdir (206, 326). Bu değişikliklerin pulmoner parankime yeterli derecede oksijenden zengin kanın ulaşmasına engel olabileceği düşünülmüştür (325, 327). Yine benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada, farelere gebeliğin 7-21. günleri arası nikotin uygulanmış ve yenidoğan farelerin akciğer dokusundaki hava iletim yollarının yanı sıra damarların etrafındaki fibroblast kaynaklı kollajen miktarlarında da artış olduğu bildirilmiştir (328). Bunu destekleyen bir diğer çalışmada ise maternal nikotine maruz kalan sıçan yenidoğan akciğer dokularında geniş havayolları ve damarların etrafındaki kollajen lif artışı Masson'un üçlü boyasıyla ortaya koyulmuştur (329). Maritz ve ark. yaptıkları çalışmada ise gebelik ve laktasyon süresince bir gruba subkutan olarak nikotin, diğer bir gruba ise nikotin+askorbik

asit uygulanan dişi sıçanların postnatal 1, 7, 14 ve 21 günlük yavrularından elde edilen akciğer dokularındaki alveoler septal kalınlığın en fazla postnatal 1. ve 7. günlere ait nikotin+askorbik asit grubunda gözleendiği, askorbik asitin fetal akciğerler üzerinde koruyucu etki oluşturmazken, laktasyon süresince maternal askorbik asit tedavisinin yenidoğan akciğerler üzerinde koruyucu etki sağladığı bildirilmiştir (323). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara paralel olarak tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük Masson'un üçlü boyasıyla boyanan akciğer kesitlerinde özellikle perivasküler alandaki bağ doku miktarının arttığı, kalınlaşan interalveoler septal bölgelerde yoğun boyanmalar olduğu, fakat artan interalveoler septal kalınlığın ALA uygulamasıyla azaldığı belirlendi.

Tütün dumanının vücutta serbest radikal oluşturma potansiyeli olduğu ve makrofaj ve nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin artışına yol açtığı rapor edilmiştir (330, 331). Bu inflamatuvar hücrelerin litik enzimler ve oksijen serbest radikallerini üretmesiyle alveoler ve interstisyel pulmoner yapı hasarına neden olabileceği bildirilmiştir (332, 333). Pasif sigara dumanına maruz kalanlarda periferel kan lökosit sayısında ve lökosit ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerden salınan oksidanlarda artış olduğu tespit edilmiştir (334). Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularında tütün dumanına bağlı olarak özellikle interalveoler septalarda inflamatuvar hücre artışının olduğu, tütün dumanı+ALA grubunda ise ALA'nın muhtemel oksidatif stresi azaltıcı etkisiyle inflamatuvar hücre sayılarının azaldığı belirlendi.

Reaktif oksijen türleri (ROS), endotelial bariyer disfonksiyonuna neden olmakta, inflamatuvar hücre artışına yol açarak da makromolekül ve sıvı geçirgenliğini arttırabilmektedir (224). Sigara dumanındaki artan serbest

radikallerin dokuya ve mikrovasküler alanlarda hasara yol açtığı, bu hasarlar sonucu membran geçirgenliğinin arttığı ve sonunda hücrelerde ölüme yol açtığı tespit edilmiştir (207). Yapılan çalışmalarda tütün dumanı solunmasıyla akciğerlerdeki ROS düzeylerinin arttığı belirlenmiştir (179, 335). Akciğer vasküler geçirgenlik artışının öncelikle mikrosirkülasyon düzeyinde olduğu, ardından proteinden zengin pulmoner ödem birikmesinin gerçekleştiği bildirilmiştir (336). Enfeksiyon ya da non-enfeksiyon akciğer hasarlarında, akciğerlerin küçük damarlarında biriken nötrofiller aktive olarak degranülasyon ile proteaz, ROS, proinflamatuvar sitokin gibi birçok toksik mediatör salınımını gerçekleştirmekte ve bu olaylardan sonra vasküler geçirgenlik artışı ile birlikte endotelial bariyer fonksiyon kaybına yol açmaktadır (337).

Nötrofil ve onun ürünlerinin ARDS'deki hücreler arası epitelyal geçirgenliğin artışından da sorumlu olduğu düşünülmektedir (338). ARDS'de aktive nötrofillerin salgıladıkları ROS ve proteaz gibi intasellüler toksik maddelerin alveoler epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların açılmasına, epitel geçirgenliğinin artışına, Tip 1 ve 2 alveoler hücrelerin apoptozisi ve nekrozuna neden oldukları bildirilmiştir (339). Normalde alveoler epitel gelişen ödemi absorbe eder, fakat akut akciğer hasarlarında oksidan, toksik madde veya inflamasyon nedeniyle meydana gelen epiteldeki hasar nedeniyle tam anlamıyla ödemin emilmesi gerçekleşemez (340, 341). Glukokortikoidlerin, surfaktan, proteaz inhibitörleri, antioksidan ve diğer anti-inflamatuvar ajanların ARDS tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Fakat maalesef bu farmakolojik tedavilerden hiçbirinin tümüyle etkili olduğu kanıtlanmamıştır (342). Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda ise gebelik ve laktasyon süresince maternal

antioksidan tedavisinin maternal nikotin ile meydana gelen yenidoğan akciğerlerindeki hasara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (343, 344). Bu bulgular nikotinin akciğer üzerinde yol açtığı hasarın oluşturduğu oksidanlar nedeniyle olduğu görüşünü desteklemektedir.

Bizim çalışmamızda da bu bilgilere paralel olarak, tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularında tütün dumanının oluşturduğu oksidatif hasar sonucu alveoler ve perivasküler ödem alanlarına rastlanıldı. Gözlenen vasküler ve alveoler ödemin, daha önceki çalışmalarda da bildirildiği gibi tütün dumanının yol açtığı inflamasyona bağlı oluşan damar ve alveoler epitel geçirgenliğindeki artış sonucu gerçekleşebileceği düşünüldü. Bu etkileri azaltmak amacıyla antioksidan olarak kullanılan ALA'nın, tütün dumanı+ALA grubuna ait 7 ve 21 günlük sıçan akciğer kesitlerindeki vasküler ve alveoler ödemi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı belirlendi.

Tütün dumanının akciğerlerde histopatolojik değişikliklere yol açtığına dair birçok çalışma vardır (331, 345). Havayolu epitel ve endotel hücrelerinin, tütün dumanı ile indüklenen hasarın direk hedefi oldukları bilinmektedir (346). Tütün dumanındaki nikotin reseptörü olan nikotinic asetilkolin reseptörlerinin (nAChRs) akciğer epitel ve endotel hücrelerinde varlığı tespit edilmiş ve nAChRs yolu üzerinden akciğerlerde histopatolojik değişikliklerin gerçekleşebileceği belirtilmiştir (347). Ziad ve ark. erkek albino sıçanlara 3 ay boyunca günde 1 adet sigara dumanı uygulamış ve sıçan akciğerlerinde konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, respiratuvar epitelde bozulma, kollajen fibril birikimine bağlı olarak alveoler duvarlarda kalınlaşma, ve alveollerde kollaps bulgularına rastlamışlardır (331). Yıldız ve ark. yaptıkları çalışmada gebelik ve laktasyon süresince dişi

sıçanlara intraperitoneal (i.p) olarak uygulanan nikotinin, yenidoğan akciğerlerinde amfizematöz değişikliklere, mast ve makrofaj sayılarında artışa, alveol sayılarında azalmaya ve alveolizasyon kaybına yol açtığı, melatonin uygulamasının ise yenidoğan akciğerlerinde görülen bu histopatolojik bulgularda iyileşmelere neden olduğu ortaya koyulmuştur (348). Bizim çalışmamızda tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer kesitlerinde bronş, bronşiyal ve alveoler epitel hücrelerinde bozulmalar ve lümene dökülmeler izlendi. Bu hasarların ise tütün dumanındaki önemli toksik komponentlerinden olan nikotinin, akciğer epitel ve endotel hücrelerdeki nAChR'lere bağlanarak başlatılabileceği kanaatindeyiz.

Sigara içenlerde, oksidatif stresin meydana gelmesiyle oksidan/antioksidan dengesizliklerinin görüldüğü, plazma antioksidan seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir (349, 350). Antioksidan eksikliğinin, kronik ve dejeneratif patolojik durumların temel sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir (238). Antioksidan gıda takviyeleri, doğal besinlerin ekstraksiyonundan ya da kimyasal sentez yolu ile üretilen yapılardır ve endojen antioksidanların oksidatif stres nötralizasyonuna yardım ettiği bildirilmiştir (215). Thioktik asit olarak da bilinen ALA, hücrelerde biyolojik aktivite gösteren, metal iyonların şelasyonunda, eksojen ve endojen antioksidanların rejenerasyonunda ve oksidize proteinlerin tamirinde görev alan potansiyel antioksidandır (351). Yapılan bir çalışmada ALA'nın akciğerdeki endotoksin tarafından indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu bir etki sağladığı, serbest radikal süpürücü ve potansiyel antioksidan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (352). ALA'nın gebelerde kullanımı üzerine yapılan çalışmalar sınırlı olup, daha çok diyabetle oluşturulan konjenital malformasyonlar ile ilişkilidir (282, 353). Sugimura ve ark. yaptıkları çalışmada streptozinle

indüklenen diyabetli anne fare modellerinde gebeliğin 18.gününe kadar uygulanan ALA'nın fetüslerde görülen konjenital malformasyonları azalttığını rapor etmişlerdir (282). Bir diğer çalışmada hipoksi-iskemi sonrası yenidoğan sıçanlara uygulanan ALA'nın GSH kayıplarını engelleyerek mortalite oranlarını azalttığı rapor edilmiştir (354). Bruin ve ark. yaptıkları çalışmada dişi sıçanlara çiftleşmeden iki hafta önce, gebelik ve laktasyon süresince subkutan olarak uygulanan nikotin ile yapılan deneyde postnatal 21 günlük sıçan pankreas beta hücre kaybı olduğu, tedavi amacıyla koenzim Q10+ALA+vitamin E antioksidan karışımını içeren standart yem ile beslenen gruba ait sıçan pankreaslarında ise beta hücre kaybının azaldığı, bu antioksidan karışımının nikotinin yenidoğan pankreasında yol açtığı oksidatif stres hasarını azalttığı bildirilmiştir (355). Bu bulgulara paralel olarak bizim çalışmamızda da diyetle alınan ALA'nın tütün dumanının yol açtığı oksidatif hasara karşı koruyucu etki sağlayarak akciğerlerde ortaya çıkan histopatolojik değişiklikleri hafifletebileceği ortaya koyulmuştur.

Hiyalin membran hastalığı (HDM) yetersiz surfaktan üretimi nedeniyle prematüre bebeklerde görülen yenidoğan respiratuar distress sendromuyla ilişkili bir hastalıktır. Yetersiz surfaktan, soluk verme sırasındaki alveol yüzey tansiyonunun düşük olmasına sebep olur. Bu da atelektaziye, gaz alışverişinin azalmasına, ciddi hipoksi ve asidoz tablolarının oluşmasına yol açar (356). Asidozis ise periferel vazodilatasyona ve pulmoner vazokonstriksiyona neden olur. Bu durum kısmi fetal dolaşım modelinin yeniden kurulmasına yol açar. Hipoksik durum pulmoner hücrelerde hasara yol açarak, endotelyal, alveoler ve bronşiyol hücrelerde nekrozis meydana getirir. Meydana gelen vasküler hasar sonucu, alveoler boşluğa sızan plazma, tip 2 alveoler hücreler, alveoler kanallar ve

respiratuar bronşiyollerden kaynaklanan nekrotik hücreler ve fibrin bir araya gelerek alveollerin çevresinde hiyalin membran yapılarını oluşturur (357). Alveoller etrafında hiyalin membran oluşumlarının birikmesi oksijenin alveol boşluğundan solunum yüzeyi boyunca pulmoner damarlara geçmesini daha da engeller. Üstelik kanın solunum yollarına ekstrasvazasyonuna, alveollerde kollaps ile birlikte yenidoğan akciğerlerin yumuşaklığının yitirilmesine ve sertleşmesine (konsolidasyon) neden olur. Terminal evresinde, hava sadece bronşlarda ve dilate bronşiyollerde bulunurken, akciğer parankiminin geri kalanı konsolide ve havasızdır (358). Mikroskopik olarak HMD dilate terminal ve respiratuar bronşiyoller ve alveoler kanallar çevresi boyunca hücresiz hiyalin membran yapıları ile karakterizedir (359). Endotelyal disfonksiyon ve endotel bariyer kaybı HDM'nin majör patolojisinde rol oynar ve erken morfolojik özelliği bronşiyol epitelinde nekrozdur. Endotel hücre lezyonu, intertisyel ödem, yaygın intravasküler koagülasyon, inflamatuvar lezyonlar klinik patolojik teşhisin konulabilmesi için önemli patolojik bulgulardandır (360). Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğer kesitlerinde PAS pozitif hiyalin membran oluşumlarına rastlanıldı. Ayrıca tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerimizde HDM histopatolojisinde görülen ödem, inflamatuvar hücre artışı, epitel hücrelerinde dejenerasyon ve dökülme, alveoler ve bronşiyal hemoraji gibi benzer bulgular gözlemlendi. ALA uygulamasıyla ise tütün dumanına bağlı görülen akciğer kesitlerindeki bu histopatolojik bulguların azaldığı gözlemlendi.

Sigara dumanındaki oksidanların artan ROS üretiminde merkezi rol oynadığı, ROS artışıyla birlikte oksidatif stresin meydana geldiği ve vücuttaki

glutasyon, vitamin E ve C, beta karoten, follik asit gibi antioksidan düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (361). Normal gebelikte oksidatif stres parametrelerinin ve antioksidan savunma sistemlerinin arttığı, anti-oksidatif savunma sistemlerinin yeniden organize olarak oksidatif stresi sınırlandırdığı bilinmektedir. İntrauterin tütün dumanı maruziyetinin temel oksidan kaynağı olarak ROS üretimini arttırdığı, antioksidan savunma sistemini bozduğu ve yenidoğan dokularında oksidatif hasara yol açtığı bildirilmiştir (362). ROS, hücrelerde hasara yol açan membran peroksidasyonuna ve MDA oluşumuna neden olur. MDA, dokulardaki lipit peroksidasyonunu belirleyen bir belirteçtir. Sigara dumanındaki ROS ve asetaldehit içeriğinin lipit peroksidasyonunu arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle sigara içenlerde peroksidasyon ürünü olan plazma MDA düzeyleri yüksek beklenmektedir (363).

Glutasyon (GSH) , CAT ve SOD serbest radikallere karşı endojen savunma sistemine katılan en önemli antioksidanlardır (361, 362). SOD ve GSH, serbest radikallere ve inflamasyona karşı koruyucu etki gösteren sitoprotektif proteinlerdir (364). SOD, süperoksit serbest radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesini katalizlerken, GPx lipit peroksidasyonunu sınırlar ve glutasyonun kofaktör olarak kullanımında görev alır (365, 366). Sigara içenlerde artan oksidatif stresin, ROS salınımını indüklediği ve SOD aktivasyonunu bozduğu bildirilmiştir. Ayrıca sigara içenlerin akciğer havayollarında GSH, SOD, CAT ve GPx antioksidan seviyelerinde azalma oluşu bildirilmiştir (367). KOAH'lı hastalar ile yapılan çalışmada artan oksidatif stresin SOD ve GSH gibi antioksidan düzeylerinin azalmasıyla ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (368). Yapılan bir başka çalışmada ise gebelik boyunca günde 3 adet

sigara içen annenin göbek kordonundaki kan örnekleri incelendiğinde, sadece CAT düzeylerinin sigara içen ve içmeyen gruplarda anlamlı fark çıktığı, MDA, GSH ve SOD düzeylerinde ise anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (369). Bir diğer çalışmada ise gebelik ve laktasyon boyunca maternal nikotin uygulanan sıçanların yavrularına ait akciğer dokularında MDA düzeylerinin kontrole göre arttığı, melatonin antioksidan uygulanan grupta ise MDA seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (348). Gunes ve ark. yaptıkları çalışmada gebelik ve laktasyon süresince nikotin uygulanan gruba ait postnatal 21 günlük sıçan serum MDA düzeylerinin askorbik asit ile tedavi edilen grup ile arasında bir fark olmazken, kontrole göre artış gösterdiği, SOD düzeylerinde ise gruplar arası anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (315). Bizim çalışmamızda tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük sıçan akciğerlerinde MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamda derecede arttığı, GSH düzeylerinin ve SOD enzim aktivitelerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı tespit edildi. Tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer MDA düzeylerinin ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı oranda azaldığı, GSH düzeyi ve SOD enzim aktivitesinde ise tütün dumanı grubuna göre anlamlı ölçüde artış olduğu belirlendi. ALA uygulamasıyla gerçekleşen bu artışın, ALA'nın hidroksil, süperoksit ve peroksil radikalleri gibi birçok reaktif oksijen türlerini süpürdüğü ve GSH, tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidanları rejenere ettiği bilgilerini destekler nitelikte olduğunu düşünmekteyiz.

Apoptosis fizyolojik ve patolojik durumlarda görülebilen dokunun yeniden modellenmesi veya hasarlı hücrelerin uzaklaştırılmasında görev alan programlı hücre ölümüdür. Apoptosis, spontan olarak ya da radyasyon, oksidatif stres gibi

spesifik bir uyarıya yanıt olarak meydana gelebilir (370). Değişen apoptozis oranlarının anormal doku gelişimleri ile karakterize çeşitli hastalıklara yol açabileceği bildirilmiştir. Reaktif oksijen türlerinin oldukça reaktif ve genellikle non-spesifik moleküller olduğu ve apoptozisi tetiklediği ortaya koyulmuştur (371). Amerikan Akciğer Derneği'nin verilerine göre tütün dumanının 4800'den fazla kimyasal içerdiği ve bu toksik kimyasalların lipid ve protein modifikasyonlarına ve DNA'da hasar meydana getirerek dokularda apoptozise yol açtığı bildirilmiştir (370, 372). Yapılan çalışmalarda sigara dumanının serbest radikaller üreterek akciğer havayolu epitellerindeki ve mezenşimal ve endotel hücrelerindeki apoptozisi arttırdığı bildirilmiştir (373, 374). Apoptozise gidecek hücrelerin ise oksidatif hasarı arttırarak apoptozise katkı sağladığı tespit edilmiştir (375).

TUNEL metodu ile DNA kırıklarının in situ olarak tanınması sağlanarak apoptotik hücreler belirlenmektedir (376). Maternal sigara dumanı, plasenta ve umbilikal damarlardaki kan akışında bozukluğa yol açarak ve kimyasal toksinlerin plasental yol ile direk fetüse geçmesini sağlayarak zararlı etkilerini gösterir (377). Plasental doku, amniyotik sıvı ve fetal serumdaki kotinin konsantrasyonlarının maternal serum düzeyleriyle benzer olması bunun bir kanıtıdır (194). Maternal tütün dumanı maruziyetinin yenidoğan akciğerlerinde apoptozis artışına yol açtığı ortaya koyulmuştur (201). Ayrıca sigara dumanındaki kimyasalların plasentadan fetüse geçerek, fetal dokularda serbest oksijen radikallerin oluşmasına ve fetal akciğer dokularında apoptozis artışına yol açabileceği tespit edilmiştir (378). Ning ve ark. tarafından yapılan çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanlara 4 hafta boyunca günde iki kere 30 dk boyunca sigara dumanı maruziyetinin akciğer

dokusunda apoptozisi indüklediği rapor edilmiştir (379). Yapılan başka bir çalışmada 6 ay sigara dumanına maruz kalan erkek fare akciğerlerinde TUNEL pozitif hücre sayılarının kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir (380). Yapılan bir diğer çalışmada da gebelik öncesi 12 hafta ile gebeliğin 12 günü boyunca tütün dumanına maruz bırakılan fetüs akciğerlerindeki apoptotik hücrelerin istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiği bildirilmiştir (378). Carnevali ve ark. sigara dumanına maruz kalan insan akciğer fibroblast hücrelerindeki artan apoptozisin oksidatif stres ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (370). Buna paralel olarak yapılan çalışmalarda, akciğer hasarına eşlik eden apoptozisi takiben oksidatif protein hasarlarının vitamin C uygulamasıyla önlendiği ortaya koyulmuştur (381, 382). Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerinde alveoler, bronş ve bronşiyal epitellerinde ve interalveoler septalarda TUNEL pozitif hücrelerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı gözlemlendi. Bu artışın tütün dumanının akciğer dokusunda yol açtığı oksidatif hasara bağlı olabileceği düşünüldü. Ayrıca tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerinde apoptotik hücre sayısında istatistiksel anlamda azalma olduğu, azalan apoptozisin ise ALA'nın antioksidan koruyucu etkisi sayesinde azalttığı oksidatif stres ile bağlantılı olabileceği tahmin edilmektedir.

Kaspaz-3 immünreaktivitesi apoptozisin belirlenmesinde kullanılan diğer bir metottur. Kaspazlar sistein-aspartik asit endopeptidaz ailesine bağlı, stoplazmada lokalize inaktif enzim prekürsörleri veya zimojen olarak sentezlenen proteazlardır (383). Kaspazların aktivasyonu, hücrelerde dönüşümsüz olarak biyokimyasal ve morfolojik değişimlere yol açar. Kaspazlar merkezi apoptoziste

rol aldığı düşünölenler (kaspaz -2, -3, -6, -7,-8, -9, -10, ve -12) ve inflamasyon boyunca sitokin prosesine katılanlar (kaspaz -1, -4, ve -5) olarak iki alt gruba ayrılmıştır (384). Kaspaz-3, kromatin yoğunlaşması, DNA fragmantasyonu ve membran tomurcuklanması gibi apoptotik hücrelerdeki karakteristik morfolojik değişimlerde rol oynar (385). Alveoler epitel hücrelerini de içeren akciğer hücrelerinin programlı hücre ölümleri solunum sisteminin normal gelişiminde temel rol oynar. Anti ve pro-apoptotik yolların düzenli regölasyonu ile ARDS nedeni artan apoptozislerin önlediği bildirilmiştir (386, 387). ARDS'deki epitel hasar mekanizmasında kaspaz bağımlı apoptozisin önemli rol oynadığı düşünölmektedir (388). ARDS'li hastalara ait akciğer dokularında alveoler duvarda, özellikle alveoler epitel hücrelerinde yaygın kaspaz-3 immünpozitiflik tespit edilmiştir (389). Wang ve ark. ROS aktivasyonunun kaspaz-3 aracılıklı apoptotik proseste rol oynayabileceğini bildirilmiştir (390). Yapılan başka bir çalışmada ise 6 ay sigara dumanına maruz bırakılan fare akciğerlerinde alveoler septadaki kaspaz-3 immün pozitif hücrelerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği rapor edilmiştir (380). Altı haftalık erkek sıçanlara i.p olarak akrolein uygulaması sonucu akciğerlerdeki kaspaz-3 pozitif hücrelerin ve alveoler septal hücrelerdeki TUNEL pozitif hücrelerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (391). Chiappara ve ark.'nın yaptıkları çalışmada sigara içen KOAH 'lı hastalarda alveoler ve bronşiyol epitel hücrelerde kaspaz-3 immünreaktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (392). Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerinde alveoler ve bronşiyal epitel hücrelerinde, bazı bağ doku hücrelerinde ve alveoler septal hücrelerde kaspaz-3 immünreaktivitesi

kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Tütün dumanının ROS düzeylerini artırma yoluyla akciğer dokusundaki kaspaz-3 immünreaktivitesini arttırdığı düşünülmektedir. Tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerinde ise kaspaz-3 pozitif hücrelerin azaldığı, bunun da ALA'nın serbest radikalleri süpürücü etkisiyle gerçekleştirdiği kanaatine varılmıştır.

Respiratuar bozukluk, yenidoğan mortalite ve morbiditesinin yaygın nedenlerinden biridir. Yenidoğanlardaki pulmoner işlevin, alveoler mikrovaskülarizasyon ve havayollarının gelişimi arasındaki etkileşime dayandığı bilinmektedir (393). Fetal döneme ait akciğerlerdeki damar gelişiminin önemi, akciğerlerin olgunlaşmasını tamamlaması ve vaskulogenezis-anjiogenezis olaylarının eksiksiz gerçekleşmesi açısından oldukça büyüktür (394). Kemirici ve primat modellerinde yapılan çalışmalarda yenidoğan nikotin maruziyetinin alveolizasyonu bozarak postnatal akciğer gelişimini etkilediği rapor edilmiştir (206, 395). Nikotinin alveolizasyonu nasıl bozduğuna dair net bilgiler ortaya konulmamıştır fakat bazı ipuçları akciğerdeki değişen anjiogenezis ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Havayolları ve alveol gelişiminin bu yapılardaki damarsal gelişim ile koordineli olarak yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (85). Bu senkronize gelişim VEGF gibi bazı büyüme faktörleriyle kontrol edilir. VEGF, akciğer gelişimde anahtar düzenleyici olarak görev alan ve daha önce var olan damarlardan yeni kapillerlerin filizlenmesinin yanı sıra endotel hücre farklılaşması için de gerekli olan bir proteindir (396). VEGF sinyal yolağının embriyonik damarlaşmada, özellikle fetal akciğer gelişiminde kritik rol oynadığı belirlenmiştir (92). Farelerde VEGF ve reseptörlerini içeren (VEGF-R1, VEGFR2) anjiogenik

faktörlerin ekspresyon artışına alveolizasyonun eşlik ettiği rapor edilmiştir (397). Yapılan çalışmalarda yenidoğan sıçanlara uygulanan anti-anjiogenik ilaçların veya VEGF reseptör inhibitörlerinin, akciğerlerdeki damar yoğunluğunun azalmasına bağlı olarak alveol sayısını da azalttığı, bozulan anjiogenezin azalan alveolizasyon ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir (92, 116). Bununla birlikte nikotine bağlı azalan damar yoğunluğunun akciğer hastalıklarına ve enfeksiyonlara yakalanma riskini arttırdığı, akciğerin normal yapısının bozulmasına yol açtığı bildirilmiştir (398, 399). Ayrıca nikotine bağlı bozulan VEGF sinyalinin, gaz değişim kapasitesini azaltarak respiratuar enfeksiyonlara olan direnci azalttığı ve intrauterin nikotine maruz kalan çocukların respiratuar enfeksiyonlara yakalanma oranını arttırdığı ortaya koyulmuştur (400, 401). Canöz ve ark. yaptıkları bir çalışmada sıçanlara gebeliğin 9 ve 21.günleri arası subkutan olarak uygulanan 3 mg/kg nikotinin yenidoğan sıçan akciğerlerindeki VEGF immünreaktivitesini arttırdığı bildirilmiştir. İntrauterin dönemde sigara maruziyeti ile yenidoğan akciğerlerdeki artan VEGF ekspresyonunun hipoksi ile ilişkili olduğu ve hipoksi ilişkili pulmoner hipertansiyona katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (402). Tam tersi olarak, Maria ve ark. yaptıkları çalışmada ise sıçanlara gebelik ve laktasyon süresince subkutan nikotin uygulamasının yenidoğan akciğer damar yoğunluklarında azalmaya yol açarak, nikotinin gaz alışveriş bölgelerini etkilediğini ve alveolizasyonu değiştirdiğini rapor etmişlerdir (318).

Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularında VEGF immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ve bu azalan değerler ile alveol sayılarındaki düşüşün birbirleriyle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak azalan VEGF

immünreaktivitesi ile alveolizasyondaki gecikmenin bağlantılı olabileceği, azalan alveol sayılarının ise bunun bir göstergesi olabileceği kanaatindeyiz.

VEGF, endotel hücre proliferasyonunda, mitogenezde, migrasyonda, farklılaşmada, vasküler geçirgenlikte, endotel hücre öncüllerinin mobilizasyonunda düzenleyici olarak görev alarak akciğer gelişiminde ve hasarlarında temel rol oynar (393). Bütün bu görevleri dolayısıyla VEGF'in yenidoğanlarda görülen akciğer hastalıklarına karşı koruyucu etki sağlayabileceği bildirilmiştir (403). Birçok hayvan modelinde VEGF'in akciğer gelişiminde damarlanmayı düzenlediği, VEGF ve reseptörlerinin normal akciğer gelişimi boyunca artış gösterdiği ortaya koyulmuştur. Yetersiz VEGF düzeylerinin, yenidoğan farelerde kapiler formasyonunu engellediği, retina, kalp, karaciğerde yeni oluşan damarlarda gerilemeye neden olduğu bildirilmiştir (404, 405). Fakat VEGF'in RDS gibi yenidoğanlarda görülen akciğer hastalıklarındaki patolojik rolü hala net olarak ortaya koyulamamıştır. Bu konuda hayvan ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonunda ortaya koyulan bilgiler oldukça tartışmalıdır (406). VEGF'in pulmoner epitel olgunlaşmasında ve tip 2 alveoler hücrelerdeki glikojenin surfaktan proteinlere dönüşümüne aracılık ederek pulmoner surfaktan protein üretiminde temel rol aldığı, fetal fare akciğerlerinde VEGF inhibisyonunun azalan surfaktan protein üretimi ile ilişkili olarak RDS'ye yol açabileceği ortaya koyulmuştur (407). Prematüre fare ve fetüsler ile yapılan çalışmalarda VEGF uygulamasını takiben tip 2 alveoler hücrelerden üretilen SP-B ve C proteinlerin arttığı bildirilmiştir (407, 408). İnsan fetüsleri ile yapılan başka bir çalışmada ise akciğerlerden üretilen VEGF'in tip 2 alveoler hücre farklılaşmasını ve tip 2 hücrelerden üretilen SP-A protein seviyelerini arttırdığı

rapor edilmiştir (408). Bu bilgilere paralel olarak fare ve sıçan çalışmalarında prenatal dönemde akciğerlerde azalan VEGF seviyelerinin RDS ile ilişkili olabileceği ve VEGF'in akciğer olgunlaşmasını arttıran terapötik bir ajan olarak bebeklerde RDS gelişmesini önleyebileceği bildirilmiştir (407, 409). Compornello ve ark. yaptıkları çalışmada fetal farelerde hıf-2α eksikliğine bağlı görülen VEGF eksikliğinin tip 2 alveoler hücrelerdeki bozulan surfaktan üretimi ve yenidoğanlarda görülen RDS tablosu ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca hıf-2α gen eksikliği olan fetal transgenik farelere intrauterin VEGF₁₆₅ uygulamasıyla surfaktan üretiminin arttığı ve yenidoğanlarda RDS gelişiminin önlendiği bildirilmiştir (407). Tsao ve ark. yaptıkları çalışmada da RDS'li prematüre bebeklerin göbek kordonu kanındaki VEGF düzeylerinin kontrole göre düşük olduğu bildirilmiştir (410). Bütün bu bulgular, VEGF'in pulmoner yapının olgunlaşmasında önemli bir aracı olduğunun ve RDS gelişiminde önleyici bir faktör olabileceğinin göstergesidir.

Bizim çalışmamızda da tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerindeki azalan VEGF immünreaktivitesinin gelişen RDS'ye benzer bulgular ile ALA uygulanmasıyla artan VEGF düzeylerinin ise iyileşen RDS bulguları ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ALA uygulamasıyla artan VEGF düzeylerinin, surfaktan mekanizmasını da etkileyerek tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerindeki artan SP-A immünreaktivitesine dolaylı bir etki sağlayabileceği kanaatindeyiz.

VEGF'in havayolları epitel rejenerasyonunu teşvik ederek ya da epitel ve endotel hücrelerin ölümlerini engelleyerek fetal havayolu epitel hücrelerin gelişimini, dolayısıyla alveolizasyonu düzenlediği bildirilmiştir (411, 412).

Kemiricilerle yapılan çalışmalarda kronik sigara dumanı maruziyetinin VEGF inhibisyonuna yol açarak oksidatif strese ve apoptozise neden olduğu tespit edilmiştir (375, 413). Yetersiz pulmoner VEGF seviyelerinin, sigara dumanındaki aldehit ve oksidanların yol açtığı hasarlara karşı pulmoner endotel veya epitel hücrelerinin tamir yeteneklerini engellediği bildirilmiştir (414). Kasahara ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlardaki VEGF reseptör inaktivasyonlarının alveoler septal apoptozisi arttırdığı tespit edilmiştir (413). Bir diğer çalışmada fare akciğerindeki VEGF hedeflerinin inaktivasyonu sonucu alveoler septal duvar yapısında bozulma, elastik yapının kaybı, alveoler septal ve bronşiyal epitel apoptozisinde artış olduğu gözlenmiştir (414). VEGF'in dokulardaki hasar veya oksidatif stres durumlarında koruyucu etki sağlayabileceği bildirilmiştir (103). Yapılan bir çalışmada sigaraya bağlı görülen KOAH patogenezinde, oksidan/antioksidan dengesizliklerinin ve alveoler duvardaki bozulan VEGF hemostazının rol oynadığı, akciğer dokusundaki VEGF seviyesinin azalmasıyla oksidatif stresin arttığı bildirilmiştir (415). Nitrikoksit ve superoksit anyon gibi reaktif oksijen türlerinin dokudaki peroksinitrit seviyelerini arttırdığı, artan peroksinitritlerin ise oksidatif hasara yol açarak epitel hücrelerinden üretilen VEGF 'i azalttığı, azalan VEGF düzeylerinin ise endotel hücrelerdeki apoptozisi arttırdığı ortaya koyulmuştur (416). Tütün dumanının da reaktif oksijen türlerinden olan peroksinitrit üretimini arttırdığı bilinmektedir (417). Bu bilgiler ışığında bizim çalışmamızda da tütün dumanının akciğer dokusunda yol açtığı ROS üretimindeki artışa bağlı olarak VEGF immünreaktivitenin azalabileceği ve bu azalan VEGF immüreaktivesinin tütün dumanının oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruma mekanizması üzerine olumsuz etki yaratabileceği kanaatindeyiz.

Ayrıca tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerindeki azalan VEGF immünreaktivitesinin artan apoptozisi de destekleyebileceği düşünülmektedir. Böylece azalan VEGF seviyelerinin alveoler hücrelerdeki apoptozisi destekleyerek, özellikle endotel ve epitel hücrelerindeki, alveoler kapiller bariyer geçirgenliğinin değişmesine neden olduğu düşünülebilmektedir.

Endojen ve eksojen antioksidanların prematüre bebeklerin akciğer gelişimleri açısından koruyucu etki sağladığı bildirilmiştir (418, 419). Yenidoğan sıçan akciğerlerinde ROS ve inflamasyona bağlı görülen alveoler ve endotel disfonksiyonun eksojen antioksidan uygulamalarıyla önlendiği, akciğer dokusundaki hasara bağlı azalan VEGF düzeylerinin ise artırıldığı ortaya koyulmuştur (420). Bizim çalışmamızda da tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularında VEGF immünreaktivitesinin ALA uygulamasına bağlı olarak arttığı tespit edildi.

SP-A, 34-36 kDA ağırlığında, surfaktan fosfolipit sentezini, sekresyonunu ve döngüsünü kontrol eden, pulmoner doğal savunma sisteminde ve surfaktan konsantrasyonunun düzenlenmesinde oldukça önemli olan yüzey gerilim azaltıcı bir apoproteindir (421, 422). Bir araya gelerek kümelenen hidrofobik SP-A'ların, bakteriyel ve viral patojenlere karbonhidrat bağlayıcı bölgeleriyle bağlanarak alveoler makrofajları aktive edip, fagozitoz yeteneklerini arttırdığı ve böylece doğal immün savunmadaki işlevini gerçekleştirdiği bildirilmiştir (423). Akciğeri enfeksiyon, stres, inflamasyon ve oksidasyona karşı koruyucu rolü olduğu da tespit edilmiştir (27). Ayrıca surfaktan yetersizliği ya da kompozisyonundaki farklılıkların prenatal ve neonatal dönemde yetersiz akciğer gelişimi ile ilgili olduğu da belirtilmiştir (182). Bu nedenle surfaktanın akciğer gelişimindeki rolü

ve terapötik özellikleri ile ilgili olarak birçok araştırma yapılmakta ve her geçen gün yeni bilgiler elde edilmektedir. SP-A protein eksikliğinin yenidoğan respiratuar distress sendromuyla ilişkili bulunması ve surfaktan proteinleriyle yapılan tedavinin RDS şiddetini düşürmesi, surfaktan proteinlerinin öneminin anlaşılmasında oldukça etkili olmuştur (424). Amniyon sıvısındaki azalan SP-A düzeyleri ile yenidoğanlarda RDS görülme sıklığı arasında ilişki bulunmuştur (425). Bu bilgilere paralel olarak RDS'li bebeklerden toplanan trakeal aspirat örneklerinde azalan SP-A düzeyleri saptanmıştır (39). Oksidatif stresin yol açtığı oksidan/antioksidan dengesizlikler sonucu meydana gelen lipid peroksidasyonunun surfaktan homeostaz metabolizmasında bozulmaya neden olduğu düşünülmektedir. Pulmoner surfaktanda meydana gelen hasarların ise RDS, astım ve KOAH gibi birçok pulmoner hastalıklar ile ilişkili olduğu ve hastalıkların teşhisinde belirteç olarak SP-A düzeylerinin kullanılabildiği bildirilmiştir (426, 427).

Surfaktan sentezinin/sekresyonunun ve fiziksel karakterinin serbest oksijen radikallerine bağlı olarak değiştiği rapor edilmiştir (428). Bu bilgiye paralel olarak da sigara dumanına bağlı artış gösteren serbest radikallerin doğrudan surfaktan ile ilişki kurarak surfaktanın yüzey gerilimi azaltan etkisini önleyebileceği bildirilmiştir (429). Yapılan çalışmalarda, sigara maruziyetinin tip 2 alveoler hücrelerden üretilen surfaktan sentezini değiştirdiği, surfaktanın immün savunma mekanizmasını bozarak mikrobiyal enfeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (430, 431). Gebelikte sigara dumanı maruziyetinin bebekte akciğer gelişiminde gerilemeye ve solunum sistemi rahatsızlıklarına yol açtığı bildirilmiştir (432). Fakat intrauterin tütün duman maruziyetinin pulmoner

surfaktana olan nihai etkisi açık değildir. Yapılan bazı çalışmalarda gebelik ve postnatal dönem boyunca sigara dumanına maruz kalan sıçanlarda BAL SP-A düzeylerinin azaldığı ortaya koyulmuştur (433). Bir diğer çalışmada ise sigara dumanı maruziyeti ile artan oksidatif stresin SP-A için kritik transkripsiyon düzenleyicisi olan tiroid transkripsiyon faktör-1 üretimini azalttığı ve bu yolla SP-A üretiminin azalmasına yol açabileceği bildirilmiştir (434, 435). Bu bilgilere zıt olarak yapılan bir in vitro çalışmada ise nikotinin kültür ortamındaki embriyon akciğer hücrelerinde SP-A ekspresyonunu arttırdığı ortaya konulmuştur (436). Yapılan bir çalışmada, glikozun akciğerlerdeki enerji üretiminde ve alveoler tip II hücreler tarafından pulmoner surfaktan biyosentezinde kullanılan önemli bir madde olduğu bildirilmiştir (437). Maritz ve ark. tarafından maternal nikotinin yenidoğan akciğerlerdeki glikolitik yolağı ve glikojenolizisi geri dönüşümsüz olarak baskılandığı tespit edilmiştir (438, 439). Ayrıca nikotin maruziyetinin yenidoğan akciğerlerinde tip1/tip2 alveoler hücre oranını azalttığı, lameller cisimcik sayısını ise arttırdığı ortaya koyulmuştur. Lameller cisimcik sayılarındaki artış, nikotine bağlı karbonhidrat metabolizmasındaki bozulmaya bağlı olarak azalan surfaktan sekresyonu ile tip 2 hücrelerdeki artış ise akciğer dokusundaki hasara karşı progenitör hücre olarak görev yapmaları ile ilişkilendirilmiştir (329, 438). Sıçanlar ile yapılan daha önceki çalışmalarda da sigara dumanının akciğer mitokondrilerinin işlevini bozarak lameller cisimciklerden üretilen enerji bağımlı surfaktan ve lipit sekresyonlarını azalttığı rapor edilmiştir (440, 441). Fakat bu hipoteze göre lameller cisimciklerden ölçülen lizozim protein seviyelerinin değişmediği yani sigara dumanının lameller cisimciklerdeki genel sekresyon faaliyetinin etkilemediği düşünülmüştür (441). Yapılan deneysel bir çalışmada

gebelik öncesi 12 hafta ve gebelik süresince tütün dumanına maruz bırakılan sıçanların, postnatal 1 günlük yavrularına ait BAL SP-A düzeylerinde azalma, postnatal 21 günlüklerde ise artma olduğu tespit edilmiştir (433). Diğer bazı çalışmalarda ise sigara ile indüklenen akut veya kronik akciğer hasarlarının SP-A ekspresyonlarını azalttığı rapor edilmiştir (434, 442). Ayrıca sigara ile indüklenen hasarda surfaktan tedavisiyle iyileşme gözlemlendiği, vasküler geçirgenlikte, proinflamatuvar sitokin salınımında ve ödemde azalma olduğu bildirilmiştir (443). Lannan ve ark. çalışmasında tütün dumanına maruz kalan sıçanlardan elde edilen tip 2 hücrelerin lizise uğradıkları tespit edilmiştir (444). Ayrıca oksidatif hasarın spesifik olarak bronşiyal ve alveoler epitel hücrelerde DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı, bu olayın oksidatif strese karşı akciğerleri korumaya katkı sağlayan SP-A proteinlerini de etkilediği bildirilmiştir (445). Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda sigara maruziyetinin BAL SPA düzeylerini azalttığı, fakat dokudaki SP-A protein seviyelerini değiştirmedeği bildirilmiştir (446). Kuzmenko ve ark. yaptıkları çalışmada ise peroksinitrit gibi serbest oksijen radikallerinin SP-A işlevinde bozukluğa neden olduğu, oluşan lipid peroksidasyonu ile SP-A'nın yapısını değiştirerek inaktif hale getirerek surfaktan disfonksiyonuna yol açtığı bildirilmiştir (447).

Bütün bu bilgilere paralel olarak, bizim çalışmamızda tütün dumanı grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer dokularında SP-A immünreaktivitenin azaldığı ve bu azalmanın tütün dumanına bağlı artan serbest radikaller nedeniyle gerçekleştiği düşünülebilmektedir. Serbest radikallerin glikoliz olayını baskılayarak surfaktan protein ve fosfolipitlerin sentezlenmesi için gerekli enerji eksikliğine yol açabileceğini ve surfaktan sentez mekanizmasında

hasara neden olabileceğini, ALA'nın ise hücrelere glikoz alınımını sağlayarak ve glikoz oksidasyonunu arttırarak surfaktan sentezi için gerekli enerji üretimine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca tütün dumanı ile azalan surfaktan sekresyonunun tütün dumanı grubunda RDS'ye benzer tablonun oluşmasıyla ilişkili olabileceği kanaatindeyiz.

Doğal surfaktan yapısının CAT, SOD, GSH gibi antioksidan aktiviteleri arttırarak antioksidan koruma mekanizmasına katkı sağladığı bildirilmiştir (448). Bizim çalışmamızda da tütün dumanına bağlı olarak bozulan surfaktan mekanizması ile azalan SP-A immünreaktivitesinin dokudaki azalan CAT, SOD, GSH aktiviteleriyle dolaylı olarak bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ALA antioksidan uygulamasıyla tütün dumanı+ALA grubuna ait postnatal 7 ve 21 günlük akciğer kesitlerindeki SP-A düzeylerinin arttığı ve bu artışın da dokudaki artan CAT, SOD, GSH değerleri ile uyumlu olduğu tespit edildi. ALA'nın mitokondrilerdeki α -ketoglutarat dehidrogenaz ve pirüvat dehidrogenaz enzimlerinde kofaktör olarak görev alarak hücrelerdeki enerji üretimini arttırabileceği ve bu yolla tütün dumanı kaynaklı serbest radikallerin mitokondrilerdeki bozulan enerji üretimine ve enerji bağımlı surfaktan sekresyonuna katkı sağlayabileceği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak çalışmamızın bulguları birlikte değerlendirildiğinde, gebelik süresince tütün dumanı maruziyetinin yenidoğan sıçan akciğer dokularında oksidatif hasar oluşturarak akciğer gelişimi üzerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açtığı, güçlü antioksidan özelliği bilinen alfa lipoik asitin maternal kullanımının ise tütün dumanı kaynaklı bu oksidatif hasara karşı

yenidoğan akciğerlerin gelişimi üzerine koruyucu etki sağlayabileceğini düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 5. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitapevi 2014: 299-310.
2. Gökmen F. Sistemantik Anatomi. İstanbul: İzmir Güven Kitapevi 2003: 434-453.
3. Putz R, Pabst R. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. 5. Baskı, İstanbul: Beta basım yayım dağıtım, 2001: 96-97.
4. Köylü H. Tıbbi Fizyoloji-Klinik Anlatımlı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2014:235-255.
5. Papadopoulos GC, Pavlou HM. Karşılaştırmalı Histoloji Atlası. Mutus R, Bozkurt H, Aktas A (Çevirenler). Nobel Tıp Kitapevleri, 2012.
6. Ross MH, Pawlina W. Histology a Text and Atlas. Sixth Edition, Philadelphia: 2011:664-687.
7. Kierzenbaum al, Tres LL. Histology and Cell Biology, an İntroduction to Pathology. Fourth Edition, New York: Saunders, 2015:409-436.
8. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Yegen B (Çeviren). 12. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2013: 973-984.
9. Ackermann U. PDQ. Çeviri: İnci A. Fizyoloji. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006: 127-157.
10. Moore KL. Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Dalcık H (Çevirenler). 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2009: 198-209
11. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Basaklar C (Çeviren). 11. baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2010:201-205.
12. Ronald W.Dudek. BRS Embriyoloji. İrez T, Erken M (Çevirenler). 6.baskı,İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık,2016:134-140.
13. Groenman F, Ungre S, Post M. The molecular basis for abnormal human lung development. Biol Neonate 2005; 87:164-177.
14. Coalson JJ. Pathology of bronchopulmonary dysplasia. Semin Perinatol 2006; 30:179 184
15. Victor P.Eroschenko. diFiore'nin Histoloji Atlası. Demir R (Çeviren).Ankara:Palme Yayıncılık, 2013:389-413.
16. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoglu S (Çevirenler). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2006:340-360.
17. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter temel histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çevirenler). İstanbul: Güneş tıp kitapevi, 2009:334-352.
18. Fanaroff AA, Martin RJ. The respiratory distress syndrome. In: Fanaroff AA, Martin RJ, (eds). Diseases of the fetus and infant. 9th edition. St Louis: Missouri, Mosby year book, 2011: 1075-92.
19. Grunder R, Gehr P, Bachofen H, Schurch S, Siegenthaler H. Structures of surfactant films: a scanning force microscopy study. Eur. Respir. J. 1999; 14:1290-1296.
20. Walters DV. Lung lining liquid - the hidden depths. The 5th Nils W. Svenningsen memorial lecture. Biol Neonate 2002; 81(1):2-5.

21. Dağoğlu Türkan, Ovalı Fahri. Neonatoloji 2.Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
22. Mason CD, Rand TG, Oulton M, MacDonald JM, Scott JE. Effects of *Stachybotrys chartarum* (atra) conidia and isolated toxin on lung surfactant production and homeostasis. *Nat Toxins* 1998; 6:27-33
23. Hohlfeld J, Fabel H, HammH. The role of pulmonary surfactant in obstructive airways disease. *Eur Respir J* 1997;10(2):482- 91.
24. Zhao C, Fang X, Wang D, Tang F, Wang X. Involvement of type II pneumocytes in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine* 2010; 104: 1391-1395.
25. Jobe AH. Lung development and maturation. In: Neonatal –Perinatal Medicine. 7th Ed. Fanaroff AA, Martin RJ (Eds). Mosby, St.Louis,2002;973-991.
26. Kotecha S. Lung growth: implications for the newborn infant. *Arch dis Child fetal neonatal Ed* 2000;82:69-74.
27. Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol* 2005;5:58.
28. Pérez-Gil J, and Keough KM. Interfacial properties of surfactant proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1408: 203–217.
29. Wang Y, Voelker DR, Lugogo NL, et al. Surfactant protein A is defective in abrogating inflammation in asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011;301:598
30. Weaver TE, Whitsett JA. Function and regulation of expression of pulmonary surfactant-associated proteins. *J. Biochem*. 1991;273: 249–264.
31. Wong CJ, Akiyama J, Allen L, Hawgood S. Localization and developmental expression of surfactant proteins D and A in the respiratory tract of the mouse. *Pediatr Res* 1996;39:930-937.
32. Zhang L, Ikegami M, Crouch EC, Korfhagen TR, Whitsett JA. Activity of pulmonary surfactant protein- D (SP-D) in vivo is dependent on oligomeric structure. *J Biol Chem* 2001; 276:19214-19219
33. Hartshorn KL, White MR, Shepherd V, et al. Mechanisms of antiinfluenza activity of surfactant proteins A and D: comparison with serum collectins. *Am J Physiol* 1997; 273:1156-1166.
34. Weaver TE. Synthesis, processing and secretion of surfactant proteins B and C. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408:173-179.
35. Johansson J. Structure and properties of surfactant protein C. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408:161-172.
36. McCormack FX. Structure, processing and properties of surfactant protein A. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408:109-131.
37. Creuwels LA, van Golde LM Haagsman HP. The pulmonary surfactant system: biochemical and clinical aspects. *Lung* 1997; 175: 1–39.

38. Poulain FR, Allen L, Williams MC, Hamilton RL, Hawgood S. Effects of surfactant apolipoproteins on liposome structure: implications for tubular myelin formation. *Am. J. Physiol.* 1992; 262:730–739.
39. deMello DE, Phelps DS, Patel G, Floros J, Lagunoff D. Expression of the 35 kDa and low molecular weight surfactant-associated proteins in the lungs of infants dying with respiratory distress syndrome. *Am. J. Pathol.* 1989; 134:1285–1293.
40. Wright JR, Youmans DC. Degradation of surfactant lipids and surfactant protein A by alveolar macrophages in vitro. *Am. J. Physiol.* 1995; 268: 772–780.
41. Rice WR, Ross GF, Singleton FM, Dingle S, Whitsett JA. Surfactant-associated protein inhibits phospholipid secretion from type II cells. *J. Appl. Physiol.* 1987; 63:692–698.
42. Voss T, Melchers K, Scheirle G, Schafer KP. Structural comparison of recombinant pulmonary surfactant protein SP-A derived from two human coding sequences: implications for the chain composition of natural human SP-A. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1991;4:88–94.
43. Goss KL, Kumar AR, Snyder JM. SP-A2 gene expression in human fetal lung airways. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998;19: 613–621.
44. Khubchandani KR, Goss KL, Engelhardt JF, Snyder JM. In situ hybridization of SP-A mRNA in adult human conducting airways. *Pediatr Pathol Mol Med.* 2001;20(5):349-66.
45. Saitoh H, Okayama H, Shimura S, et al. Surfactant protein A2 gene expression by human airway submucosal gland cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998; 19: 202–209.
46. Wispe JR, Clark JC, Warner BB, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibits expression of pulmonary surfactant protein. *J. Clin. Invest.* 1990; 86:1954–1960.
47. Ballard L, Liley HG, Gonzales LW, et al. Interferon-gamma and synthesis of surfactant components by cultured human fetal lung. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1990; 2: 137–143.
48. Acarregui MJ, Snyder JM, Mitchell MD, Mendelson CR. Prostaglandins regulate surfactant protein A (SP-A) gene expression in human fetal lung in vitro. *Endocrinology* 1990;127:1105–1113.
49. Acarregui MJ, Snyder JM, Mendelson CR. Oxygen modulates the differentiation of human fetal lung in vitro and its responsiveness to cAMP. *Am. J. Physiol.* 1993; 264:465–474.
50. Snyder JM, and Mendelson CR. Insulin inhibits the accumulation of the major lung surfactant apoprotein in human fetal lung explants maintained in vitro. *Endocrinology* 1987;120:1250–1257.
51. Kumar AR, Snyder JM. Differential regulation of SP-A1 and SP-A2 genes by cAMP, glucocorticoids, and insulin. *Am. J. Physiol.* 1998;274: 177–185.
52. Ballard PL, Hawgood S, Liley H, et al. Regulation of pulmonary surfactant apoprotein SP 28–36 gene in fetal human lung. *Proc. Natl. Acad.* 1986; 83:9527–9531.
53. King RJ, Ruch J, Gikas EG, Platzker AC, Creasy RK. Appearance of apoproteins of pulmonary surfactant in human amniotic fluid. *J. Appl. Physiol.* 1975;39:735–741.

54. Wright JR, Youmans DC. Pulmonary surfactant protein a stimulates chemotaxis of alveolar macrophage. *Am J Physiol* 1993;264:338-44.
55. Saitoh H, Shimura S, Fushimi T, Okayama H. Detection of surfactant protein a gene transcript in the cells from pleural effusion for the diagnosis of lung adenocarcinoma. *Am J Med*: 1997;103:400-4.
56. Khoor A, Gray ME, Hull WM, Whitsett JA, Stahlman MT. Developmental expression of SP-A and SP-A mRNA in the proximal and distal respiratory epithelium in the human fetus and newborn. *J. Histochem. Cytochem.* 1993;41:1131-1139.
57. Endo H, Oka T. An immunohistochemical study of bronchial cells producing surfactant protein A in the developing human fetal lung. *Early Hum. Dev.* 1991; 25:149-156.
58. Rapport PN, Lim DJ, Weiss HS. Surfaceactive agent in Eustachian tube function. *Arch. Otolaryngol.* 1975; 101: 305-311.
59. Khubchandani KR, Snyder JM. Surfactant protein A (SP-A): the alveolus and beyond. *FASEB J.* 2001;15:59-69.
60. Hills BA. A mucosal barrier of gastric surfactant identified in the human stomach. *Aust. N.Z. J. Med.* 1992; 22:441-444.
61. Rubio S, Lacaze-Masmonteil T, Chailley-Heu B, et al. Pulmonary surfactant protein A (SP-A) is expressed by epithelial cells of small and large intestine. *J. Biol. Chem.* 1995;270:12062-1.
62. Lu J. Collectins: collectors of microorganisms for the innate immune system. *Bioessays* 1997;19: 509-518.
63. Dobbie JW. Surfactant protein A and lamellar bodies: a homologous secretory function of peritoneum, synovium, and lung. *Perit. Dial. Int.* 1996;16:574-581.
64. Barreira ER, Precioso AR, Bousso A. Pulmonary surfactant in respiratory syncytial virus bronchiolitis: the role in pathogenesis and clinical implications. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46(5):415-420.
65. LeVine AM, Bruno MD, Huelsman KM, et al. Surfactant protein A-deficient mice are susceptible to group B streptococcal infection. *J. Immunol.* 1997;158:4336-4340.
66. LeVine AM, Kurak KE, Bruno MD, et al. Surfactant protein-A deficient mice are susceptible to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998; 19:700-708.
67. Le Vine AM, Gwozdz J, Stark J, et al. Surfactant protein-A enhances respiratory syncytial virus clearance in vivo. *J. Clin. Invest.* 1999;103:1015-1021.
68. Hickman-Davis J, Gibbs-Erwin J, Lindsey JR, Matalon S. Surfactant protein A mediates mycoplasma-cidal activity of alveolar macrophages by production of peroxynitrite. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999; 96: 4953-4958.
69. Katyal SL, Amenta JS, Singh G, Silverman JA. Deficient lung surfactant apoproteins in amniotic fluid with mature phospholipid profile from diabetic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1984; 148: 48-53

70. Snyder JM, Kwun JE, O'Brien JA, Rosenfeld CR, Odom MJ. The concentrations of the 35-kDa surfactant apoprotein in amniotic fluid from normal and diabetic pregnancies. *Pediatric Res.* 1988;24:728–734.
71. Kuroki Y, Takahashi H, Chiba H, Akino T. Surfactant proteins A and D: disease markers. *Biochim. Biophys. Acta* 1998;1408:334–345.
72. Liao DF, Barrett CR, Bell AL, Ryan SF. Functional abnormalities of lung surfactant in experimental acute alveolar injury in the dog. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 136, 395–401.
73. Hull J, South M, Phelan P, Grimwood K. Surfactant composition in infants and young children with cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997;156:161–165.
74. Baughman RP, Sternberg RI, Hull W, Buchsbaum JA, Whitsett JA. Decreased surfactant protein A in patients with bacterial pneumonia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 146: 653–657.
75. LeVine AM, Lotze A, Stanley S, et al. Surfactant content in children with inflammatory lung disease. *Crit. Care Med.* 1996; 24, 1062–1067.
76. McCormack FX, King TE, Voelker JR et al. Idiopathic pulmonary fibrosis. Abnormalities in the bronchoalveolar lavage content of surfactant protein A. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991; 144:160–166.
77. Hamm H, Luhrs J, Rotaeche G, et al. Elevated surfactant protein A in bronchoalveolar lavage fluids from sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis patients. *Chest* 1994; 106:1766–1770.
78. Kremlev SG, Umstead TM, Phelps DS. Effects of surfactant protein A and surfactant lipids on lymphocyte proliferation in vitro. *Am. J. Physiol.* 1994;267:357–364.
79. Moss RB. Cystic fibrosis: pathogenesis, pulmonary infection, and treatment. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 21:839–849.
80. McIntosh JC, Swyers AH, Fisher JH, Wright JR. Surfactant proteins A and D increase in response to intratracheal lipopolysaccharide. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol* 1996; 15: 509–519.
81. Hartshorn KL, Crouch E, White MR, et al. Pulmonary surfactant proteins A and D enhance neutrophil uptake of bacteria. *Am. J. Physiol.* 1998; 274:958–969.
82. Benne CA, Kraaijeveld CA, van Strijp JA, et al. Interactions of surfactant protein A with influenza A viruses: binding and neutralization. *J. Infect. Dis.* 1995;171, 335–341.
83. deMello DE, Sawyer D, Galvin N, Reid LM. Early fetal development of lung vasculature. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1997;16:568–581.
84. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386: 671–674.
85. Burri PH. Structural aspects of prenatal and postnatal development and growth of the lung. In: *Lung Growth and Development*, edited by McDonald JA. New York: Dekker, 1997: 1–35.
86. Weiss MJ, Burri PH. Formation of interalveolar pores in the rat lung. *Anat Rec* 1996; 244: 481–489.
87. Massaro D. Regulation of alveolar formation. *Hosp Pract (Off)* 1990; 25: 81–84.

88. Caduff JH, Fischer LC, Burri PH. Scanning electron microscopic study of the developing microvasculature in the postnatal rat lung. *Anat Rec* 1986;216: 154–164.
89. Schittny JC, Burri PH. Morphogenesis of the mammalian lung: aspects of structure and extracellular matrix components. In: *Lung Development and Regeneration*, edited by Massaro D, Massaro GD, and Chambon P. New York, Basel, Hong Kong: Dekker, 2004: 275–317.
90. Burri PH. Lung development and pulmonary angiogenesis. In: *Lung Disease*, edited by Gaultier C, Bourbon J, and Post M. New York: Oxford Univ. Press, 1999:122–151.
91. Burri PH. Structural Aspects of Postnatal Lung Development – Alveolar Formation and Growth. *Biol Neonate* 2006;89:313–322.
92. Jakkula M, Le cras T, Gebb S et al. Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:600–607.
93. Gebb SA, Shannon JM. Tissue Interactions Mediate Early Events in Pulmonary Vasculogenesis. *Developmental dynamics* 2000;217:159–169.
94. Auer J. The development of the human pulmonary vein and its major variations. *Anat Rec* 1948; 101:581–594.
95. Conn G, Soderman DD, et al. Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1323–1327.
96. Neufeld G, Coehn T, Gengrinovitch S, and Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999;13: 9–22,
97. Roman J. Cell-cell and cell-matrix interactions in development of the lung vasculature. In: *Lung Growth and Development*, McDonald JA (editor) .New York: Dekker, 1997;365–400.
98. Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, et al. NO synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. *J Clin Invest* 1997;99: 2625–2634.
99. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J. Mol. Med.* 1999; 77: 527–543.
100. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999;13: 9–22.
101. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EH. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am. J. Physiol.* 1993; 264: 995–1002.
102. Berse B, Brown LF, Van de Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol. Biol. Cell* 1992; 3: 211–220.
103. Maniscalco WM, Watkins RH, Finkelstein JN, Campbell MH. Vascular endothelial growth factor mRNA increases in alveolar epithelial cells during recovery from oxygen injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; 13: 377–386.

104. Bhatt AJ, Amin SB, Chess PR, Watkins RH, Maniscalco WM. Expression of vascular endothelial growth factor and Flk-1 in developing and glucocorticoid-treated mouse lung. *Pediatr. Res.* 2000; 47: 606–613.
105. Fehrenbach H, Kasper M, Haase M, Schuh D, Muller M. Differential immunolocalization of VEGF in rat and human adult lung, and in experimental rat lung fibrosis: light, fluorescence, and electron microscopy. *Anat. Rec.* 1999;254: 61–73.
106. Gaudry M, Bregerie O, Andrieu V, et al. Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils. *Blood* 1997; 90: 4153–4161
107. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18: 4–25.
108. Quinn T, Peters K, Vries C, Ferrara N, Williams LT. Fetal liver kinase 1 is a receptor for vascular endothelial growth factor and is selectively expressed in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci* 199; 90:7533–7537.
109. Matthews W, Jordan CT, Gavin M, et al. A receptor tyrosine kinase cDNA isolated from a population of enriched primitive hematopoietic cells and exhibiting close genetic linkage to c-kit. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:9026–9030.
110. Kabrun N, Buhring HJ, Choi K, Keller G. Flk-1 expression defines a population of early embryonic hematopoietic precursors. *Development* 1997; 124:2039–2048.
111. Yamaguchi TP, Dumont DJ, Conlon RA, Breitman ML, Rossant J. flk-1, an flt-related receptor tyrosine kinase is an early marker for endothelial cell precursors. *Development* 1993;118:489–498.
112. Acarregui MJ, Penisten ST, Goss KL, Ramirez K, Snyder JM. Vascular endothelial growth factor gene expression in human fetal lung in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:14–23.
113. Shaul PW, Afshar S, Gibson LL, et al. Developmental changes in nitric oxide synthase isoform expression and nitric oxide production in fetal baboon lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283: 1192–1199.
114. Maniscalco WM, Watkins RH, D'Angio CT, Ryan RM. Hyperoxic injury decreases alveolar epithelial cell expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in neonatal rabbit lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 557–567.
115. Maniscalco WM, Watkins RH, Pryhuber GS, et al. Angiogenic factors and alveolar vasculature: development and alterations by injury in very premature baboons. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: 811–823,
116. Le Cras TD, Markham NE, Tudor RM, Voelkel NF, Abman SH. Treatment of newborn rats with a VEGF receptor inhibitor causes pulmonary hypertension and abnormal lung structure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: 555–562.
117. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380:435–439.

118. Ferrara N, Houch KA, Jakeman LB, Winer J, Leung DW. The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J. Cell. Biochem* 1991;47:211–218.
119. Randell SH, Mercer RR, and Young SL. Neonatal hyperoxia alters the pulmonary alveolar and capillary structure of 40-day old rats. *Am J Pathol* 1990;136:1259–1266
120. Massaro GD, Olivier J, and Massaro D. Short-term perinatal 10% oxygen alters postnatal development of lung alveoli. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1989;257: 221–225.
121. Tang JR, Le Cras TD, Morris KG, and Abman SH. Brief perinatal hypoxia increases the severity of pulmonary hypertension after reexposure to hypoxia in infant rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278: 356–364.
122. Karafakoglu Y. Tütün çalışanlarında oksidan-antioksidan durum. *Kocatepe Tıp Dergisi* 5: Ocak 2004, Afyon.
123. Otan H, Aпти R. Tütün. 1.baskı. İzmir: ETAEM yayını, 1989: 9.
124. Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ. Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:53-9.
125. Rodgman A, Perfetti TA. *The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke*. Boca Raton (FL): CRC Press, Taylor & Francis Group, 2009.
126. Abbott LC, Winzer-Serhan UH. Smoking during pregnancy: lessons learned from epidemiological studies and experimental studies using animal models. *Critical Reviews in Toxicology* 2012; 42(4): 279–303.
127. Benowitz NL, Lake T, Keller KH, Lee BL. Prolonged absorption with development of tolerance to toxic effects after cutaneous exposure to nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 1987;42:119–20.
128. Toledano A, Alvarez MI, Toledano-Díaz A. Diversity and variability of the effects of nicotine on different cortical regions of the brain therapeutic and toxicological implications. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 2010;10(3):180–206.
129. Berlin I, Radzius A, Henningfield JE, Moolchan ET. Correlates of expired air carbon monoxide: effect of ethnicity and relationship with saliva cotinine and nicotine. *Nicotine Tob Res.* 2001; 3(4):325-31.
130. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. World Health Organization International Agency for Research on Cancer 2004; 83.
131. Hymowitz N. Tobacco. *Clinical Textbook of Addictive Disorders*. NewYork: The Guilford Press, 2005; 105-116.
132. Burns DM, Dybing E, Gray N, et al. Mandated lowering of toxicants in cigarette smoke: a description of the World Health Organization TobReg proposal. *Tobacco Control* 2008;17(2):132–41.
133. Fowles J, Dybing E. Application of toxicological risk assessment principles to the chemical constituents of cigarette smoke. *Tobacco Control* 2003;12(4):424–30.

134. Hoffmann D, Hoffmann I. Tobacco smoke components. *Beiträge zur Tabakforschung International* 1998;18(1):49–52.
135. WHO report on the global tobacco epidemic: Raising taxes on tobacco. Philippines: World Health Organization 2015.
136. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Küresel Yetişkin Tütün Araştırması Türkiye. Ankara: Anıl Matbaa, 2014.
137. Postmus PE: Epidemiology of Lung Cancer in: Fishmans Pulmonary Diseases and Disorders. 3th ed. (Ed: Fishman AP. Elias JA. Fishman JA. Grippi MA. Kaiser LR. Senior RM). USA: The McGraw-Hill Companies 1998:1706-1725.
138. Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke; radicals, hydrogen peroxide, peroxynitrate and peroxynitrite. *Ann NY Acad Sci* 1993; 686: 12-28
139. Borgerding M, Klus H. Analysis of complex mixtures cigarette smoke. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2005;57(1):43–73.
140. Behr J, Nowak D. Tobacco smoke and respiratory disease. *ERS Journal Ltd. European Respiratory Monograph* 2002;21:161-179.
141. Pakhale SS, Dolas SS, Maru GB. The distribution of total particulate matter (TPM) and nicotine between mainstream and sidestream smoke in bidis and cigarettes. *Analytical Letters* 1997;30(2):383–94.
142. Evans WH, Thomas NC, Boardman MC, Nash SJ. Relationships of polycyclic aromatic hydrocarbon yields with particulate matter (water and nicotine free) yields in mainstream and sidestream cigarette smoke. *Science of the Total Environment* 1993;136(2):101–9.
143. California Environmental Protection Agency. Proposed identification of environmental tobacco smoke as a toxic air contaminant. SRP approved Version. executive summary appendix III, 2005.
144. Talhout R, Opperhuizen A, van Amsterdam JG. Role of acetaldehyde in tobacco smoke addiction. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17:627-36.
145. Maskarinec MP, Jenkins RA, Counts RW, Dindal AB. Determination of exposure to environmental tobacco smoke in restaurant and tavern workers in one US city. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2000; 10:36-49.
146. Jaakkola M, Jaakkola J. Impact of smoke-free workplace legislation on exposures and health: possibilities for prevention. *Eur Respir J* 2006; 25:397-408.
147. Siegel M. Involuntary smoking in the restaurant workplace. A review of employee exposure and health effects. *JAMA* 1993; 270:490-3.
148. Barnoya J, Glantz S. Cardiovascular effects of secondhand smoke. *Circulation* 2005; 111:2684-98.
149. Fidan F, Cimrin AH, Ergor G, Sevinc C. Airway disease risk from environmental tobacco smoke among coffeehouse workers in Turkey. *Tob Control* 2004;13:161-6.
150. Mossman BT, Lounsbury KM, Reddy SP. Oxidants and signaling by mitogen-activated protein kinases in lung epithelium. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol* 2006;34(6):666-669.

151. Dietrich M, Block G, Hudes M, et al. Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F2-isoprostanes in plasma of smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002;11(1):7–13.
152. Ichinoe M, Mikami T, Hara A, Tsuruta T, Okayasu I. Background submucosal cysts in early gastric cancer cases have unique clinicopathologic features suggestive of postgastritis and significant smoking association. *Am J Clin Pathol* 2007;128:746- 752.
153. Mortada WI, Sobh MA, El-Defrawy MM. The exposure to cadmium, lead and mercury from smoking and its impact on renal integrity. *Med Sci Monit* 2004;10: 112-116.
154. Ozyurt H, Pekmez H, Parlaktaş BS, et al. Oxidative stress in testicular tissues of rats exposed to cigarette smoke and protective effect of caffeic acid phenethyl ester (cape). *Asian Journal of Andrology* 2006; 8: 189-193.
155. Brody AL. Functional brain imaging of tobacco use and dependence. *J Psychiatr Res* 2006;40: 404-418.
156. Centers for Disease Control and Prevention. Cigarette smoking among adults—United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2008;57(45):1221–6.
157. Meyers DG, Neuberger JS, He J. Cardiovascular effects of bans on smoking in public places: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology* 2009;54(14):1249–55.
158. Chia SE, Lim STA, Tay SK, Lim ST. Factors associated with male infertility: a case-control study of 218 infertile and 240 fertile men. *BJOG* 2000;107(1):55–61.
159. Soares SR, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Cigarette smoking affects uterine receptiveness. *Hum Reprod* 2007;22:543–547.
160. Neal MS, Hughes EG, Holloway AC, Foster WG. Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes. *Hum Reprod* 2005; 20:2531–2535.
161. Lucini D, Bertocchi F, Malliani A, Pagani M. A controlled study of the autonomic changes produced by habitual cigarette smoking in healthy subjects. *Cardiovascular Research* 1996;31(4):633 9.
162. Tuut M, Hense HW. Smoking, other risk factors and fibrinogen levels: evidence of effect modification. *Annals of Epidemiology* 2001;11(4):232–8.
163. Arcavi L, Benowitz NL. Cigarette smoking and infection. *Archives of Internal Medicine* 2004;164(20):2206–16.
164. Jensen EJ, Pedersen B, Frederiksen R, Dahl R. Prospective study on the effect of smoking and nicotine substitution on leucocyte blood counts and relation between blood leucocytes and lung function. *Thorax* 1998;53(9):784–9.
165. Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nature Reviews Immunology* 2002;2(5):372–7.
166. Vaart H, Postma DS, Timens W, Ten Hacken NHT. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax* 2004;59(8):713–21.

167. Ouyang Y, Virasch N, Hao P, et al. Suppression of human IL-1 β , IL-2, IFN- γ , and TNF- α production by cigarette smoke extracts. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2000;106(2):280–7.
168. Cnattingius S. The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. *Nicotine & Tobacco Research* 2004;6(2):125–140.
169. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. *Sexually Transmitted Infections* 2004;80(1):58–62.
170. Shubert PJ, Diss E, Iams JD. Etiology of preterm premature rupture of membranes. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 1992;19(2):251–63.
171. Schulz H, Brand P, Heyder J. Particle deposition in the respiratory tract. In: Gehr P, Heyder J, (editors). *Particle- Lung Interactions. Lung Biology in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 2000:229–90.
172. Kreyling WG, Scheuch G. Clearance of particles deposited in the lungs. In: Gehr P, Heyder J, (editors). *Particle- Lung Interactions. Lung Biology in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 2000:323–76.
173. Hogg JC. Lung structure and function in COPD. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 2008;12(5):467–79.
174. Drannik AG, Pouladi MA, Robbins CS, et al. Impact of cigarette smoke on clearance and inflammation after *Pseudomonas aeruginosa* infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2004;170(11):1164–71.
175. Buzatu L, Chu F, Javadifard A, et al. The accumulation of dendritic and natural killer cells in the small airways at different levels of COPD severity. *Proceedings of the American Thoracic Society* 2005;2:135.
176. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine* 2004;350(26):2645–53.
177. U.S. Department of Health and Human Services. *The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General*. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2004.
178. American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force. *Standards for the diagnosis and management of patients with COPD, 2007*.
179. Janoff A, Pryor WA, Bengali ZH. Effects of tobacco smoke components on cellular and biochemical process in the lung. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987;136:1058–1064.
180. Vermeire P. The burden of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2002; 96: 3–10.
181. Wise RA. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Clinical Course and Management* In: Fishman AF (editor). *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*, 4th ed. New York: McGraw-Hill Companies, Inc, 2008;729-46.

182. Benowitz NL, Brunetta PG. Smoking hazards and cessation. In: Mason RJ, Broaddus C, Murray JF, Nadel JA (editors). *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005;24:53-68.
183. A Report of the Surgeon General. *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease* 2010.
184. WHO recommendations for the prevention and management of tobacco use and second-hand smoke exposure in pregnancy. *World Health Statistics* 2013.
185. *Global report on the tobacco use and second-hand smoke exposure in pregnancy*. Geneva, World Health Organization 2013.
186. Charrier L, Serafini P, Zanetti M, Zotti CM. Smoking habits in pregnant women after the ban: a study on a sample of puerperae in Piedmont region. *Ann Ig* 2008;20:279-86.
187. Bergmann RL, Bergmann KE, Schumann S, et al. Smoking during pregnancy: rates, trends, risk factors. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2008; 3:80-6.
188. Bloch M, Althabe F, Onyamboko M, et al. Tobacco use and secondhand smoke exposure during pregnancy: an investigative survey of women in 9 developing nations. *American Journal of Public Health*, 2008; 98(10):1833-40.
189. He Y, Lam TH, Jiang B, et al. Passive smoking and risk of peripheral arterial disease and ischemic stroke in Chinese women who never smoked. *Circulation* 2008;118:1535-40.
190. Ostrea EM, Villanueva-Uy E, Ngercham S, et al. An epidemiologic study comparing fetal exposure to tobacco smoke in three Southeast Asian countries. *Int J Occup Environ Health* 2008;14:257-62.
191. Soares SR, Melo MA. Cigarette smoking and reproductive function. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008;20:281-91.
192. Kubilay G, Terzioğlu F, Karatay G. Gebelik ve Sigara. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Beslenme ve Fiziksel Aktiviteler Daire Başkanlığı, Ankara: Klasmat Matbaacılık, 2008:1-18.
193. Rogers JM. Tobacco and pregnancy. *Reproductive Toxicology* 2009;28:152-160.
194. Luck W, Nau H, Hansen R, Stedinger R. Extent of nicotine and cotinine transfer to the human fetus, placenta and amniotic fluid of smoking mothers. *Dev Pharmacol Ther* 1985;8:384-395.
195. Florek E, Piekoszewski W, Hubert A, Kornacka MK. Influence of active and passive smoking during pregnancy on newborn health. In: *Progress in smoking and health research*. Nova Sciences Publisher 2007;193-240.
196. Chica RA, Ribas I, Giraldo J, Egozcue J, Fuster C. Chromosomal instability in amniocytes from fetuses of mothers who smoke. *JAMA* 2005;293(10):1212-22.
197. Correia S, Nascimento C, Gouveia R, et al. Pregnancy and smoking: an opportunity to change behaviours. *Acta Med Port* 2007; 20(3), 201-7.
198. Barker DJ. The fetal and infant origins of adult disease. *British Medical Journal* 1990;301:1111.

199. Ronco AM, Arguello G, Muñoz L, Gras N, Llanos M. Metals content in placentas from moderate cigarette consumers: correlation with newborn birth weight. *Biometals* 2005;18(3):233–41.
200. Ortega RM, Requejo AM, López-Sobaler AM, et al. Smoking and passive smoking as conditioners of folate status in young women. *Journal of the American College of Nutrition* 2004;23(4):365–71.
201. Nelson E, Jodscheit K, Guo Y. Maternal passive smoking during pregnancy and fetal developmental toxicity. Part 1: gross morphological effects. *Human & Experimental Toxicology* 1999;18(4):252–6.
202. Sarasin A, Schlumpf M, Müller M, et al. Adrenal-mediated rather than direct effects of nicotine as a basis of altered sex steroid synthesis in fetal and neonatal rat. *Reproductive Toxicology* 2003;117(2):153–62.
203. Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L. Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiology of Disease* 2005;20(2):601–7.
204. Bureau MA, Monette J, Shapcott D, et al. Carboxyhemoglobin concentration in fetal cord blood and in blood of mothers who smoked during labor. *Pediatrics* 1982;69(3):371–3.
205. Jalali M, Nikravesh MR, Moeen AA, Mohammad S, Karimfar MH. Effects of Maternal Nicotine Exposure on Expression of Collagen Type IV and its Roles on Pulmonary Bronchogenesis and Alveolarization in Newborn Mice. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010;9(3):169-173.
206. Sekhon HS, Keller JA, Benowitz NL, Spindel ER. Prenatal nicotine exposure alters pulmonary function in newborn rhesus monkeys. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:989–994.
207. Gillespie MN, Owasoyo JO, Kojima S, Jay M. Enhanced chemotaxis and superoxide anion production by polymorphonuclear leucocytes from nicotine-treated and smoke-exposed rats. *Toxicology* 1987; 45:45-52.
208. Kistler GS, Caldwell PRB, Weibel ER. Development of fine damage to alveolar and capillary lining cells in oxygen poisoned rat lungs. *J. Cell Biol* 1967;33:605-628.
209. Sekhon HS, Proskocil BJ, Clark JA, Spindel ER. Prenatal nicotine exposure increases connective tissue expression in foetal monkey pulmonary vessels. *Eur Respir J* 2004;23:906–915.
210. Maritz GS, Najaar K. Biomedical response of neonatal rat lung to maternal nicotine exposure. *Pathophysiology* 1995;2:47-54.
211. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 2004; 15: 91-96.
212. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3(4): 92–95.
213. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 2001; 36: 703-725.

214. Veliöğlu S. Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda* 2000; 25: 167-176.
215. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* 2008; 4(2):89-96
216. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991;161(4):488-503.
217. Bast A. Oxidative Stress and Calcium Homeostasis, in *DNA and Free Radicals*, Halliwell B, Aruoma OI (Editors) .Ellis Horwood, London: 1993: 95–108.
218. Orrenius S, McConkey DJ, Bellomo G, Nicotera P. Role of Ca²⁺ in Toxic Cell Killing, *Trends Pharmacol. Sci.* 1989;10:281–285.
219. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airway disease. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 429: 195–207.
220. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 341–57.
221. Vallyathan V, Shi X. The Role of Oxygen Free Radicals in Occupational and Environmental Lung Diseases. *Environmental Health Perspectives* 1997; 105.
222. Valluru L, Dasari S, Wudayagiri R. Role of free radicals and antioxidants in gynecological cancers: current status and future prospects. *Oxid Antioxid Med Sci* 2014; 3: 15-26.
223. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry* 2006;31(2):51–56.
224. Henricks PA, Nijkamp FP. Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2001; 14: 409–20.
225. Hulsmann AR, Raatgeep HR, Hollander JC, et al. Oxidative epithelial damage produces hyperresponsiveness of human peripheral airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 149: 519–25.
226. Kawikova I, Barnes PJ, Takahashi T, et al. 8-Epi-PGF₂ alpha, a novel noncyclooxygenase-derived prostaglandin, constricts airways in vitro. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153: 590–6.
227. Fink MP. Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome. *Curr. Opin. Crit. Care.* 2002; 8: 6–11.
228. Behr J, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of N-acetylcysteine. *Eur. Respir. J.* 2002; 19: 906–11.
229. Fattman CL. Apoptosis in pulmonary fibrosis: too much or not enough? *Antioxid. Redox Signal.* 2008; 10: 379–85.
230. Sturrock A, Cahill B, Norman K, et al. Transforming growth factor-beta1 induces Nox4 NAD(P)H oxidase and reactive oxygen species dependent proliferation in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell.Mol. Physiol.* 2006; 290: 661–73.
231. Szabo E, Riffe ME, Steinberg SM, Birrer MJ, Linnoila RI. Altered cJUN expression: an early event in human lung carcinogenesis. *Cancer Res.* 1996; 56: 305–15.

232. Stewart ZA, Pietenpol JA. p53 Signaling and cell cycle checkpoints. *Chem. Res. Toxicol.* 2001; 14: 243–63.
233. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361–70.
234. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* 1999;53: 46-48.
235. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 2006;23(1):85-89.
236. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 2001; 54: 176-186.
237. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları. Sağlık Dizisi. Konya, 1995.
238. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 2004; 44: 275-295.
239. Bahorun T, Soobrattee MA, Luximon-Ramma V, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *J. Med.* 2006; 1: 1-17
240. Davies KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposium* 1995;61:1–31.
241. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *American Journal of Medicine* 1991;91(3):2–13.
242. Goraca A, Huk-Kolega H, Piechota A. Lipoic acid-biological activity and therapeutic potential. *Pharmacol. Rep.* 2011; 63: 849 – 858.
243. Kramer K, Hoppe PP, Packer L. Nutraceuticals in Health and Disease Prevention, *Am J Clin Nutr* 2002;75:783.
244. Kramer K, Hoppe PP, Packer L. R-alpha-lipoic acid in health and disease prevention. *Nutraceuticals* 2001;129–64.
245. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, Hagen TM. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(10): 1149–1160.
246. Boom TJ, Vanden KE, Cronan JE. Lipoic acid metabolism in *Escherichia coli*: isolation of null mutants defective in lipoic acid biosynthesis, molecular cloning and characterization of the *E. coli* lip locus, and identification of the lipoylated protein of the glycine cleavage system. *J Bacteriol* 1991;173:6411–20.
247. Cadenas E. *Handbook of Antioxidants, Second Edition, Revised and Expanded.* New York, NY, USA: Marcel Dekker Incorporated: 2001:477- 478.
248. Scott BC, Aruoma OI, Evans PJ, et al. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic Res* 1994;20:119– 33.
249. Suzuki YJ, Tsuchiya M, Packer L. Thiocetic acid and dihydrolipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free Radic Res Commun* 1991;15:255–63.
250. Bast A, Haenen GR. Lipoic acid: a multifunctional antioxidant. *Biofactors* 2003;17:207–13.

251. Güvenç M. Resveratrol, Lipoik Asit ve Vitamin C'nin Tip-1 Diyabetli Sıçanların Karaciğer, Böbrek ve Eritrositlerinde Lipofilik Vitaminler, Kolesterol ve Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,2008.
252. Cadenas E., Handbook of antioxidants (2nd ed). Marcel Dekker Incorporated, Newyork: 23:473, 2001.
253. Streeper RS, Henriksen EJ, Jacob S, et al. Differential effects of lipoic acid stereoisomers on glucose metabolism in insulin-resistant skeletal muscle. *Am. J.Physiol* 1997;273:185-191.
254. Reed L. Multienzyme complexes. *Accts Chem Res* 1974;7:40–46
255. Bast A, Haenen G .The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environmental toxicology and Pharmacology*. 2002; 11 (3): 251-258.
256. Breithaupt-Grogler K, Niebch G, Schneider E, et al. Dose-proportionality of oral thioctic acid--coincidence of assessments via pooled plasma and individual data. *Eur J Pharm Sci* 1999;8:57–65.
257. Takaishi N, Yoshida K, Satsu H, Shimizu M. Transepithelial transport of alpha-lipoic acid across human intestinal Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem* 2007;55:5253–9.
258. Balamurugan K, Vaziri ND, Said HM. Biotin uptake by human proximal tubular epithelial cells:cellular and molecular aspects. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288:823–31.
259. Prasad PD, Wang H, Kekuda R,et al. Cloning and functional expression of a cDNA encoding a mammalian sodium-dependent vitamin transporter mediating the uptake of pantothenate, biotin, and lipoate. *J Biol Chem* 1998;273:7501–6.
260. Panigrahi M, Sadguna Y, Shivakumar BR, et al. Alpha- Lipoic acid protects against reperfusion injury following cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 1996;717:184–8.
261. Arivazhagan P, Shila S, Kumaran S, Panneerselvam C. Effect of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in various brain regions of aged rats. *Exp Gerontol* 2002;37:803–11.
262. Harrison EH, McCormick DB. The metabolism of dl-(1,6-14C) lipoic acid in the rat. *Arch Biochem Biophys* 1974;160:514–22.
263. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, et al. Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med* 1998; 24(6):1023-1039.
264. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1995;19:227–50.
265. Cremer DR, Rabeler R, Roberts A, Lynch B. Safety evaluation of alpha-lipoic acid (ALA). *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;46:29–41.
266. Cremer DR, Rabeler R, Roberts A, Lynch B. Long-term safety of alpha-lipoic acid (ALA) consumption: A 2-year study. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;46:193–201.
267. Reljanovic M, Reichel G, Rett K,et al. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial. *Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy*. *Free Radic Res* 1999;31:171–9.

268. Ruhnau KJ, Meissner HP, Finn JR, et al. Effects of 3-week oral treatment with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy. *Diabet Med* 1999;16:1040–3.
269. Cakatay U, Kayali R. Plasma protein oxidation in aging rats after alpha-lipoic acid administration. *Biogerontology* 2005;6:87–93.
270. Cakatay U, Kayali R, Sivas A, Tekeli F. Prooxidant activities of alpha-lipoic acid on oxidative protein damage in the aging rat heart muscle. *Arch Gerontol Geriatr* 2005;40:231–
271. Kayali R, Cakatay U, Akcay T, Altug T. Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat. *Cell Biochem Funct* 2006;24:79–85.
272. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol* 1997;29:315–31
273. Hill AS, Werner JA, Rogers QR, O'Neill SL, Christopher MM. Lipoic acid is 10 times more toxic in cats than reported in humans, dogs or rats. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2004;88:150–6.
274. Stoll S, Hartmann H, Cohen SA, Muller WE. The potent free radical scavenger alpha-lipoic acid improves memory in aged mice: putative relationship to NMDA receptor deficits. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;46:799–805.
275. Packer L, Tritschler HJ, Wessel K: Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 359– 378.
276. Wang X, Yu Y , Ji L, et al. Alpha-lipoic acid protects against myocardial ischemia/ reperfusion injury via multiple target effects . *Food Chem. Toxicol* 2011; 49 : 2750 – 2757.
277. Takaoka M, Ohkita M, Kobayashi Y, Yuba M, Matsumura Y. Protective effect of alpha-lipoic acid against ischaemic acute renal failure in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 2002; 29: 189 – 194.
278. Bush AI. Metal complexing agents as therapies for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2002;23:1031–8.
279. Khamaisi M, Potashnik R, Tirosh A, et al. Lipoic acid reduces glycemia and increases muscle GLUT4 content in streptozotocin diabetic rats. *Metabolism* 1997;46:763-8.
280. Streeper RS, Henriksen EJ, Jacob S, et al. Differential effects of lipoic acid stereoisomers on glucose metabolism in insulin-resistant skeletal muscle. *Am J Physiol* 1997;273:E185–91.
281. Wiznitzer A, Ayalon N, HersHKovitz R, et al. Lipoic acid prevention of neural tube defects in offspring of rats with streptozocin-induced diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(1): 188-193.
282. Sugimura Y, MuraSel T, Kobayashi K, et all. α -Lipoic acid reduces congenital malformations in the offspring of diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev* 2009; 25: 287–294.
283. Zhang WJ, Frei B. Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *Faseb J* 2001;15:2423–32.

284. Sola S, Mir MQ, Cheema FA, et al. Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study. *Circulation* 2005;111:343–8.
285. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol* 2001;24:701–4.
286. Schwartz L, Guais A, Israel M, et al. Tumor regression with a combination of drugs interfering with the tumor metabolism: efficacy of hydroxycitrate, lipoic acid and capsaicin. *Invest New Drugs*, 2013;31:256–64.
287. Vig-Varga E, Benson EA, Limbil TL, et al. Alpha lipoic acid modulates ovarian surface epithelial cell growth. *Gynecol Oncol* 2006;103:45–52.
288. Arivazhagan, P, Thilakavathy T., Ramanathan ,K., Kumaran, S., Panneerselyam, C. 2002. “Effect of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and protein oxidation in various brain regions of aged rats”, *J Nutr Biochem*,13,619-24.
289. Mantovani G, Maccio A, Melis G, et al. Restoration of functional defects in peripheral blood mononuclear cells isolated from cancer patients by thiol antioxidant alpha-lipoic acid and Nacetyl cystein. *Int J Cancer* 2000;86:842–7.
290. Smith AR, Hagen TM. Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)-alpha-lipoic acid. *Biochem Soc Trans* 2003;31:1447–9.
291. Michels AJ, Joisher N, Hagen TM. Age-related decline of sodium-dependent ascorbic acid transport in isolated rat hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 2003;410:112–20.
292. Suh JH, Shigeno ET, Morrow JD, et al. Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)-(alpha)-lipoic acid. *Faseb J* 2001;15:700–6.
293. Busse E, Zimmer G, Schopohl B, Kornhuber B. Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung* 1992;42:829–31.
294. Han D, Handelman G, Marcocci L, et al. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization. *Biofactors* 1997;6:321–38.
295. Suh JH, Wang H, Liu RM, Liu J, Hagen TM. (R)-alpha-lipoic acid reverses the age-related loss in GSH redox status in post-mitotic tissues: evidence for increased cysteine requirement for GSH synthesis. *Arch Biochem Biophys* 2004;423:126–35.
296. Vasdev S, Gill V, Parai S, Gadag V. Dietary lipoic acid supplementation attenuates hypertension in Dahl salt sensitive rats. *Mol Cell Biochem* 2005;275:135–41.
297. Louhelainen M, Merasto S, Finckenberg P, et al. Lipoic acid supplementation prevents cyclosporine-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2006;24:947–56.
298. McMackin CJ, Widlansky ME, Hamburg NM, et al. Effect of combined treatment with alpha-Lipoic acid and acetyl-Lcarnitine on vascular function and blood pressure in patients with coronary artery disease. *J Clin Hypertens* 2007;9:249–55.

299. Al Ghafli MHM, Padmanabhan R, Kataya HH, Berg B. Effects of α -lipoic acid supplementation on maternal diabetes-induced growth retardation and congenital anomalies in rat foetuses. *Mol cell Biochem* 2004;1–13.
300. Cooney TP, Thurlbeck WM. The radial alveolar count method of Emery and Mithal: a reappraisal 1-postnatal lung growth. *Thorax*. 1982; 37: 572-9.
301. Ortega-Martínez M, Gutiérrez-Marín A, Coronado-Hernández I, et al. A. Méndez-Vilas (Ed.) Radial alveolar count assessment in the aging. *Microscopy: advances in scientific research and education*. Formatex 2014:344-347.
302. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (as malondialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry* 1966; 16: 359-364.
303. Aebi H. Catalase. In: H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods In Enzymatic Analysis*, Academic Press New York: 1983: 276-286.
304. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
305. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988; 34(3):497–500.
306. Baggio B, Budakovic A, Dalla Vestra M, et al. Effects of cigarette smoking on glomerular structure and function in type 2 diabetic patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2730-2736.
307. Tsui H, Wu HI, Lin C, et al. Prenatal smoking exposure and neonatal DNA damage in relation to birth outcomes. *Pediatr Res* 2008;64:131-4.
308. Boffetta P, Trédaniel J, Greco A. Risk of childhood cancer and adult lung cancer after childhood exposure to passive smoke: A Meta-Analysis. *Environ Health Perspect* 2000;108:73-82.
309. Shea AK, Steiner M. Cigarette smoking during pregnancy. *Nicotine Tob Res* 2008;10:267-78.
310. Pastrakuljic A, Derewlany LO, Koren G. Maternal cocaine use and cigarette smoking in pregnancy in relation to amino acid transport and fetal growth. *Placenta* 1999; 20: 499-512.
311. Singh SP, Razani-Boroujerdi S, Pena-Philippides JC, et al. Early postnatal exposure to cigarette smoke impairs the antigenspecific T-cell responses in the spleen. *Toxicol Lett*. 2006; 167: 231-237.
312. Drummond D, Baravalle-Einaudi M, Lezmi G. Combined Effects of in Utero and Adolescent Tobacco Smoke Exposure on Lung Function in C57B1/6J Mice. *Environ Health Perspect*. 2016; DOI: 10.1289/EHP54
313. Vogelgesang A, Scapin C, Barone C. Cigarette Smoke Exposure during Pregnancy Alters Fetomaternal Cell Trafficking Leading to Retention of Microchimeric Cells in the Maternal Lung. *PloS One* 2014; 9 (5): 1-8.
314. Chaudhary J, Singh J, Shamal SN. Effect of Tocopheryl Acetate on Maternal Cigarette Smoke Exposed Swiss Albino Mice Inbred Fetus. *JCDR* 2016; 10 (10): 1-5.

315. T Gunes, E Koklu, I Gunes, F Narin, SS Koklu. Influence of maternal nicotine exposure on neonatal rat oxidant–antioxidant system and effect of ascorbic acid supplementation. *Human & Experimental Toxicology* 2008; 27: 781–786.
316. Maritz GS, Harding R. Life-long programming implications of exposure to tobacco smoking and nicotine before and soon after birth: evidence for altered lung development. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 2011; 8:875–898.
317. Stick SM, Burton PR, Gurrin L, Sly PD, LeSouëf PN. Effects of maternal smoking during pregnancy and a family history of asthma on respiratory function in newborn infants. *Lancet* 1996; 348: 1060–1064.
318. Petre MA, Petrik J, Ellis R, et al. Fetal and neonatal exposure to nicotine disrupts postnatal lung development in rats: Role of VEGF and its receptors. *Int J Toxicol.* 2011; 30(2): 244–252.
319. Jiang JS, Chou HC, Yeh TF, Chen CM. Maternal nicotine effects on vascular endothelial growth factor expression and morphometry in rat lungs. *Early Human Development* 2012; 88:525–529.
320. Emery JL, Mithal A. The number of alveoli in the terminal respiratory unit of man during late intrauterine life and childhood. *Archives of Disease in Childhood.* 1960; 35: 544-7.
321. Maritz, GS. Maternal nicotine exposure during gestation and lactation of rats induce microscopic emphysema in the offspring. *Exp. Lung Res.* 2002; 28: 391–403.
322. Petre MA, Labiris RN, Inman MD, Holloway AC. Fetal and neonatal exposure to nicotine disrupts postnatal lung development. *Annual Meeting of the American Thoracic Society Toronto, 2008.*
323. Maritz GS, Van Wyk G. Influence of Maternal Nicotine Exposure on Neonatal Rat Lung Structure: Protective Effect of Ascorbic Acid. *Comp. Biochem. Physiol.* 1997; 117(2):159-165.
324. Rennard SI, Togo S, Holz O. Cigarette Smoke Inhibits Alveolar Repair A Mechanism for the Development of Emphysema. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 703–708.
325. Kuwano K, Bosken CH, Pare PD, et al. Small airways dimensions in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1220–1225.
326. Sekhon HS, Keller JA, Proskocil BJ, et al. Maternal nicotine exposure upregulates collagen gene expression in fetal monkey lung. Association with alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26:31–41.
327. Holbrook BD. *The Effects of Nicotine on Human Fetal Development.* Birth Defects Research Wiley Periodicals 2016;1-12.
328. Wongtrakool C, Wang N, Hyde DM, Roman J, Spindel ER. Prenatal Nicotine Exposure Alters Lung Function and Airway Geometry through a7 Nicotinic Receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 46 (5): 695–702.
329. Maritz GS, Thomas RA. Maternal nicotine exposure: response of type II pneumocytes of neonatal rat pups. *Cell Biol. Int.* 1995;19:323–331.

330. Park HS, Kim SR, Lee YC. Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology* 2009;14, 27–38.
331. Shraideh Z, Wajdy AA, Darwish B. Effects of cigarette smoking on histology of trachea and lungs of albino rat. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.* 2013; 3(10):356-362.
332. Hunninghake WG, Crystal RG. Cigarette smoking and lung destruction. accumulation of neutrophils in the lungs of cigarette smoking. *Am Rev Respir Dis*, 1993;128:833-838.
333. Masubuchi T, Koyama S, Sato E, et al. Smoke extract stimulates lung epithelial cells to release neutrophil and monocyte chemotactic activity. *The American Journal of Pathology*, 1998;153:1903-1912.
334. Andersen R, Theron AJ, Richards GA, Myers MS, Rensberg JV. Passive smoking by human sensitizes circulating neutrophils. *Am Rev Respir Dis*. 1991; 144:570-574.
335. Liu PL, Chen YL, Chen YH, Lin SJ, Kou YR. Wood smoke extract induces oxidative stress-mediated caspase-independent apoptosis in human lung endothelial cells: role of AIF and EndoG. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005; 289: L739–49.
336. Staub NC. Pulmonary edema due to increased microvascular permeability. *Annu Rev Med*. 1981; 32:291–312
337. Cai S, Zemans RL, Young SK, Worthen GS, Jeyaseelan S. Myeloid differentiation protein-2-dependent and -independent neutrophil accumulation during *Escherichia coli* pneumonia. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009; 40:701–9.
338. Martin TR, Pistorese BP, Chi EY, Goodman RB, Matthay MA. Effects of leukotriene B4 in the human lung. Recruitment of neutrophils into the alveolar spaces without a change in protein permeability. *J Clin Investig*. 1989; 84:1609–19.
339. Zemans RL, Colgan SP, Downey GP. Transepithelial migration of neutrophils: mechanisms and implications for acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009; 40:519–35.
340. Matthay MA, Folkesson HG, Clerici C. Lung epithelial fluid transport and the resolution of pulmonary edema. *Physiol Rev*. 2002; 82:569–600.
341. Folkesson HG, Matthay MA. Alveolar epithelial ion and fluid transport: recent progress. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006; 35:10–19.
342. Cepkova M, Matthay MA. Pharmacotherapy of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *J Intensive Care Med*. 2006; 21:119–43.
343. Maritz GS. The influence of maternal nicotine exposure on neonatal lung metabolism: Protective effect of ascorbic acid. *Cell Biol. Internat*. 1993;17:579-585.
344. Maritz GS, Scott L, Woolward, K. The effect of maternal nicotine exposure on the neonatal rat lung. *S. Afr. J. Science* 1993;90:249-252.
345. Dogan OT, Elagoz IS, Ozsahin SL, et al. Pulmonary toxicity of chronic exposure to tobacco and biomass smoke in rats. *Clinics* 2011;66(6):1081-1087.
346. Chen Z, Wang D, Liu X, et all. Oxidative DNA damage is involved in cigarette smoke-induced lung injury in rats. *Environ Health Prev Med* 2015; 20:318–324.

347. Gundavarapu S, Wilder JA, Mishra NC, et al. Role of nicotinic receptors and acetylcholine in mucous cell metaplasia, hyperplasia, and airway mucus formation in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(3):770–780.
348. Yıldız A. Gebelik ve Laktasyon Döneminde Nikotine Maruz Kalan Wistar Albino Sıçanların Yavrularının Akciğerlerinde Meydana Gelen Değişiklikler ve Bu Değişiklikler Üzerine Melatoninin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
349. Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53: 1061–3.
350. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂- isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1198–203.
351. Dadhania VP, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena GB. Intervention of alpha-lipoic acid ameliorates methotrexate-induced oxidative stress and genotoxicity: A study in rat intestine. *Chem Biol Interact* 2010;183:85-97.
352. Goraca A, Skibska B. Beneficial effect of α -lipoic acid on lipopolysaccharide- induce oxidative stress in bronchoalveolar lavage fluid. *Journal of physiology and pharmacology* 2008; 59(2):379-386.
353. Tomo PD, Silvestre SD, Cordone VGP. Centella Asiatica and Lipoic Acid, or a combination thereof, inhibit monocyte adhesion to endothelial cells from umbilical cords of gestational diabetic women. *Numec d* 2015; 25:659-666
354. Sheldon RA, Christen S, Ferriero DM: Genetic and pharmacologic manipulation of oxidative stress after neonatal hypoxia-ischemia. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 87–92.
355. Bruun JE, Woynilowicz AK, Hettinga BP, et al. Maternal antioxidants prevent beta cell apoptosis and promote formation of dual hormone-expressing endocrine cells in male offspring following fetal and neonatal nicotine exposure. *J Diabetes.* 2012;4(3):297–306.
356. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med.* 1967;276(7):357-68.
357. Ainsworth SB. Pathophysiology of Neonatal Respiratory Distress Syndrome. *Treatments in Respiratory Medicine.* 2005;4(6):423-37.
358. Martin RJ, Fanaroff AA. The preterm lung and airway: past, present, and future. *Pediatr Neonatol.* 2013;54(4):228-34.
359. De la Monte SM, Hutchins GM, Moore GW. Respiratory epithelial cell necrosis is the earliest lesion of hyaline membrane disease of the newborn. *Am J Pathol.* 1986;123:155-60.
360. Seo IS, Gillim SE, Mirkin LD. Hyaline membranes in postmature infants. *Pediatr Pathol.* 1990;10:539-48.
361. Orhon FS, Ulukol B, Kahya D, et al. The influence of maternal smoking on maternal and newborn oxidant and antioxidant status. *Eur J Pediatr* 2009;168:975-81.

362. Ermis B, Ors R, Yildirim A, et al. Influence of smoking on maternal and neonatal serum malondialdehyde, superoxide dismutase, and glutathione peroxide levels. *Ann Clin Lab Sci* 2004;34:405-9.
363. Demir S, Özkurt S, Köseoğlu M, et al. Sigara içenlerde plazma lipid peroksidasyonu. *Solunum*, 2001;3: 57-59.
364. Hanbyeol L, Jeong-Ran P, Eun-Jeong K. Cigarette smoke-mediated oxidative stress induces apoptosis via the MAPKs/STAT1 pathway in mouse lung fibroblasts. *Toxicology Letters* 2016;240: 140–148.
365. Hulea SA, Olinescu R, Nita S, Crocnan D, Kummerow FA. Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stress: a case-control study. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1995;14:173-80.
366. Kim SH, Kim JS, Shin HS, Keen CL. Influence of smoking on markers of oxidative stress and serum mineral concentrations in teenage girls in Korea. *Nutrition* 2003;19:240-3.
367. Cantin AM, North SL, Hubbard RC, Crystal RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J. Appl. Physiol.* 1987;63(1):152–157.
368. Ahmad A, Shameem M, Husain Q. Altered oxidant–antioxidant levels in the disease prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2013; 17(8):1104– 1109.
369. Aydogan Ü, Durmaz E, Ercan CE, et al. Effects of smoking during pregnancy on dna damage and ros level consequences in maternal and newborns' blood. *Arh Hig Rada Toksikol* 2013;64:35-46.
370. Carnevali S, Petruzzelli S, Longoni B, et al. Cigarette smoke extract induces oxidative stress and apoptosis in human lung fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284(6): 955– 963.
371. Tan S, Sagara Y, Liu Y, Maher P, Schubert D. The regulation of reactive oxygen species production during programmed cell death. *J Cell Biol* 1998;141(6): 1423–1432.
372. Tsukahara H. Biomarkers for oxidative stress: clinical application in pediatric medicine. *Curr Med Chem* 2007;14:339–351.
373. Ho YS, Lee HM, Mou TC, Wang YJ, Lin JK. Suppression of nitric oxide-induced apoptosis by N-acetyl-L-cysteine through modulation of glutathione, bcl-2, and bax protein levels. *Mol Carcinog* 1997; 19:101-13.
374. Nakamura T, Sakamoto K. Reactive oxygen species up-regulates cyclooxygenase-2, p53, and bax mRNA expression in bovine luteal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:203-210.
375. Tuder RM, Zhen L, Cho CY, et al. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to VEGF receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:88-97.
376. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.* 1992; 119: 493-501.

377. Jauniaux E, Burton GJ. Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke on the fetoplacental unit. *Early Hum Dev* 2007; 83(11): 699–706.
378. Karaoglu A, Tunc T, Aydemir G, et al. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21 (4): 441–446.
379. Ning Y, Shang Y, Huang H, et al. Attenuation of Cigarette Smoke-Induced Airway Mucus Production by Hydrogen-Rich Saline in Rats. *PLoS One* 2013;8(10): 1-10.
380. Rangasamy T, Misra V, Zhen L, et al. Cigarette smoke-induced emphysema in A/J mice is associated with pulmonary oxidative stress, apoptosis of lung cells, and global alterations in gene expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296: 888–900.
381. Banerjee S, Chattopadhyay R, Ghosh A, et al. Cellular and molecular mechanisms of cigarette smoke-induced lung damage and prevention by vitamin C. *Journal of Inflammation* 2008;5:21.
382. Panda K, Chattopadhyay R, Chattopadhyay DJ, Chatterjee IB. Vitamin C prevents cigarette smoke-induced oxidative damage in vivo. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:115-24.
383. Nicholson DW, Thornberry NA: Caspases: killer proteases. *Trends Biochem Sci* 1997; 22(8):299–306.
384. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. The most unkindest cut of all: on the multiple roles of mammalian caspases. *Leukemia* 2000; 14(8):1514–1525.
385. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281(5381):1312–1316.
386. Bem RA, Bos AP, Matute-Bello G, et al. Lung epithelial cell apoptosis during acute lung injury in infancy. *Pediatr Crit Care Med* 2007; 8:132–137.
387. Del Riccio V, Van Tuyl M, Post M. Apoptosis in lung development and neonatal lung injury. *Pediatr Res* 2004; 55:183–189.
388. Martin TR, Hagimoto N, Nakamura M, et al. Apoptosis and epithelial injury in the lungs. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2:214–220.
389. Makena PS, Luellen CL, Balazs L, et al. Preexposure to hyperoxia causes increased lung injury and epithelial apoptosis in mice ventilated with high tidal volumes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 299: 711–719.
390. Wang H, Ma L, Li Y, Cho CH. Exposure to cigarette smoke increases apoptosis in the rat gastric mucosa through a reactive oxygen species-mediated and p53-independent pathway. *Free Radic Biol Med* 2001;28(7):1125–1131.
391. Kitaguchi Y, Taraseviciene-Stewart L, Hanaoka M, et al. Acrolein Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Causes Airspace Enlargement. *Plos One* 2012; 7(5): 380-38.
392. Chiappara G, Gjomarkaj M, Sciarrino S, et al. Altered expression of p21, activated caspase-3, and PCNA in bronchiolar epithelium of smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. *Experimental Lung Research* 2014; 40: 343–353.
393. Maniscalco WM, Bhandari V. Disruption of lung microvascular development. In: Abman SH, editor. *Bronchopulmonary Dysplasia*. Informa Healthcare; New York: 2010:146-166.

394. Healy AM, Morgenthau L, Zhu X, Farber HW, Cardoso WV. VEGF is deposited in the subepithelial matrix at the leading edge of branching airways and stimulates neovascularization in the murine embryonic lung. *Dev Dyn* 2000; 219:341–352.
395. Maritz GS, Windvogel S. Chronic maternal nicotine exposure during gestation and lactation and the development of the lung parenchyma in the offspring. Response to nicotine withdrawal. *Pathophysiology*. 2003; 10(1):69–75.
396. Ferrara N Bunting S. Vascular endothelial growth factor, a specific regulator of angiogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996; 5: 35–44.
397. Tsao PN, Li H, Wei SC, et al. Expression of angiogenic factors and their receptors in postnatal mouse developing lung. *J Formos Med Assoc*. 2004; 103(2):137–43.
398. Meyerholz DK, Gallup JM, Lazic T, et al. Pretreatment with recombinant human vascular endothelial growth factor reduces virus replication and inflammation in a perinatal lamb model of respiratory syncytial virus infection. *Viral Immunol*. 2007; 20(1):188–96.
399. Sow FB, Gallup JM, Meyerholz DK, Ackermann MR. Gene profiling studies in the neonatal ovine lung show enhancing effects of VEGF on the immune response. *Dev Comp Immunol*. 2009; 33(6): 761–71.
400. Prescott SL. Effects of early cigarette smoke exposure on early immune development and respiratory disease. *Paediatr Respir Rev*. 2008; 9(1):3–9.
401. Stenmark KR, Abman SH. Lung vascular development: implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Annu Rev Physiol*. 2005; 67:623–61.
402. Canoz Ö, Gunes T, Deniz K, Akgun H, Balkanlı S. Perinatal expression of HSP70 and VEGF in neonatal rat lung vessels exposed to nicotine during gestation. *APMIS* 2006; 114: 10–4.
403. Ackermann MR. Lamb Model of Respiratory Syncytial Virus–Associated Lung Disease: Insights to Pathogenesis and Novel Treatments. *IJAR Journal* 2014;55(1):4-15.
404. Dor Y, Djonov V, Abramovitch R, et al. Conditional switching of VEGF provides new insights into adult neovascularization and pro-angiogenic therapy. *Embo J* 2002; 21:1939–1947.
405. Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, et al. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development* 1999; 126:1149–1159.
406. Meller S, Bhandari V. VEGF levels in humans and animal models with RDS and BPD: Temporal relationships. *Exp Lung Res*. 2012;38(4): 192–203.
407. Compernelle V, Brusselmans K, Acker T, et al. Loss of HIF-2alpha and inhibition of VEGF impair fetal lung maturation, whereas treatment with VEGF prevents fatal respiratory distress in premature mice. *Nat. Med*. 2002; 8:702–710.
408. Brown KR, England KM, Goss KL, Snyder JM, Acarregui MJ. VEGF induces airway epithelial cell proliferation in human fetal lung in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281:1001-1010.
409. Lassus P, Ristimaki A, Ylikorkala O, Viinikka L, Andersson S. Vascular endothelial growth factor in human preterm lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1429–1433.

410. Tsao PN, Wei SC, Chou HC, et al. Vascular Endothelial Growth Factor in Preterm Infants With Respiratory Distress Syndrome. *Pediatr Pulmonol.* 2005; 39:461–465.
411. Gratton JP, Morales-Ruiz M, Kureishi Y, et al. Akt down-regulation of p38 signaling provides a novel mechanism of vascular endothelial growth factor-mediated cytoprotection in endothelial cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 30359–30365.
412. Krebs R, Tikkanen JM, Nykanen AI, Dual role of vascular endothelial growth factor in experimental obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1421-1429.
413. Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106:1311-1319.
414. Tang K, Rossiter HB, Wagner PD, Breen EC. Lung-targeted VEGF inactivation leads to an emphysema phenotype in mice. *J Appl Physiol* 2004; 97:1559–1566.
415. Kanazawa H, Yoshikawa J. Elevated oxidative stress and reciprocal reduction of vascular endothelial growth factor levels with severity of COPD. *Chest* 2005; 128: 3191–97.
416. Hiroshi Kanazawa. Role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Monit*, 2007; 13(11):189-195.
417. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *Journal of the American College of Cardiology* 2004; 43(10):1731–7.
418. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003; 8: 39-49.
419. Chang LL, Subramaniam M, Yoder BA, et al. A catalytic antioxidant attenuates alveolar structural remodeling in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 57-64.
420. Chang M, Fayed BM, Kenney MC, Beharry KD. Effects of a superoxide dismutase mimetic on biomarkers of lung angiogenesis and alveolarization during hyperoxia with intermittent hypoxia. *Am J Transl Res* 2013;5(6):594-607.
421. Haagsman HP. Surfactant proteins A and D. *Biochem. Soc. Trans.* 1993; 22: 100–106.
422. Pison U, Max M, Neuendan A, Weissbach S, Pietschmann S. Host defence capacities of pulmonary surfactant: evidence for ‘non-surfactant’ functions of the surfactant system. *Eur. J. Clin. Invest.* 1994; 24: 586–599.
423. Olmeda B, Umstead TM, Silveyra P, et al. Effect of hypoxia on lung gene expression and proteomic profile: insights into the pulmonary surfactant response. *J Proteomics.* 2014; 101:179–191.
424. Hamm H, Fabel H, Bartsch W. The surfactant system of the adult lung: physiology and clinical perspectives. *Clin-Investig.* 1992; 70(8):637-57.
425. Hallman M, Arjomaa P, Mizumoto M, Akino T. Surfactant proteins in the diagnosis of fetal lung maturity. I. Predictive accuracy of the 35 kD protein, the lecithin/sphingomyelin ratio, and phosphatidylglycerol. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1988; 158:531–535.
426. Cochrane CG. Pulmonary surfactant in allergic inflammation: new insights into the molecular mechanisms of surfactant function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288(4):608-9.

427. Calkovska A. Pulmonary surfactant in the respiratory tract. *Cesk Fysiol* 2000;49(3):145-51.
428. Bracci R. Free oxygen radicals and surfactant. *Biol Neonate* 1997; 71(1):23-27.
429. Scott JE. The Pulmonary Surfactant: Impact of Tobacco Smoke and Related Compounds on Surfactant and Lung Development. *Tobacco induced diseases* 2004; 2 (1): 3-25.
430. Subramaniam S, Bummer P, Gairola CG. Biochemical and biophysical characterization of pulmonary surfactant in rats exposed chronically to cigarette smoke. *Fundam Appl Toxicol* 1995; 27:63-69.
431. LeVine AM, Kurak KE, Wright JR, et al. Surfactant protein-A binds group B streptococcus enhancing phagocytosis and clearance from lungs of surfactant protein-A-deficient mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1999; 20:279–286.
432. Harding R. Sustained alterations in postnatal respiratory function following sub-optimal intrauterine conditions. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7:431- 441.
433. Subramaniam S, Srinivasan S, Bummer PM, Gairola CG. Perinatal sidestream cigarette smoke exposure and the developing pulmonary surfactant system in rats. *Hum Exp Toxicol* 1999;18:206- 211.
434. Fu ZH, Yang ZC, Hu ZH, Wu JP, Liu ZX. Study on the mechanisms of abnormal SP-A expression after smoke inhalation injury. *Med J Chin PLA* 2002;27:518.
435. Dubick MA, Carden SC, Jordan BS, Langlinais PC, Mazingo DW. Indices of antioxidant status in rats subjected to wood smoke inhalation and/or thermal injury. *Toxicology* 2002;176:145.
436. Wuenschell CW, Zhao J, Tefft JD, Warburton D. Nicotine stimulates branching and expression of SP-A and SP-C mRNAs in embryonic mouse lung culture. *Am J Physiol* 1998; 274:165-170.
437. Fisher AB. Intermediary metabolism of the lung. *Environ Health Perspect* 1984;55:149-158.
438. Maritz GS, Burger B. The influence of maternal nicotine exposure on neonatal lung carbohydrate metabolism. *Cell Biol Int Rep* 1992; 16:1229-1236.
439. Kordom C, Maritz GS, De Kock M. Maternal nicotine exposure during pregnancy and lactation: I. Effect on glycolysis in the lungs of the offspring. *Exp Lung Res* 2003; 29(2):79-89.
440. Jordan JA, Gairola CG. Lung mitochondrial in rat chronically exposed to cigarette smoke. *Toxicologist* 1994;14: 425.
441. Beers MF, Kim CY, Dodia C, Fisher AB. Synthesis of type II cell lamellar body lysozyme-15 kD protein (lbl-15) by perfused rat lung. *Am. J. Cell Mol. Biol.* 1994; 11:240–248.
442. Hu QJ, Zhang HL, Xiong SD, et al. The alteration and significance of surfactant protein A in rats chronically exposed to cigarette smoke. *J Huazhong Univ Sci Technol* 2008;28:128.
443. Toon MH, Maybauer MO, Greenwood JE, Maybauer DM, Fraser JF. Management of acute smoke inhalation injury. *Crit Care Resusc* 2010;12:53.

444. Lannan S, Donaldson K, Brown D, MacNee W. Effect of cigarette smoke and its condensates on alveolar epithelial cell injury in vitro. *Am J Physiol* 1994; 266: 92-100.
445. Bridges JP, Davis HW, Damodarasamy M, et al. Pulmonary surfactant proteins A and D are potent endogenous inhibitors of lipid peroxidation and oxidative cellular injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 38848-38855.
446. Subramaniam S, Whitsett JA, Hull W, Gairola CG. Alteration of pulmonary surfactant proteins in rats chronically exposed to cigarette smoke. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 140: 274-280.
447. Kuzmenko AI, Wu H, Bridges JP, McCormack FX. Surfactant lipid peroxidation damages surfactant protein A and inhibits interactions with phospholipid vesicles. *Journal of Lipid Research* 2004;45:1061-1068.
448. Matalon S, Holm BA, Baker RR, Whitfield MK, Freeman BA. Characterization of antioxidant activities of pulmonary surfactant mixtures. *Biochim Biophys Acta* 1990;1035:121-127.

8. ÖZGEÇMİŞ

21 Ağustos 1987 tarihinde Elazığda doğdum. 2005 yılında Nevzat Ayaz Anadolu Lisesi'nden mezun olup aynı yıl Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nü kazandım. 2009 yılında lisans eğitimimi tamamladım. 28.09.2009 tarihinde Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak atandım. Aynı dönemde Dicle Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji bölümünde yüksek lisans eğitimine başlayıp, 2012 yılında mezun oldum. 2013 yılında ise Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji bölümünde doktora eğitimine başladım.