

T.C
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARBON TETRAKLORÜRE BAĞLI OLUŞAN AKCİĞER
HASARINDA DESFERAL'İN KORUYUCU ETKİSİ

HATİCE NUR AKILLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ METE KEÇECİ

ZONGULDAK

2024

T.C
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARBON TETRAKLORÜRE BAĞLI OLUŞAN AKCİĞER
HASARINDA DESFERAL'İN KORUYUCU ETKİSİ

HATİCE NUR AKILLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Mete KEÇECİ

ZONGULDAK

2024

ÖNSÖZ

Yüksek lisans hayatım süresince elini omzumdan hiç çekmeyen, yardımını asla esirgemeyip beni daima cesaretlendiren, engin bilgilerinden her zaman yararlandığım, kıymetli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Mete KEÇECİ'ye,

Yüksek lisansa başlamama beni teşvik eden gerek hayat gerek eğitim anlamında tecrübelerinden daima yararlandığım, gurbette ailemin yokluğunu hiç hissettirmeyen her koşulda yanımda olan güzel kalpli akıl hocalarım, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH'A ve Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü Prof.Dr. Zehra SAFİ ÖZ'e,

Çalışmam süresince ve sonrasında hep yanımda olan, kıymetli arkadaşlarım Özge AYDIN ve Ali Serdar KARATAŞ'a,

Kıymetli veteriner hekimimiz, memleketlim Osman ŞENGÜL'e,

Hayatıma anlam katan, daima yanımda olan sevgili Kadircan TÜKENMEZ'e,

Tüm hayatım boyunca hayallerimi gerçekleştirmem için beni maddi manevi her türlü destekleyen, her zaman güçlü ve umutlu kılan çekirdek aileme ve her zaman örnek aldığım sevgili teyzem Elif SEREN ve kıymetli eşi Hüseyin SEREN'e,

En umutsuz anda kilometrelerce öteden yardımını yetiştiren manevi ablam Gökçe ERDEM'e,

En içten duygularıyla teşekkür ediyorum. Varlığınız için minnettarım.

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2023-98210206-04)

Hatice Nur AKILLI

Ağustos 2024, ZONGULDAK

ÖZET

Hatice Nur AKILLI, ‘Karbon Tetraklorüre Bağlı Oluşan Akciğer Hasarında Desferal’in Koruyucu Etkisi’, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji AD, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2024

Karbon tetraklorür (CCl_4) serbest radikal üretimi vasıtasıyla hücresel hasar biçimlendirerek, insan ve hayvanlarda oksidatif strese neden olan kimyasal bir ajandır. Desferal markasıyla bilinen Deferoksamin (DFO), *Streptomyces pilosus* mantarı tarafından salgılanan bir trihidroksamik asit siderofor olarak bilinir ve antioksidan özelliklere sahiptir. Çalışmamızda CCl_4 'e bağlı oluşan akciğer hasarında Desferal'in koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada 8 haftalık, 150-200 gram ağırlığında, 40 adet Wistar albino türü dişi sıçanlar kullanıldı ve 4 deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubuna 3 hafta boyunca günde bir kez 0,5 ml/kg dozunda zeytinyağı intraperitoneal olarak uygulandı. DFO grubuna salin (SF) içerisinde çözündürülmüş DFO, 3 hafta boyunca günde bir kez 100 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. CCl_4 grubuna 1:1 oranında zeytinyağında çözünmüş CCl_4 , 3 hafta boyunca her gün 0,5 ml/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. Tedavi grubu için: CCl_4 3 hafta boyunca her gün 0,5 ml/kg dozunda intraperitoneal olarak ve DFO 3 hafta boyunca her gün 100 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

3 haftanın sonunda tüm denekler ketamin ve ksilazin ile anestezi edilerek sakrifiye edilmiş olup akciğer dokuları alınmıştır.

Deneklerden alınan sağ akciğer dokularına H&E, PAS ve Masson Trikrom boyamaları uygulanmış olup akciğerin genel morfolojisi bu boyamalarla belirlenmiştir. H&E boyalı preparatlarda septum kalınlığı, vakuolizasyon alveolar makrofaj, perialveoler hemoraji ve interstisyel inflamatuvar hücre reaksiyonu açısından değerlendirilip 0-3 arasında skorlanmıştır. $TNF-\alpha$, Bax, $IL-1\beta$ ve Kaspaz 9 aracılığıyla da immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. Deneklerden alınan sol akciğer dokuları ise biyokimyasal analizleri için kullanılmış olup MDA, CAT ve GPx düzeyleri incelenmiştir.

Yapılan histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal analizler sonucunda, karbon tetraklorüre bağlı oluşan akciğer hasarında Desferal'in anti-inflamatuvar, antiapoptotik ve antioksidan özellikleri vasıtasıyla koruyucu etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karbon tetraklorür, Deferoksamin, Akciğer hasarı, Oksidatif stres, İnflamasyon.

ABSTRACT

Hatice Nur AKILLI, ‘The Protective Effect Of Desferal Against Carbon Tetrachloride Induced Lung Injury’, Zonguldak Bulent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Histology and Embryology, Master of Science Thesis, Zonguldak, 2024

Carbon tetrachloride (CCl₄) is a chemical agent that causes oxidative stress in humans and animals by shaping cellular damage through free radical production.

Deferoxamine (DFO), known by the brand name Desferal, is a trihydroxamic acid siderophore secreted by the fungus *Streptomyces pilosus* and has antioxidant properties. In our study, the protective effect of Desferal on CCl₄-induced lung injury was investigated.

In the study, 40 female Wistar albino rats, 8 weeks old, weighing 150-200 grams, were used and 4 experimental groups were formed. Olive oil was administered intraperitoneally to the control group at a dose of 0.5 ml/kg every other day for 3 weeks. In the DFO group, DFO dissolved in saline was administered intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg once daily for 3 weeks. CCl₄ was administered intraperitoneally at a dose of 0.5 ml/kg every other day for 3 weeks. For the treatment group: CCl₄ was administered intraperitoneally at a dose of 0.5 ml/kg every other day for 3 weeks and DFO was administered intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg every other day for 3 weeks.

At the end of 3 weeks, all subjects were anesthetized with ketamine and xylazine and sacrificed and lung tissues were taken.

H&E, PAS and Masson Trichrome stains were applied to the right lung tissues taken from the subjects and the general morphology of the lung was determined by these stains. H&E stained preparations were evaluated for septum thickness, vacuolization, alveolar macrophages, perialveolar hemorrhage and interstitial inflammatory cell reaction and scored between 0-3. Immunohistochemical examinations were performed using TNF- α , Bax, Il-1 β , Bax and Caspase 9. Left lung tissues from the subjects were used for biochemical analysis and MDA, CAT and GPx levels were analyzed.

As a result of histopathological, immunohistochemical and biochemical analyses, it was observed that Desferal had a protective effect through its anti-inflammatory, antiapoptotic and antioxidant properties in carbon tetrachloride-induced lung injury.

Keywords: Carbon tetrachloride, Deferoxamine, Lung injury, Oxidative stress, Inflammation.

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL ve ONAY:	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLO DİZİNİ	xi
ŞEKİL DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Akciğer Anatomisi ve Fizyolojisi	2
2.2. Akciğer Embriyolojisi	6
2.2.1. Akciğerlerin olgunlaşması	9
2.3. Akciğer Histolojisi.....	13
2.3.1. Bronş ağacı	13
2.3.2. Bronşlar.....	14
2.3.3. Bronşiyoller	15
2.3.4. Alveoler kanallar.....	17
2.3.5. Alveoler keseler	18
2.3.6. Alveoller	18
2.3.7. Akciğerlerin kan damarları	19
2.4. Serbest Radikallerin Tanımı ve Tarihçesi.....	20
2.4.1. Reaktif oksijen türleri	22
2.4.2. Oksidatif stres ve biyomoleküllere etkileri	24
2.5. İnflamasyon ve Akciğer.....	26
2.6. Karbon Tetraklorür	29
2.7. Antioksidanlar.....	30
2.7.1. Süperoksit dismutaz	32
2.7.2. Glutasyon peroksidaz	33
2.7.3. Katalaz	34
2.8. Desferal.....	34
2.9. Apoptoz.....	35

2.9.1. İntinsik yol.....	38
2.9.2. Ekstrinsik yol	39
2.10. Ferroptoz.....	40
2.10.1. Ferroptozun karakteristik niteliği lipid peroksidasyonu	43
2.10.2. Ferroptozun glutasyon ve GPx4 yoluyla düzenlenmesi.....	44
2.10.3. Ferroptozun hücre içi demir öncülüğünde düzenlenmesi	44
2.10.4. Ferroptozun glutasyon ve GPx4 bağımsız yollar vasıtasıyla düzenlenmesi	45
3.GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Deney Hayvanları	46
3.2. Kimyasalların Hazırlanması	47
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü.....	47
3.4. Dokuların Alınması	47
3.5. Doku Takibi	48
3.6. Kesitlerin Alınması ve Rutin Histolojik Boyamalar	49
3.7. Histomorfometrik Değerlendirme	53
3.8. İmmünohistokimyasal Analizler.....	53
3.9. Biyokimyasal Analizler	55
3.10. İstatiksel Analizler	55
4.BULGULAR	56
4.1. Vücut Ağırlıkları ve Akciğer Ağırlıkları	56
4.2. Biyokimyasal Bulgular	58
4.3. Histolojik Bulgular	60
4.3.1. H&E boyama	60
4.3.2. Masson trikrom boyama	71
4.3.3. PAS boyama	74
4.4. Histomorfometrik Analizler.....	75
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular ve H-Skor Analizleri	79
4.5.1. TNF- α boyaması	79
4.5.2. IL-1 β boyaması	81
4.5.3. Kaspaz-9 boyaması	83
4.5.4. Bax boyaması.....	85
5.TARTIŞMA	88
6.SONUÇLAR	96
7.KAYNAKLAR	98

8.EKLER.....	127
Ek 1: Türkçe Etik Kurul Onayı	127
Ek 2: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı	128
9.ÖZGEÇMİŞ	129



SİMGELER VE KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetraklorür
DFO	: Deferoksamin-Desferal
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
H&E	: Hematoksilen & Eozin
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
MDA	: Malondialdehit
OH-	: Hidroksil
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
Sistem Xc	: Sistin-glutamat antipoteri
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- alfa

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Solunum Sistemi Fonksiyonları	2
Tablo 2. Trakea ve Bronş Yapıları Arasındaki Farklar	14
Tablo 3. Bronş ve bronşiyollerin farklılıkları.....	17
Tablo 4. Serbest radikallerin tarihçesi	21
Tablo 5. Serbest Radikal Türleri	23
Tablo 6. Serbest radikal kaynakları	23
Tablo 7. Lenfosit grup ve işlevleri	28
Tablo 8. Ferroptoz moleküllerinin hedefleri ve tesirleri	41
Tablo 9. Deney Grupları.....	46
Tablo 10. Doku takibi süreci	49
Tablo 11. H&E Boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü	50
Tablo 12. Masson trikrom boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü.....	51
Tablo 13. PAS boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü.....	52
Tablo 14. TNF-a, IL-1 β , Kaspaz-9 ve Bax Boyama Prosedürleri.....	54

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Bronşiyal Ağaç, Bronş ve Akciğerler	4
Şekil 2. Akciğer lobları ve yarıkları	5
Şekil 3. Embriyonun kraniyal yarısının sagittal kesiti	7
Şekil 4. Solunum divertikülünün gelişim evreleri	7
Şekil 5. Akciğer Tomurcukları, Bronşlar ve Loblar	8
Şekil 6. Plevral tabakaların gelişimi	9
Şekil 7. Akciğer gelişiminde önemli moleküler etkenler	12
Şekil 8. Bronş Ağacının Oluşumu	14
Şekil 9. Respiratuvar bronşiyol duvarı	16
Şekil 10. Terminal Bronşiyol epiteli hücreleri	16
Şekil 11. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi	22
Şekil 12. Polimorfonükleer lökositler	26
Şekil 13. CCl ₄ mekanizması	30
Şekil 14. Antioksidanların tesir yolları	31
Şekil 15. Antioksidanların sınıflandırılması	31
Şekil 16. SOD enzim mekanizması	32
Şekil 17. SOD tipleri	32
Şekil 18. Se-GPX ve GST nitelikleri	33
Şekil 19. GPx ve GR ilişkisi	33
Şekil 20. Katalaz metabolizması	34
Şekil 21. DFO yapısı	34
Şekil 22. <i>C. Elegans</i> 'ta apoptozu denetleyen genler ve insan genomundaki denkları	36
Şekil 23. Apoptoz izlenen durumlar	36
Şekil 24. Bcl-2 ailesi üyeleri	37
Şekil 25. Kaspazların sınıflandırılması	38
Şekil 26. Apoptozun intrinsik yolu	39
Şekil 27. Apoptozun ekstrinsik yolu	40
Şekil 28. Ferroptoz molekülleri	41
Şekil 29. Temel ferroptoz mekanizmaları	43
Şekil 30. Akciğer dokularının çıkarılması	48
Şekil 31. Vücut ağırlıklarının grup içi karşılaştırılması	56
Şekil 32. Deneklerin son günde vücut ağırlıkları	57
Şekil 33. Deneklerin akciğer ağırlıkları	57
Şekil 34. Deneklerin sağ ve sol akciğer ağırlıklarının vücut ağırlığına bölünerek 100 ile çarpılmasıyla elde edilen veriler	58
Şekil 36. Akciğer dokusunda gruplar arası GPx seviyelerinin kıyaslanması	59
Şekil 37. Akciğer dokusunda gruplar arası CAT seviyelerinin kıyaslanması	60
Şekil 38. Kontrol grubuna ait H&E boyamaları	62

Şekil 39. DFO grubuna ait H&E boyamaları	62
Şekil 40. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	63
Şekil 41. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	63
Şekil 42. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	64
Şekil 43. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	65
Şekil 44. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	66
Şekil 45. CCl ₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması	67
Şekil 46. CCl ₄ grubuna ait H&E boyamaları	68
Şekil 47. CCl ₄ +DFO grubuna ait H&E boyamaları	69
Şekil 48. CCl ₄ +DFO grubuna ait H&E boyamaları	70
Şekil 49. CCl ₄ +DFO grubuna ait H&E boyamaları	71
Şekil 50. Kontrol grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları	72
Şekil 51. DFO grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları	72
Şekil 52. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları	73
Şekil 53. CCl ₄ +DFO grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları	74
Şekil 54. Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularının PAS boyama sonuçları	75
Şekil 55. Akciğer dokusunda gruplar arası septal kalınlığın kıyaslanması	76
Şekil 56. Akciğer dokusunda gruplar arası inflamatuvar hücre sayısının kıyaslanması	76
Şekil 57. Akciğer dokusunda gruplar arası vakuolizasyonun kıyaslanması	77
Şekil 58. Akciğer dokusunda gruplar arası alveolar makrofaj miktarının kıyaslanması	78
Şekil 59. Akciğer dokusunda gruplar arası hemorajinin kıyaslanması	78
Şekil 60. Tüm gruplara ait akciğer dokularının TNF- α proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu	80
Şekil 62. Tüm gruplara ait akciğer dokularının IL-1 β proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu	82
Şekil 63. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki IL-1 β immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları	83
Şekil 64. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Kaspaz 9 proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu	84
Şekil 65. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki Kaspaz 9 immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları.	85
Şekil 66. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Bax proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu	86
Şekil 67. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki Bax immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları	87

1.GİRİŞ

Çeşitli kimyasal maddeler, toksik ajanlar canlı organizmada serbest radikal formlarına evrilerek çeşitli dokular üzerinde büyük tahribatlar yaratabilir (1).

Deneyssel uygulamalarda sıklıkla kullanılan, karaciğer başta olmak üzere akciğer, beyin, kalp ve daha birçok doku üzerinde güçlü tahribatlar yaratan karbon tetraklorür (CCl₄) oldukça iyi bilinen çözücü bir maddedir ve dolayısıyla endüstri başta olmak üzere pek çok alanda kullanımı mevcuttur (2–4).

CCl₄ akciğer dokusu üzerinde lipid peroksidasyonunu dolayısıyla malondialdehit (MDA) seviyelerini artırma, çeşitli antioksidan enzim sistemlerini kısıtlama, apoptozu indüklemeye, DNA bozunmasını artırma gibi etkiler gösterir ve bu durum doku tahribatı ile sonuçlanır (5,6).

Desferal bir demir şelatör olarak bilinmekle birlikte antioksidan özellikleri son yıllarda keşfedilmiştir. Son çalışmalarla birlikte Desferal'in oksidatif stres durumunda regülatör bir aday olabileceği kanaatine varılmıştır (7,8).

Literatür incelemesinin ardından CCl₄ kökenli akciğer tahribatında Desferal'in kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada şelatlama yeteneğine ek antioksidan özellik sergileyen Desferal kullanılarak, CCl₄'ün akciğer hasarı üzerindeki etkileri oksidatif mekanizmalar, apoptotik ve inflamatuvar rotalar vasıtasıyla araştırmak ve literatüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Anatomisi ve Fizyolojisi

Hemen hemen tüm canlılar hayata tutunabilmek ve dolayısıyla enerji ihtiyacını karşılayabilmek için oksijene gereksinim duyarlar. Temelde vücudumuz oksidatif yol ile enerji ihtiyacını karşılar. Elektron taşıma zincirinde (ETZ) son elektron alıcısı oksijen olarak bilinmektedir ve oksijen yokluğu, enerji yokluğu anlamına gelir ve ölümle sonuçlanır. Solunum sistemi canlıya oksijeni sağlayan ve aynı zamanda karbon dioksiti uzaklaştıran bir sistemdir.

Fizyoloji biliminde solunum 4 tip adı altında incelenir (9):

1) Hücresel solunum: Besinlerdeki kimyasal enerjinin oksijen ile birleşerek ATP ismi verilen enerji moleküllerine dönüştüğü oksidatif fosforilasyon süreçleridir.

2. Dış (Pulmoner) Solunum: Akciğerler ve kan arasında gerçekleşen oksijen (O_2) ve karbondioksit (CO_2) değişimi olarak nitelendirilir.

3. İç (Doku) Solunum: Kan ve sistemik dokular arasında gerçekleşen CO_2 ve O_2 değişimi olarak nitelendirilir.

4. Ventilasyon (Soluk Alma-Verme): Akciğerler ve hava arasında cereyan eder. İnspirasyon (soluk alma) ve ekspirasyon (soluk verme) adı verilen iki fazı bulunmaktadır.

Solunum Sisteminin Fonksiyonları Tablo 1’de listelenmiştir (9):

Tablo 1. Solunum Sistemi Fonksiyonları

Solunum Sistemi Fonksiyonları
Akciğer dokusunda kan ile hava arasında gaz alışverişini gerçekleştirmek ve havayı gaz alışverişi alanına götürmek
Solunum yüzey tabakasını çeşitli çevresel faktörlere (örneğin: dehidrasyon, sıcaklık değişimleri) karşı korumak
Sistemi ve başka dokuları patojen girişine karşı kollamak
Sesin meydana gelmesini sağlamak

Koku epiteli vasıtasıyla koku alınmasına katkıda bulunmak

Homeostazın korunmasına destek sağlamak

Kanın pH değerinin belli sınırlar içerisinde tutulmasına yardımcı olmak

Solunum sistemi kaslarının vasıtasıyla idrar çıkarmında, defekasyonda ve doğum sürecinde abdominal kompresyona destek olur.

Solunum sistemi anatomik olarak iki kısımda analiz edilir (10):

* Üst solunum sistemi: Burun, paranasal sinüsler ve farinksi içine alır.

* Alt solunum sistemi: Larinks, trakea, bronşlar ve akciğerleri içine alır.

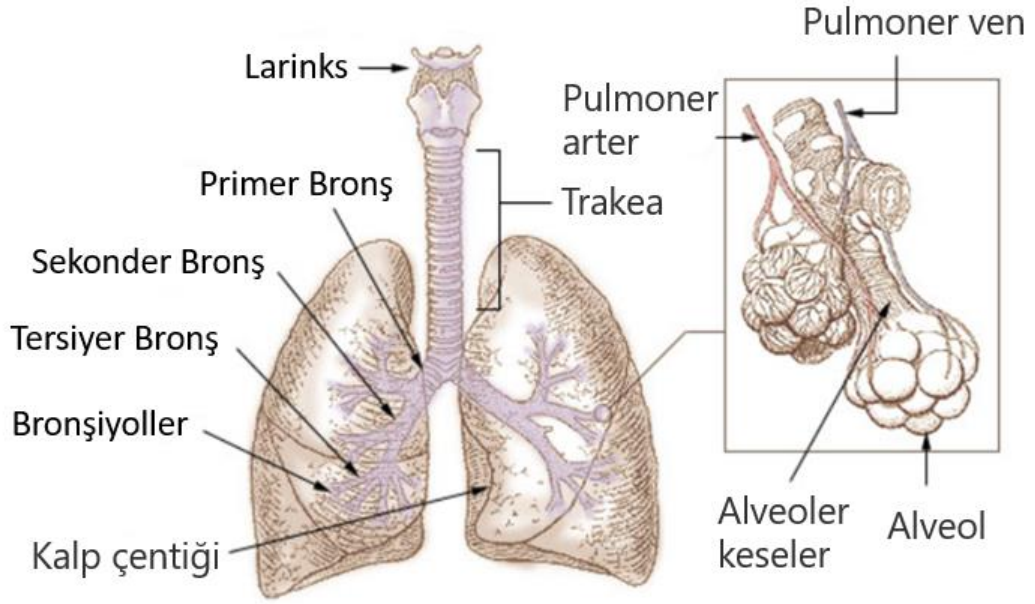
Solunum sistemi fonksiyonel olarak ise iki kısımda analiz edilir (10):

* İletici Bölüm: Gaz alışverişinin gerçekleşmediği lakin havanın gaz alışverişinin cereyan ettiği alanlara gelmeden önce elverişli bir duruma getirildiği bölüm olmakla birlikte burun, farinks, larinks, trakea, bronşlar ve geniş bronşiyollerden (bronşiyoller ve terminal bronşiyoller) meydana gelir.

* Respiratuvar Bölüm: Hava ile kan arasında gaz alışverişinin gerçekleştiği diğer bir ifadeyle solunumun yapıldığı kısım olup, respiratuvar bronşiyoller, duktus alveolaris (alveol kanalları), saccus alveolaris (alveol keseleri) ve alveolleri içerir.

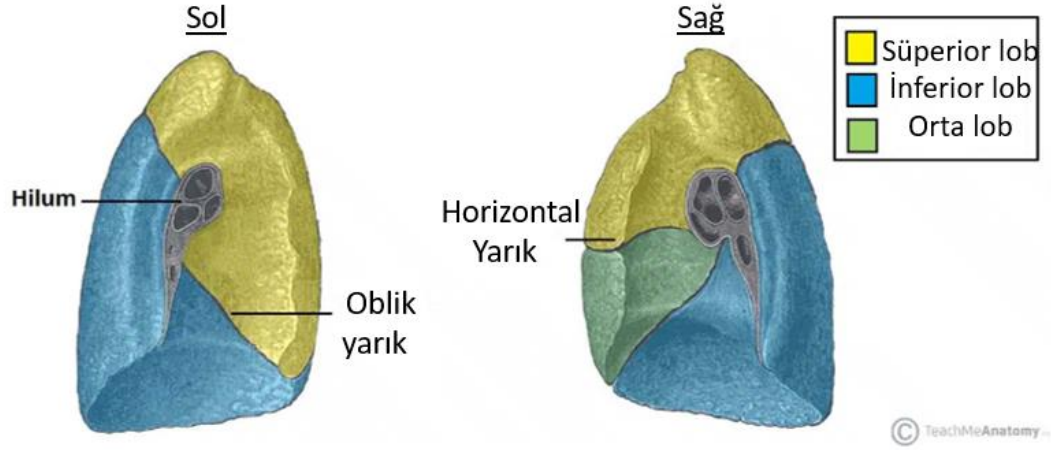
Trake, T4 vertebranın alt düzeyinde (Y) şeklinde iki ana bronşa ayrılmak suretiyle bifurcatio trachea'da bölünür (11). Her ana bronş akciğer içine uzanır. Yabancı partiküllerin, sağ ana bronşa kaçma olasılığı daha yüksektir. Çünkü sağ ana bronş daha kalın ve daha dikey konumludur. Ana bronşlar devam ettikçe lobar bronşları ve segmental bronşları oluşturlar. Bronşiyal ağaç bronşiyoller denilen daha küçük tübüller şeklinde devam eder (12–14).

Bronş, Bronşiyal Ağaç ve Akciğer



Şekil 1. Bronşiyal Ağaç, Bronş ve Akciğerler (15)

Akciğerler süngerimsi yapıya sahip olmakla birlikte suda yüzebilir ve 2 adet olarak bulunurlar. Sağ akciğer yaklaşık 625 gram, sol akciğer ise 565 grama tekabül eder. Akciğerler çocukluk döneminde pembe renkte, yaşlılıkta ise gri renkte izlenir. Her iki akciğerde çift katmanlı membrandan oluşmuş, adı plevra (pleura) olarak bilinen kese içerisinde yer almaktadır (16,17). Bu membranın akciğer dokusunun dış yüzünü çevreleyen tabakasına visseral plevra ismi verilirken göğüs kafesinin yüzeyindeki tabakasına ise parietal plevra ismi verilmektedir. Her iki plevra tabakası arasında bir boşluk bulunur ve bu yapıya plevral boşluk adı verilir. Plevral boşluk membranlardan meydana gelen sıvı vasıtasıyla nemlendirilir. Ve böylelikle her nefes almada plevra tabakaları birbirini üzerinden zorlanmadan kayabilir. Her iki plevra da tek sıralı yassı hücrelerden meydana gelen mezotel ile altında yayılan, çeşitli lifler yani elastik ve kolajen lifler ihtiva eden bağ dokusundan biçimlenir (18). Sağ akciğer, soldakine göre %10 kadar daha büyüktür. Sağ akciğer üç loba sahipken, sol akciğer iki loba sahiptir. Bu loblar iki farklı yarı ile meydana getirilmiştir. Oblik yarı her iki akciğerlerde de mevcudiyet gösterir halbuki horizontal yarı yalnızca sağ akciğerde vardır (9).



Şekil 2. Akciğer lobları ve yarıkları (19)

Bu yarıkların vesilesiyle sağ akciğer lobus superior, lobus medius ve lobus inferior; sol akciğer ise lobus superior ve lobus inferior'dan oluşmuştur. Her iki akciğerde lobların haricinde onar adet bronkopulmoner segmente bölünmüş durumdadır. Bu segmentlerin her bir tanesi kısmen bağımlı olmayan küçük akciğercikler gibi işlev görürler. Bunu sebebi ise her bir segmentin farklı damar ve sinirlere sahiplik etmesidir. Segmentler çevresi elastik bağ dokusu ile çevrilmiş lobül adı verilen daha küçük ünitelerden oluşmuştur. Lobül ise yüzlerce alveolden meydana gelmiştir (9).

Göğüs boşluğunun orta noktasında iki plevral kese arasında kalan kısım mediastinum olarak isimlendirilir. Mediastinum, yukarı kısımda toraks üst açıklığı, aşağı kısımda diyaframa, ön kısımda sternum ve kıkırdak kaburgalar ile yan kısımlarda mediastinal plevra ile çevrilmiştir (9,20).

Akciğer dokusuna iki grup atardamardan kan ulaşır. Akciğeri besleyecek kan bronkial arterden gelirken, işlevi dolayısıyla oksijene doyuracağı deoksijenize kan ise pulmoner arterden gelmektedir. Akciğer dokusu toplamda kan hacminin yaklaşık %9'u oranıyla, 450 ml civarı kan ile varlık gösterirler. Akciğerin lenfi, bronkopulmoner yol vasıtasıyla trakeobronkial lenf düğümlerine akış göstermektedir (9).

Akciğer dokusunun inervasyonu otonom sinirler tarafınca gerçekleştirilir. Sempatik etki bronkodilatasyona sebep olurken parasempatik etki bronkokonstriksiyona sebep olur. Anafilaktik şokta epinefrinin hayata döndüren kritik

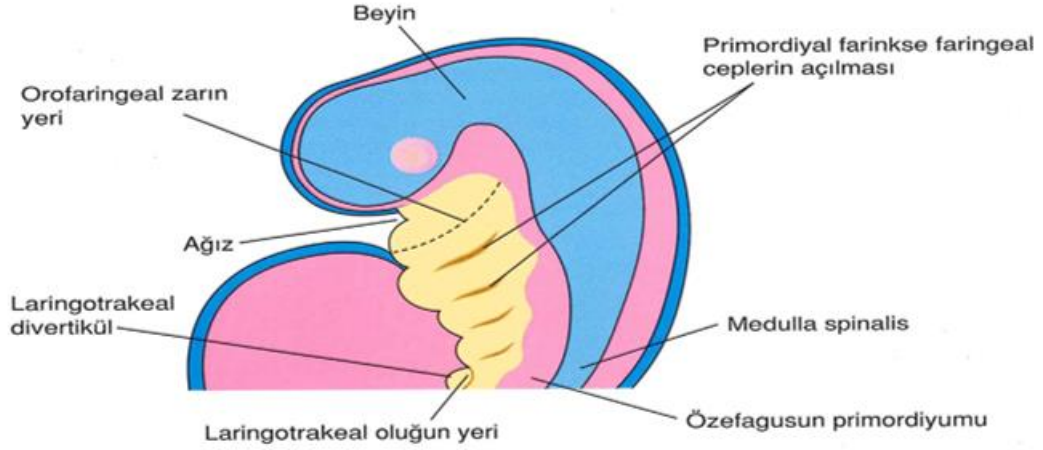
niteliklerinden biri olan bronkodilatasyon tesiri, daralmış durumdaki solunum yollarını genişletmesi suretiyle ortaya çıkar (9).

Alveoller akciğer dokusunun işlevsel birimleri olarak bilinirler. Bu yapılar gaz değişiminin gerçekleştiği yerlerdir ve bu görev için elzem olan yüzey alanını büyütürler. Böylelikle akciğer dokusunda yaklaşık 75 m²'lik bir hayli büyük bir alan oluşturulur (10). Dış çehresi üzüm salkımlarını andırır. Her bir akciğerde ortalama 300 milyonun alveol yer alır. Boyutları ortalama olarak 25 mikro metre çapında olmakla birlikte alveolar membran ise yaklaşık 0.4 mikrometre kalınlığa sahiptir ve üst düzey geçirgenliğe sahiptir. Alveollerin saran kapiller de aynı alveolar membran gibi üst düzey geçirgenliğe ve ince duvarlara sahiptir. Bunların sonucunda ise gaz değişim görevi rahatlıkla ve hızlı şekilde gerçekleştirilebilir (9).

Alveoller, alveolar kese vasıtasıyla ile alveolar kanala açılmaya başlarlar. Alveol, tek katlı yassı epiteli ile örtülmüştür. Bu hücreler Tip I pnömosit hücreler olarak bilinir. Sadece Tip I değil Tip II pnömositlerde vardır. Bunlar daha minik ve çevreye dağılmış halde görülen kübik salgı hücreleridir. Tip II hücreler kritik öneme sahip bir fonksiyona sahiptirler (21). Bu hücreler alveolün kollaps olmasını daha basit bir anlatımla balon gibi sönmelerini önlemek için deterjan benzeri yüzey gerilimini azaltan bir madde olarak bilinen fosfolipit ve proteinlerden oluşmuş surfaktant adında bir madde salgırlar (12–14,21). Bu madde su molekülleri ile bağlantıya geçerek yüzey gerilimini düşürür ve alveollerin açık olarak kalmasına imkân tanır. Ek olarak fagositik alveolar makrofajlar bulundurulur. Bu makrofajlar alveole girmeye çalışan yabancı maddeleri, mikroorganizmaları, tozları vs. imha ederler (21).

2.2. Akciğer Embriyolojisi

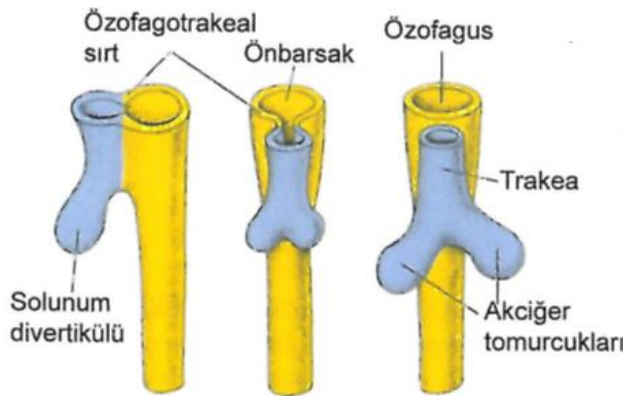
Solunum primordiyumu, ilkel farinks ventral duvarının kaudal uç kısmında orta eksende takriben 28. günde laringotrakeal oluk şeklinde izlenmeye başlar (Şekil 3). Trakeobrankiyal ağacın bu primordiyumu, 4. faringeal cep çifti kaudal kısmında büyür. Laringotrakeal oluk yapısının endodermal kökenli döşemesi, akciğer, larinks, trakea ve bronşların epitel ve bezlerini ortaya çıkarır. Bu yapılarda bulunan diğer kısımlar yani bağ doku, kıkırdak doku ve düz kaslar önbağırsak etrafında bulunan splanknik mezoderminden köken alır (22).



Şekil 3. Embriyonun kraniyal yarısının sagittal kesiti (22)

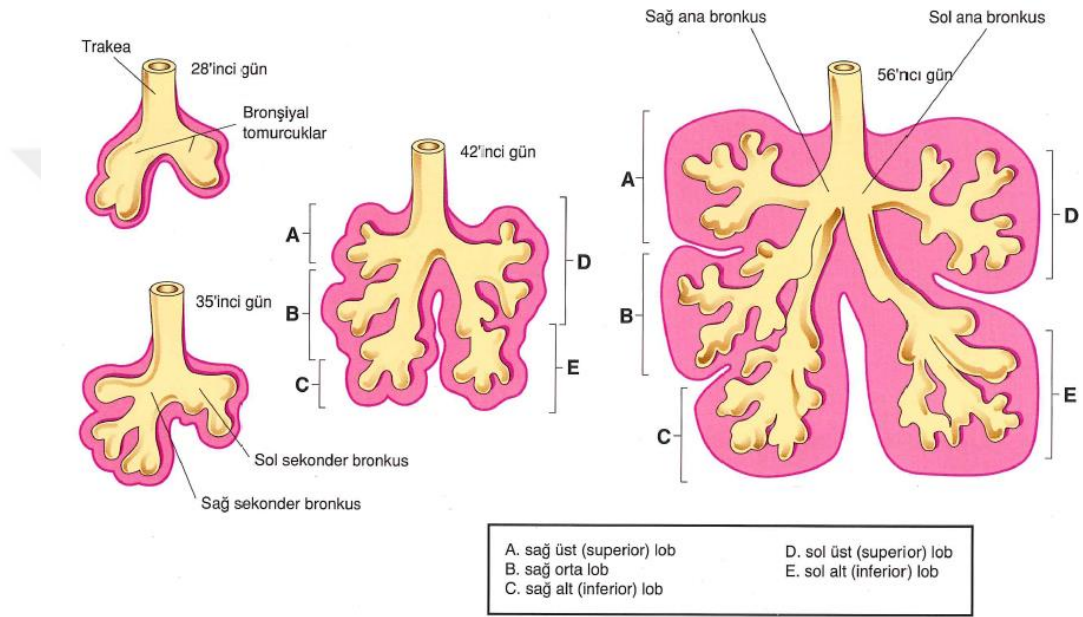
Embriyo yaklaşık olarak 4 haftalıkken solunum divertikülü (laringotrakeal divertikulum) önbarsağın ventral duvarından bir kabartı şeklinde ortaya çıkar. Divertikülün önbarsak kanalının hangi kısmından tomurcuklanacağı etrafında bulunan mezenşim dokudan ulaşan sinyaller ve fibroblast büyüme faktörleri (FGF) adı verilen faktörlerce belirlenmektedir (23).

Divertikül, uzamaya devam ettikçe splanknik mezoderm tarafından sarmalanır ve distal uç kısmı solunum tomurcuğunu biçimlendirmek için büyür. Divertikülde gelişim gösteren uzunlamasına trakeaözefageal katlantılar, birbirlerine doğru ilerler ve trakeaözefageal septum ismi verilen bölmeyi meydana getirme amacıyla birbirlerine entegre olurlar. Bu da önbarsağın dorsal kısımda özofagus, ventral kısımda trakea ve akciğer tomurcukları şeklinde ikiye bölünmesi ile sonuçlanır. Bununla birlikte solunum taslağı farinks ile olan ilişkisini laringeal orifis ile sürdürmeye devam eder (22,23) (Şekil 4).



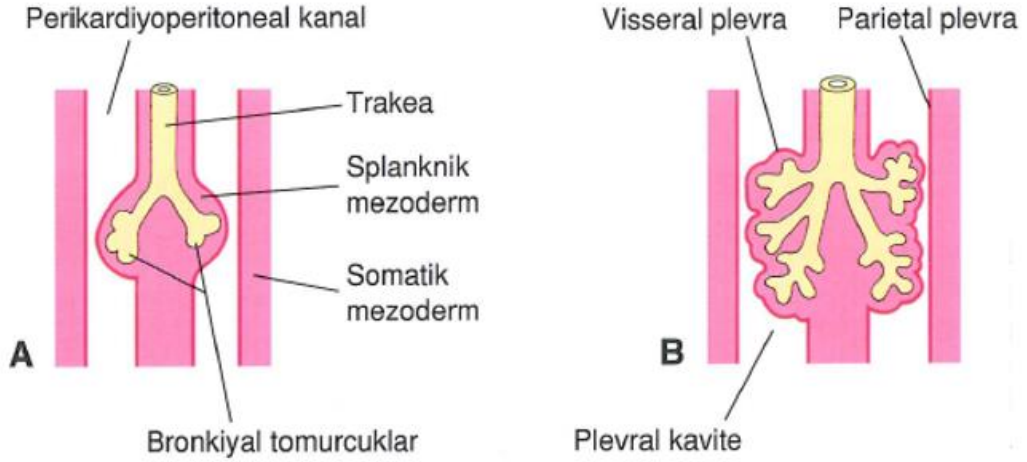
Şekil 4. Solunum divertikülünün gelişim evreleri (23)

Beşinci haftanın başlarında tomurcuklar genişlemeye başlarlar. Bu genişlemenin sonucunda sağ ve sol ana bronşları biçimlendirirler. Embriyonun sağ ana bronşu sol ana bronşuna göre bir miktar daha büyük ve daha dikey yerleşimde izlenir. Mevcut embriyonik ilişki yetişkinlerde de aynı şekilde kalır. Bundan dolayı yabancı bir materyalin sağ ana bronşa girme olabilirliği, sol ana bronşa kıyasla daha yüksektir (22). Sonraki aşamada ise, sağ ana bronştan üç, sol ana bronştan ise iki tane sekonder bronş meydana gelir. Böylelikle sağ akciğerin üç loblu ve sol akciğerin ise iki loblu olarak var olacağı kesinleştirilmiş olur (Şekil 5).



Şekil 5. Akciğer Tomurcukları, Bronşlar ve Loblar (22)

Dolayısıyla lateral ve kaudal yönelimlerde gelişmelerini sürdüren akciğer tomurcukları vücut boşluğuna gömülme sürecine geçerler. Perikardiyoperitoneal kanal ismiyle bilinen ve akciğerlerin doldurduğu bu boşluklar bir miktar dar olarak bilinmektedir. Önbarsağın her iki cephesinde yer alan bu kanallar zamanla kademeli olarak genişleyerek büyüyen akciğer tomurcukları eşliğinde doldurulurlar. Sonunda, perikardiyoperitoneal kanallar peritoneal ve perikardiyal boşluk adı verilen boşluklarda sırasıyla plevroperitoneal ve plevroperikardiyal katlantılarla bölünür ve arda kalan boşluklar ise primitif plevral boşluk ismini alır. Akciğeri dış kısımdan örten mezoderm tabakası visseral plevraya evrilir. Vücut duvarının iç yüzünü kaplayan somatik mezoderm tabakasından ise paryetal plevra şekillenir. Paryetal ve visseral plevralar arasında kalan boşluk ise plevral boşluk olarak adlandırılır (23) (Şekil 6).



Şekil 6. Plevral tabakaların gelişimi (22)

A; 5. Hafta B; 6. Hafta.

Gelişimin ileri ki evrelerine doğru, sekonder bronşlar periyodik dikotom bölünmeler vasıtasıyla sağ akciğerde 10, sol akciğerde ise 8 adet tersiyer (segmental) bronş meydana getirir ve böylelikle ergin akciğerindeki bronkopulmoner segmentlerin oluşmasını şekillendirir. Altıncı ayın sonuna gelindiğinde kabaca 17 yeni bronş nesli şekillenir. Bronşiyal ağaç nihai haline gelmeden postnatal hayatta 6 ek bölünme daha geçirecektir. Bronş dallanmaları akciğer tomurcuklarının endoderm tabakası ile etrafında bulunan splanknik mezoderm arasında gelişen epitelyal mezenşimal etkileşimler vasıtasıyla ayarlanır. Dallanmayı başlatacak olan sinyaller mezodermde bulunan FGF ailesinden ulaşır. Yeni bölünmelerle birlikte bronşiyal ağaç gelişmeye devam eder, akciğerler ise daha kaudal bir yönde konumlanır ve trakeal bifurkasyon bebeğin doğumunun ardından 4. torasik vertebra'nın tam karşısına doğru gelir (23).

2.2.1. Akciğerlerin olgunlaşması

Akciğerlerin olgunlaşması dört safhada incelenir:

1) Psödoglandular Safha

6. Haftadan 16. Haftaya kadar süren safhadır. Gelişimini sürdürmekte olan akciğerler bu safhada histolojik olarak kısmen ekzokrin salgı bezlerine eşdeğer olarak gözlemlenirler (22). Dallanmalar terminal bronşiyolları biçimlendirmek üzere devam

eder. Lakin respiratuar bronşiyoller veya alveoller bu safhada mevcut değildir (23). Özetle bu safhanın sonuna kadar olan zaman diliminde, gaz alışverişi ile alakalı bileşenler dışında akciğerlerin bütün ana bileşenleri biçimlenir. Lakin bu safhada solunum olanaksız olduğundan bu safhada doğan fetuslar yaşamla bağdaşmaz (22).

2) Kanaliküler Safha

16. haftadan, 26. haftaya kadar süren safhadır. Akciğerlerin kranial segmentleri kaudal segmentlerinden daha çabuk gelişir. Bu yüzden bu safha psödoglanduler safha ile kesişir. Bu safhada bronşların ve terminal bronşiyollerin lümenleri genişler ve akciğer dokusu oldukça damarlı bir hal alır.

24. haftaya dek, her bir tane terminal bronşiyolden iki veyahut daha çok respiratuar bronşiyol biçimlenir. Respiratuar bronşiyollerinin her bir tanesi de üç ila altı tane alveolar kanallar ismi verilen geçit benzeri yapılara bölünür. Bu safhanın sonuna doğru gelindiğinde solunum olanaklı hal alır. Zira respiratuar bronşiyollerin uç kısımlarında ince duvarlara sahip terminal keselerin (alveollerin başlangıç biçimi) bir bölümü oluşmuştur ve akciğerler oldukça iyice damarlanma göstermiştir. Bu safhanın sonuna doğru gerçekleşen bir doğumda, fetusun solunum dahil geri kalan sistemleri hala yeterince gelişme göstermemiş olmasından dolayı fetus yaşamla bağdaşmaz fakat yoğun bakım şartları altında yaşatılması olasıdır (23).

3) Terminal Kese Safhası

26. Haftadan Doğuma Kadar süren safhadır. Bu safhada daha çok miktarda terminal kese (primitif alveoller) ya da kesecikler gelişme gösterir aynı zamanda mevcut keselerin epitel yapısı oldukça ince bir hal alır. Kapiller ise mevcut keselerin içine doğru kısmına doğru çıkıntı yapmaya yönelirler. Epitel ve endotel hücreleri arasında bulunan yakın etkileşim, prematüre doğum sonrasında dahi fetusun bile hayata tutunması için kâfi gaz alışverişini temin edecek kan-hava bariyerini meydana getirir. 26. haftaya dek, terminal keseler gaz alışveriş görevini icra eden endodermal kökenli yassı epitel hücreleri yani Tip I pnömositler ile kaplanmış hale gelir. Gelişmekte olan alveollerin etrafındaki mezenşim içerisindeki kapiller ağı büyük bir hız ile artar ve lenfatik kapiller de aynı zamanda faal bir şekilde ilerleme sergiler. Yassı epitel hücreleri aralarına serpilmiş, salgı yapma görevi olan epitel hücreleri yani Tip II pnömositler pulmoner sürfaktan salgırlar. Sürfaktan, alveolar keselerin iç yüzeyleri

üstünde tek moleküllü bir katman meydana getirir ve böylelikle hava-alveol arasında paylaşılan yüzeyde, yüzey gerilimini azaltır.

Farklı gebelik dönemlerindeki fetuslarda Tip II pnömositlerin yetişmesi ve sürfaktan yapımında geniş çaplı dönüşümler izlenir. Sürfaktan yapımı hamileliğin sonlarına doğru, bilhassa son iki haftada artış gösterir. 26.-28. haftalarda doğan prematüre bir fetus yaşamını devam ettirmesini sağlayacak düzeyde alveolar kese ve sürfaktan hali hazırda bulunur. Ancak 24.-26. haftalarda doğan prematüre fetuslar sürfaktan noksanlığı sebebiyle solunum güçlüğü çekebilirler. Bu fetusların hayata tutunabilmesi için yoğun bakım koşulları sağlanması koşuluyla, sürfaktan yapımını tetikleyen antenatal kortikosteriodların istifadesi ve ek olarak postnatal sürfaktan yerine koyma tedavisi vasıtasıyla sürfaktan ihtiyacı karşılanır (22,23).

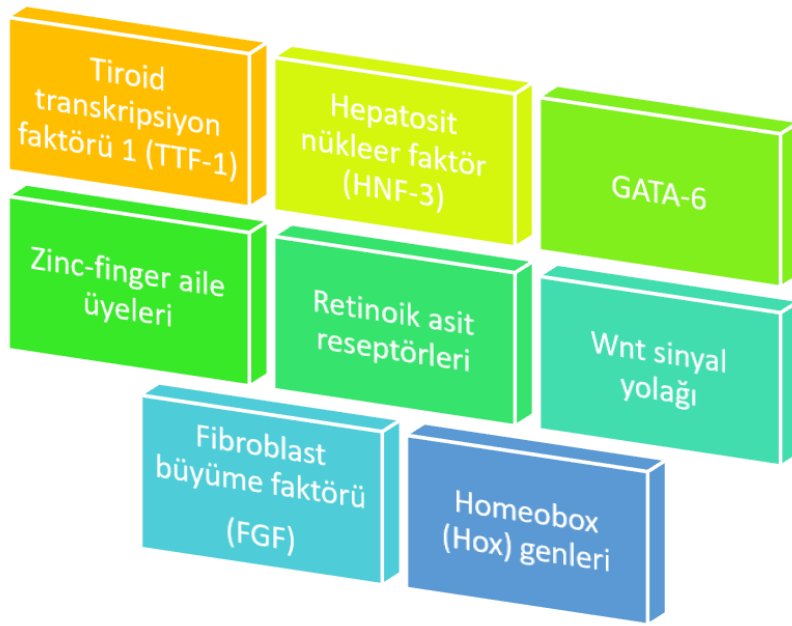
4) Alveolar Safha

32. Haftadan 8 Yaşa Kadar süren safhadır. Terminal keselerin sayısı muazzam şekilde artmayı sürdürür. Terminal keselerin epitel kaplaması incelmekle birlikte Tip I pnömositler de incelir. Bitişikte bulunan kapiller terminal keselerin içine çıkıntı oluşturur. Epitelyal ve endotelyal hücreler arasındaki yakın temas kan-hava bariyerini oluşturur (23). Geç fetal safhaya doğru, akciğerler solunumu yapabilir hale gelir. Ancak bebek doğduğunda görevlerini yapabilmeleri için oldukça iyi gelişmiş olmalıdırlar. Alveolar safhanın başlarında, her bir respiratuvar bronşiyol alveolar keselerden meydana gelen bir küme içerisinde sona erer. Bu kesecikler gelecek zamandaki alveol kanallarını simgeler. Gaz alışverişi görevi için plasentaya bağdaşık olma vaziyetinden bağımsız gaz alışverişine geçiş süreci, akciğerlerde alveolar keselerde sürfaktan yapımı, salgı yapan bir organ olmaktan ziyade gaz alışverişi yapan bir organa evrilme, paralel pulmoner ve sistemik dolaşımların biçimlenmesi gibi ahenge dayalı değişikliklerin vuku bulmasına bağlıdır (22).

Olgun alveoller doğum sonrası periyota dek biçimlenmezler (23). Kabaca %95'lik oranla postnatal periyotta gelişim gösterirler. Doğumdan önce, primordiyal alveoller respiratuvar bronşiyollerin ve alveolar keselerin üzerine doğru minik kabartılar olarak izlenirler. Doğum süreci sonrası primordiyal alveoller akciğerler genişlemeye devam ettikçe büyürler. Alveolar gelişme 3 yaşına dek ağırlıklı oranda nihayete erer lakin kabaca 8 yaşa kadar yeni alveoller ilave edilebilir. Olgunlaşmamış alveollerin ek primordiyal alveol oluşturma gücü vardır. Bu alveoller boyutları

büyüdükçe, olgun alveoller haline gelirler. Alveol miktarının çoğalmasını indükleyen esas işleyiş, hali hazırda bulunan primordiyal alveolleri iki parçacığa ayıran ikincil bağ dokusu bölmelerin meydana gelmesidir. Bu bölmeler başlarda nisbi olarak kalın şekilde izlenir lakin oldukça hızlı bir zaman dilimi içerisinde daha ince ve gaz alışverişine elverişli hale gelirler. İdeal vaktinde doğan bebeğin akciğerlerindeki primordiyal alveol miktarı kabaca 150 milyondur lakin bu miktar yetişkinlerde bulunan primordiyal alveol sayısının kabaca yarısı kadardır. Dolayısıyla yenidoğanların akciğerleri göğüs radyografik görüntülemelerinde yetişkinlere kıyasla daha yoğun bir halde izlenirler. 3-8 yaşları arasında 300 milyon alveol miktarı elde edilmiş olur (22).

Akciğer gelişiminde çeşitli gen aileleri, transkripsiyon faktörleri gibi önemli moleküler etkilerde mevcuttur (Şekil 7).



Şekil 7. Akciğer gelişiminde önemli moleküler etkenler

Gerçek zamanlı ultrasonografisi vasıtasıyla tespit edilebilen fetal solunum hareketleri (FSH), bir parça amniyotik sıvının akciğerlere solunması gayesi ile kâfi kuvveti icra ederek doğum öncesinde meydana gelir. FSH, zaman zaman belirir ve akciğer gelişimi için elzemdir. FSH erken doğum ve doğum teşhisinde fetusun vaziyetinin gözden geçirilmesinde sıkça tercih edilir. Fetus doğum anına kadar birkaç ay solunum antrenmanı avantajını edinir. Doğuma doğru artış gösteren FSH, olasılıkla solunum kaslarını hazır hale getirmektedir. Bununla birlikte FSH olasılıkla akciğerler

ile amniyotik sıvı arasında bir basınç farkı meydana getirerek akciğerlerde gelişmeyi uyarır. Akciğer gelişimi için kâfi toraks boşluğu, FSH ve amniyotik sıvı hacmi kritik öneme sahip faktörlerdir (22).

2.3. Akciğer Histolojisi

2.3.1. Bronş ağacı

Bronş ağacının oluşum sürecinin ilk adımı trakeanın iki adet primer bronşa (ekstrapulmoner bronş) bölünmesidir. Akciğere girmeden az evvel sağ primer bronş dallanma vasıtasıyla iki sekonder bronşu biçimlendirir. Sol kısımda primer bronş sol akciğere giriş yaptıktan sonra üst ve alt sekonder bronşlara dallanarak büyür. Bronşların akciğerlere giriş yapması nihayetinde intrapulmoner bronş adıyla nitelendirilir. Sekonder bronşlar üst ve alt akciğer lobuna iştirak eder. Alt sekonder bronştan ilerleyen süreçte ayrı düşen bir dal ise orta akciğer lobuna doğru ilerleme kaydeder. Sağ akciğer üç loba sahip olduğundan sağda 3 adet sekonder bronş mevcut iken sol akciğer iki loba sahip olduğu için solda iki adet sekonder bronş mevcuttur.

Loblar içerisinde dallanma sergileyen sekonder bronşlar bronkopulmoner segmentlere dağılıp giden tersiyer bronşları biçimlendirir. Sağda 10 tane segment bulunduğu sağda 10 tane tersiyer bronş mevcut iken, solda 8 adet segment bulunduğu 8 tane tersiyer bronş mevcuttur. Tersiyer bronşların çapı 1 mm'den daha aşağılara kaydığında bronşiyol adını alan yapıya dönüşürler. Bronşiyoller de dallanmayı sürdürerek, neticede çapları 0.5 mm veyahut daha az olan terminal bronşiyollerini biçimlendirirler. Terminal bronşiyoller, respiratuvar bronşiyoller ile, respiratuvar bronşiyoller de alveol kanalları sürüp gider. Kanalın terminal kısmı büyüyerek alveol keseleri meydana getirir. Alveollerin açıldığı boşluklar bu keselerdir (10).



Şekil 8. Bronş Ağacının Oluşumu

2.3.2. Bronşlar

Primer bronşlar, histolojik yapıları bakımından trakeaya özdeşir farklı olarak çap boyutları açısından daha dar izlenir. Bronş duvarı mukoza, submukoza, kıkırdak ve adventisya tabakalarından meydana gelir. Mukoza, epitel, lamina propria ve muskularis mukozayı ihtiva eder (10).

Bronşlar akciğere girer ve ardından duvar yapılarında çeşitli histolojik farklılıklar görülmeye başlar (Tablo 2).

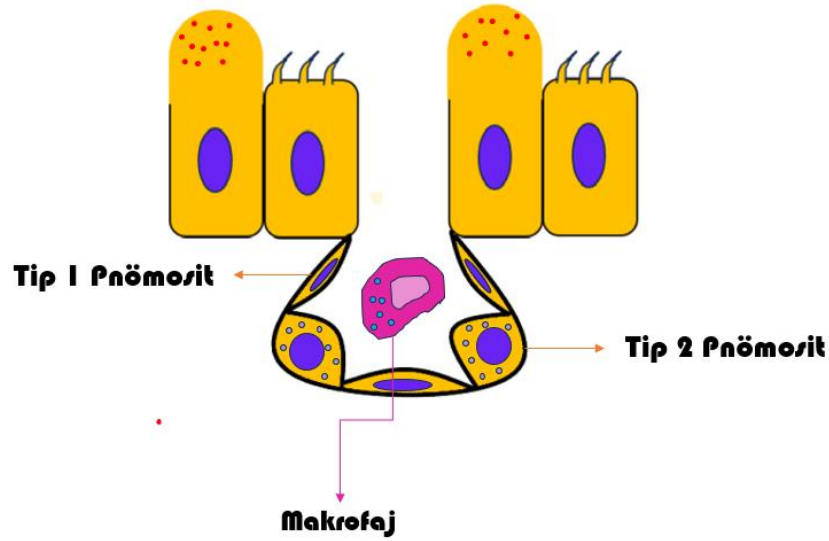
Tablo 2. Trakea ve Bronş Yapıları Arasındaki Farklar

Histolojik Özellik	Trakea	Bronş
Epitel Tipi ve Yapısı	Yalancı çok katlı prizmatik epitel – Kalın.	Yalancı çok katlı prizmatik epitel – İnce.
Epitel yapısında goblet hücre varlığı	Çok miktarda goblet hücresi bulundurur.	Mukayese edildiğinde daha az olduğu ve dallanmayla azaldığı izlenir.
Kinosilyum yapı varlığı	Sık şekilde izlenir.	Dallandıkça azalma eğilimindedir.
Muskularis Mukoza	Mevcut değildir.	Mevcuttur, büyük bronşlarda tam bir tabaka şeklinde iken küçük bronşlarda kesintili izlenebilir.
Bazal Membran	Kalın izlenir.	İncedir, dallandıkça izlenemeyebilir.
Lamina propria ve elastik lif yoğunluğu	Lamina propria – submukoza sınırlarında yoğun olarak izlenir.	Yoğundur ve dallanmayla da artar.

Kıkırdak Şekli	C şekli görünümündedir.	Parçalı olarak izlenir, dallandıkça küçülme eğilimindedir.
Advenstisya	Belirgin şekilde izlenir.	Nispi olarak incedir ve dallanmayla incelmeye devam eder.
Submukozada serömüköz bez varlığı	Mevcuttur.	Mukayese edildiğinde daha az serömüköz bez izlenir.

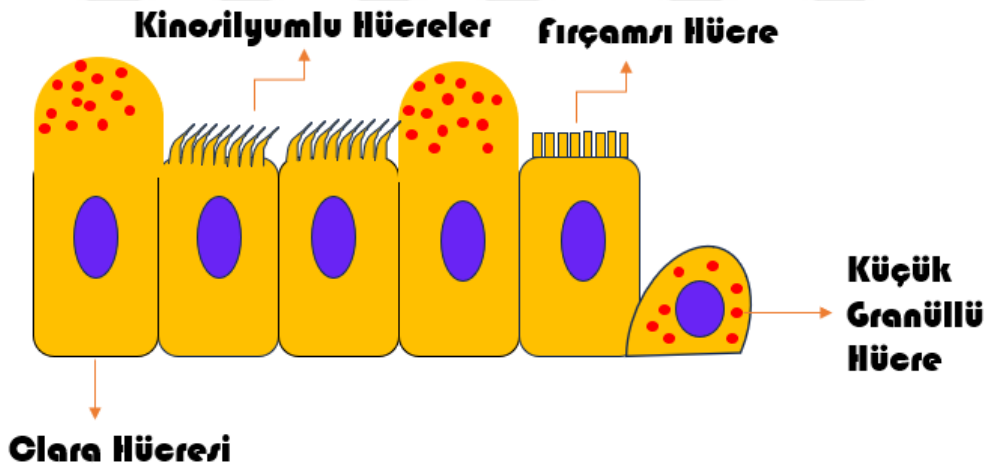
2.3.3. Bronşiyoller

Bronşiyoller, çapları 1 mm veya daha dar olan borucuklar olarak bilinirler. Epitel başlangıçta seyrek aralıklı goblet hücreleri ihtiva eden yalancı çok katlı kinosilyum içeren prizmatik epiteldir. Daha sonradan bronşiyol çapı daralmaya başladıkça epitelde değişikliğe uğramaya başlar ve kinosilyumlu tek katlı prizmatik epitel tipine başkalaşır. Terminal bronşiyoller tek katlı alçak prizmatik veya kübik epitel tipine sahipken, respiratuar bronşiyoller tek katlı kübik epitel tipi ile donatılmıştır. Terminal bronşiyollere doğru ilerledikçe goblet hücreleri yok olmaya başlarken, respiratuar bronşiyollerin ardından ise kinosilyumlar yok olur. Goblet hücrelerinin kinosilyumlardan önce yok olmalarının önemi oldukça büyüktür. Bu şekilde sistemde mukus birikiminin önüne geçilmiş olur. Eğer tam tersi olsaydı goblet hücreleri vasıtasıyla salınan mukus sistemde birikmeye başlayarak ilerleyen dönemde alt solunum yollarına yönelerek tıkanma durumuna olanak sağlayacak idi. Ek olarak respiratuar bronşiyol duvarı bu kısma açılan alveollerce kesintiye uğratılır (Şekil 9) Respiratuar bronşiyollerin ardından iletici kısım biter respiratuar kısım devreye girer.



Şekil 9. Respiratuar bronşiyol duvarı

Terminal ve respiratuar bronşiyollerde silyumlu hücreler haricinde çeşitli hücreler bulunur (Şekil 10). Bunlar Clara hücreleri, fırçası hücreler ve granüllü hücrelerdir. Clara hücreleri lipoprotein kompozisyonunda madde sentezi yapan, yoğunlukla respiratuvar bronşiyollerde izlenen hücrelerdir.



Şekil 10. Terminal Bronşiyol epiteli hücreleri

Bu hücrelerin apikal kısımları lümen kısmına doğru bir kubbe şeklinde şiştiği için diğer hücre yapılarından ayırt etmek oldukça basittir. Bu hücreler elektron mikroskopik düzeyde ise sitoplazma kısmında fevkalade gelişme göstermiş granüllü endoplazmik retikulum (gER), supranükleer konumlu golgi, mitokondriyon ve oldukça fazla miktarda sekratuvar granül barındırır. Bu sebeplerle hem protein sentezi yapan hücre karakteri sergiler hemde granül içeriği gereği asidofil boyanırlar (10). Bu

madde bronşiyollerin havalanmasını yüzey gerilimini azaltma yolu ile kolaylaştırarak bronşiyollerini oksidatif etkilere ve inflamasyona (yangı) karşı koruyup kolları. Clara cell protein (CC16) clara hücrelerince imal edilen bir proteindir ve bu proteinin azalması bronşiyol tahribatı belirteçidir (24).

Bronş ve bronşiyoller arasındaki farklar Tablo 3’de listelenmiştir:

Tablo 3. Bronş ve bronşiyollerin farklılıkları

Histolojik Özellik	Bronş	Bronşiyol
Epitel Tipi	Yalancı çok katlı prizmatik epitel	Tek katlı prizmatik epitel Tek katlı kübik epitel
Epitel yapısında goblet hücre varlığı	Mevcuttur.	Terminal bronşiyol yakınlarında silinir.
Kinosilyum yapı varlığı	Mevcuttur.	Respiratuvar bronşiyollerin ardından izlenmez.
Epitel dokuda Clara hücre varlığı	Mevcut değildir.	Mevcuttur.
Muskularis Mukoza	Mevcuttur, küçük bronşlarda kesintili izlenebilir.	Duvarın en bariz tabakasıdır.
Lamina propriya ve elastik lif yoğunluğu	Nispi olarak kalındır ve bol miktarda elastik lif bulundurulur.	İncedir ve daha da bol miktarlarda elastik lif bulundurulur.
Submukoza	Mevcuttur.	Mevcut değildir.
Kıkırdak	Parçalı şekilde mevcuttur.	Mevcut değildir.
Advenstisya	Mevcuttur.	Oldukça ince bir hal almıştır.

2.3.4. Alveoler kanallar

İnce duvarlı, duvar yapısının neredeyse tümü alveollerden meydana gelen, tek katlı yassı epitele sahip boylu kanallardır. Epitel dokunun alt kısmında ince bir

fibroelastik doku konuşlanmıştır. Kanala bol miktarda alveol ve alveol kesesi açılır. Bu nedenle kanalın duvarını görmek zordur. Kanala açılma alanlarında duvarda bolca düz kas lifi izlenir (10).

2.3.5. Alveoler keseler

Alveol kanalları genellikle büyüyerek alveoler keselerini biçimlendirir. Alveoler keseler bol miktarda alveolun açıldığı boşluklar olmakla birlikte sıklıkla alveol kanalları tarafından biçimlendirilirler (10).

2.3.6. Alveoller

Alveoller polihedral görünümüne sahip, tek katlı yassı epitel ile sarmalanmış, ince duvar yapısına sahip boşluklar olmakla birlikte respiratuar bronşiyole, alveol kanallarına ve alveol keselerine açılırlar. Temel gaz değişim bölgeleridirler (24). Alveoller arasında interalveolar septum adı verilen kan-hava bariyerinin konuşlandığı, kan kapilleri açısından zengin, bağ dokusunda retiküler, kolajen ve bolca elastik lif buldurmanın yanı sıra çeşitli hücre gruplarını örneğin fibroblastlar, mast hücreleri, monositler, lenfositler ve makrofajları barındıran oldukça ince bir duvar içeren yapıdır. Alveollerde bulunan makrofajlara alveolar makrofaj adı verilir. Akciğer dokusunu yabancı partiküllere ve patojenlere karşı fagositoz yoluyla korumakla birlikte, müdafa sistemlerini güçlendirir. Burada konuşlanan makrofajlar septal makrofaj adını alır. Alveoller arası bağ doku ve yapılarını muhafaza etme ve regülasyonda kritik öneme sahiptir. Ara ara duraklamaya uğrayarak kohn delikleri adı verilen alveolar delikleri biçimlendirir. Bu yapılar birbirine komşu olan alveoller arasında hem hava sirkülasyonunu sağlar hem de basınç dengesini stabilize eder.

Alveol yüzeyini kaplayan 2 çeşit hücre vardır. Bunlar Tip 1 pnömositler ve Tip 2 pnömositler olarak bilinirler. Bu hücrelerin genel özellikleri başlık 2.1’de ele alınmıştır. Histolojik yapı ve özellikleri bakımından ise Tip I pnömositler fazlasıyla ince ve yassı şekle sahip olmalarıyla alveolün duvar yapısından gazların süratle hareketi için ideal bariyer (kan-hava bariyeri) yaratır. Bölünme yetisine sahip

olmadıklarından Tip II pnömositlerden köken almaktadırlar. Tip II pnömositler ise iri veziküler çekirdekli, lipid kompozisyonunda madde ihtiva eden vakuollü sitoplazmaya sahip, yüzey kısmında kısa boylu mikrovillus yapıları, apikal sitoplazmalarında zar ile çevrilmiş granüler lameller cisimler bulunan küboid veya yuvarlak şekle sahip hücrelerdir (10).

Sitoplazmalarında lipid yapısında madde içerdiklerinden dolayı genellikle vakuollü görülürler. Yüzey aktif ajan sürfaktan dışında başka salgı ürünleri de vardır. Bunlar Sürfaktan protein A, B, C ve D'dir.

* Sürfaktan protein A (SP-A): Tip 2 pnömositlerden sürfaktanın yapım ve salgılanmasını komuta eder. Ek olarak virüs bakteri gibi yapılara karşı oluşturan immün dönütleri de regüle eder.

* Sürfaktan protein B (SP-B): Regülatör proteinlerden biri olmakla birlikte lamelli granüllerin sürfaktan maddesine dönüştürülmesinde kritik öneme sahiptir.

* Sürfaktan protein C (SP-C): En az bulunan sürfaktan proteini olmasına ek sürfaktan maddesinin yüzey kısmında ince film gibi bir katman yaratmasında rol üstlenir.

* Sürfaktan protein D (SP-D): Muhtelif mikroorganizmalara ve lenfositlere bağlanma sergileyerek akut akciğer tahribatına karşı lokal inflamatuvar tepkide vazife üstlenir. SP-A beraberinde solunan muhtelif antijenlere karşı da alerjik tepkiyi regüle eder (24).

2.3.7. Akciğerlerin kan damarları

Akciğer dokusu pulmoner ve bronşiyal dolaşım isimleri verilen 2 tür dolaşıma sahiptir. Kalbin sağ ventrikülünden gelen pulmoner arter dallandıkça dallanır ve sonuçta interalveolar septum kapillerini biçimlendirir. Pulmoner arter kolları bronş ve bronşyolları de içine alarak ilerlemeye devam eder. Tam da bu sebepten kesitlerde pulmoner arter izlerine rastlanır. İnteralveoler septum kapillerlerindeki mevcut kan alveolde oksijene doyurulmasının ardından pulmoner venlerle ve pulmoner venöz kapillerler ile ilerler. Pulmoner ven kalp dokusunun sağ atriyumuna pulmoner ven açılmaktadır. İnteralveolar septumu, bronşları ve bronşiyol duvarının bağ doku

yapılarını kana doyuran, akciğerin beslenmesinden mesul olan damarlar aortadan kökenlenen bronşiyal arterlerdir. Bu yapının son kolları pulmoner kapillerlere açılmaktadır. Yukarda bahsedilen iki solunum tipi, respiratuvar ve iletili kısımların kavşağında birleşip bağlanır. Akciğer dokusunun hilus bölgesindeki bağ dokusunda bronşiyal venler nihayete erer. Bronşiyal arterler vasıtasıyla akciğer dokusuna giriş yapan kanın çoğunluğu pulmoner venler vasıtasıyla da akciğerden ayrılır (10).

2.4. Serbest Radikallerin Tanımı ve Tarihçesi

Atom çekirdeğinin çevresindeki elektronlar orbital adı verilen yörüngeler içerisinde hareket etmektedirler. Kararlı halde ilk orbitalde 2 elektron bulunurken diğer orbitallerde 8'er elektron yer alır (25–27). Eğer elektronlar çiftleşmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız bir vaziyet alır. Serbest radikaller, üzerlerinde bir ya da daha fazla ortaklaşmamış elektron bulunduran kimyasal olarak kararsız, kısa ömüre sahip, yüksek enerjili ve molekül ağırlığı düşük atom grupları veya moleküllerdir (28–31). Serbest radikaller kararsız yapıları gereği çevrelerinde bulunan atom ya da moleküllere ya elektron alarak ya da elektron vererek kararlı hale geçebilme gayesi ile hızlıca bağlanmaya meyillidirler. Katyonik, anyonik veya nötral şekilde barınabilirler. Lakin Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} gibi ortaklanmamış elektron bulunduran geçiş metalleri serbest radikal olarak kabul görmemekle birlikte serbest radikal biçimlenmesinde oldukça büyük öneme sahiptirler (2).

Serbest radikaller başlıca 3 mekanizma sayesinde biçimlenirler (2,32):

1) Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağlantıların kırılmasını tetikler. Kırılma esnasında bağ organizasyonunda bulunan iki elektronun her bir tanesi ayrı atomlar üzerinde kalırsa, buna homolitik kırılma adı verilir. Organik moleküllerdeki bağlantıların heterolitik kırılması halinde zıt yüklü iyon çiftleri oluşmakla birlikte bu türün örnekleri de reaktif kabul edilir.

2) Radikal karakteri bulunmayan bir molekülde elektron kaybı esnasında dış orbitalde ortaklanmamış elektronun varlığını sürdürmesi radikal formu doğurur.

3) Normal bir moleküle bir tane elektron eklenmesi vasıtasıyla radikal formu biçimlenir. Serbest radikal oluşumu süresince diğer oluşum türlerine nazaran bu

modele daha sıklıkla rastlanır. Moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan süperoksit bu oluşum şekline verilebilecek en net örneklerden biridir (33,34).

Serbest radikallerin tarihçesi Tablo 4’te listelenmiştir:

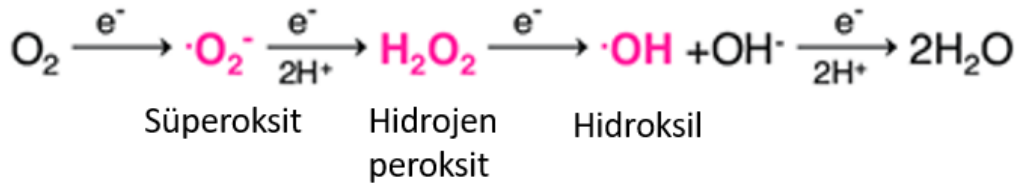
Tablo 4. Serbest radikallerin tarihçesi

Serbest Radikal Tarihçesi		Referans
1876	H. J. H. Fenton tarafından hidrojen peroksit ve Fe^{+2} iyon varlığında tartarik asit oksidasyonunun keşfi.	(35,36)
1984	Fenton reaksiyonunun aydınlatılması.	(36,37)
1990	Moses Gomberg tarafından organik serbest radikal yapısındaki trifenilmetil radikalının keşfedilmesi.	(36,38,39)
1927	Binger ve ark. oksijenin toksik etkisini bildirmesi.	(36,40)
1931-1932	Haber Weiss reaksiyonunun aydınlatılması.	(36,41,42)
1950	Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla ROS’un hücrede oluştuğunun öne sürülmesi.	(36,43)
1954	Commoner ve ark. elektron spin rezonans (ESR) tekniğini kullanarak serbest radikallerin hücrede oluştuğunu ortaya koyan ilk kanıtları elde etmesi.	(36,43)
1939-1945	II. Dünya Savaşı sırasında iki atom bombasının patlatılması sonucu oluşan topyekûn ölümler ve hayatta kalan bireylerin kısa ömür sürelerinin, doğrudan serbest radikal biyokimyasının doğumuna yol açması.	(36,44)
1954	Rebecca Gerschman ve ark. tarafından serbest radikallerin toksik ajanlar olduğu düşüncesinin ortaya atılması	(36,45)
1956	Denham Harman tarafından yaşlanmanın serbest radikal teorisinin ortaya atılması. Serbest radikalleri “Facialar kutusuna” benzeterek, serbest radikallerin majör çaplı hücresel hasar, mutagenez, kanser gibi çeşitli süreçlerden sorumlu olabileceği görüşünü öne sürmesi.	(36)
1969	McCord ve Fridovich’in süperoksit dismutazı (SOD) keşfetmesi.	(36,46)

1972	Harman'ın yaşılanmanın mitokondrial teorisini açıklaması.	(36,47)
1980	Çeşitli tekniklerin (Örneğin: Elektron paramanyetik rezonans spektroskopisi) kullanılması ile serbest radikallerin yapılarının belirlenmesi.	(36,48)
1987	Nitrik oksitin (NO) keşfi.	(36,49,50)
1990	Beckman ve ark. nitrik oksitin, süperoksit ile reaksiyonu sonrasında peroksinitriti (ONOO-) meydana getirdiğini ve oksidasyona uğrayarak endotel hasarına yol açan hidroksil (HO) radikalini oluşturduğunu bildirmesi.	(36,51)
1995	Lymar ve Hurst peroksinitritin proteinlerin nitrasyonuna yol açtığını bildirmesi.	(36,52)
2000	Yoshikava ve ark. serbest radikal-sinyal transdüksiyon ilişkisini aydınlatmaya başlaması.	(36,53)
2002	Wenworth ve ark. bağışıklık cevabı esnasında meydana gelen antikorların, nötrofil aktivasyonu ile oluşan singlet oksijeni, su molekülleri vasıtasıyla indirgeyerek hidrojen peroksit ve ozon oluşumuna sebep olduğunu saptaması.	(36,54)

2.4.1. Reaktif oksijen türleri

Moleküler oksijen 4 adet elektron transferi vasıtasıyla suya doğru indirgenme gösterir ve bu esnada süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri meydana gelir (55).



Şekil 11. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi

Oksijen kökenli radikallere reaktif oksijen türleri (ROT), nitrojen kökenli olanlara ise reaktif nitrojen türleri (RNT) adı verilir (30,56,57) (Tablo 5).

Tablo 5. Serbest Radikal Türleri

Reaktif Oksijen Türleri	
Süperoksit	$O_2^{\cdot -}$
Hidroksil	$OH^{\cdot}$
Peroksil	$ROO^{\cdot}$
Alkoksil	$RO^{\cdot}$
Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil	$HO_2^{\cdot}$
Ozon	O_3
Lipid peroksil	$LOO^{\cdot}$
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hipoklorid asit	$HOCl$
Hipobromöz asit	$HOBr$
Lipid Hidroksiperoksit	$LOOH$
Reaktif Nitrojen Türleri	
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$
Nitrik asit	HNO_3
Nitrojen dioksit	NO_2
Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$

Nitekim serbest radikaller, normal fizyolojik metabolizma tarafından küçük miktarlarda üretilir ve birden fazla sinyal sürecinin redoks bağımlı regülasyonunda kritik önem taşır. Bu yapılar endojen ve eksojen kökenli olabilirler (Tablo 6) (58–63):

Tablo 6. Serbest radikal kaynakları

Serbest Radikal Kaynakları	
Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Radyasyon
Oksidan enzimler (Ksantin oksidaz vs.)	Antineoplastik ajanlar
Fagositik hücreler (Nötrofiller monositler, makrofajlar vs.)	Anestezikler

Oto-oksidasyon reaksiyonları (Fe ²⁺ , epinefrin)	Ksenobiyotikler (CCl ₄)
Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri	Aromatik hidrokarbonlar
Peroksizomlar	Hava kirliliği, egzoz gazları
Plazma Membranı (fagositlerde NADPH Oksidaz)	Sigara dumanı
Oksidatif stres oluşturan durumlar (iskemi, travma vs.)	Stres
Redoks reaksiyonları	İlaç toksikasyonları

2.4.2. Oksidatif stres ve biyomoleküllere etkileri

İnsan vücudunda ROT'lar ile antioksidan sistemler arasında muazzam bir harmoni mevcuttur. Bu harmoninin bozulması halinde oksidatif stres durumu biçimlenir (64). Serbest radikaller optimum düzeyde vücutta yararlı etkilere sahip olsalar da yüksek miktarlarda olumsuz reaksiyonlara sebebiyet verirler. Tahribat hedefe mahsus olmak üzere başlıca proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküller etkilenir (65,66).

Proteinler, OH[•], ROO[•] gibi çeşitli reaktif radikal türlere ek olarak H₂O₂ gibi radikal olmayan türler vasıtasıyla da oksitlenme gösterirler (67). Serbest radikaller ile amino asitler arasında böyle bir oksidatif reaksiyon protein-protein çapraz bağlarının meydana gelmesi, protein yapılarının denatüre olması, enzim aktivitesinin yitilmesi gibi görevlerin kaybedilmesine sebebiyet verir (68). Lizin, arjinin, prolin ve treonin gibi amino asit rezidülerinde ROT kökenli oksidatif tahribat genellikle karbonil türevlerinin meydana gelmesini doğurur. Bu bağlamda protein yapıdaki karbonil gruplarının mevcudiyeti, ROT kökenli protein oksidasyonunun ve neticede oksidatif stresin bir belirteci olarak işlev görür (69). Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, kas distrofisi, diyabet, karsinogenez, solunum distrofisi sendromu gibi hastalıklarda protein karbonil seviyelerinde yükselme izlenmiştir (65).

ROT ve RNT'lerin diğer bir kritik hedef noktası nükleik asitler olarak bilinir ve bunlar DNA'ya doğru hücum ederek tahribat oluşturabilir. Pirimidin-pürin bazları, deoksiriboz şekeri gibi DNA'nın tüm yapı unsurlarıyla doğrudan etkileşime giren en net

radikal OH^- radikalidir. Bu radikal nükleotid bazlarından hidrojen atomlarını kopararak pürin ve pirimidin bazlarının değiştirilmiş yapılarını üretebilir (70). Ek olarak bu saldırılar sonucu DNA'da tek ve çift sarmallı kırılmalar meydana gelebilir. Bu vaziyet kromozal mutasyonlar ve karsinogenez ile son bulur. DNA'nın OH^- atağını izleyen kritik ürünlerden biri 8-hidroksi 2- deoksiguanozin (8-OHdG) olarak bilinir ve bu DNA tahribatının belirteci olarak kabul edilir (65).

RNA'lar tek sarmala sahip olmakla birlikte kararsız ve ataklara daha meyilli bir riboz şekeri ihtiva ettiklerinden ve ötürü oksidatif tahribata DNA'ya kıyasla daha duyarlıdırlar. Ayrıca RNA'larda faal bir hasar tamir mekanizması bulunmadığından ötürü tahribat daha ciddi düzeydedir (71). Parkinson, ateroskleroz, miyopatiler ve hemokromatozis gibi muhtelif patolojik olarak değerlendirilen hallerde izlenen 7, 8-dihidro-8-oksoguanosin (8-oksoG), RNA tahribatının en iyi bilinen ürünüdür (65).

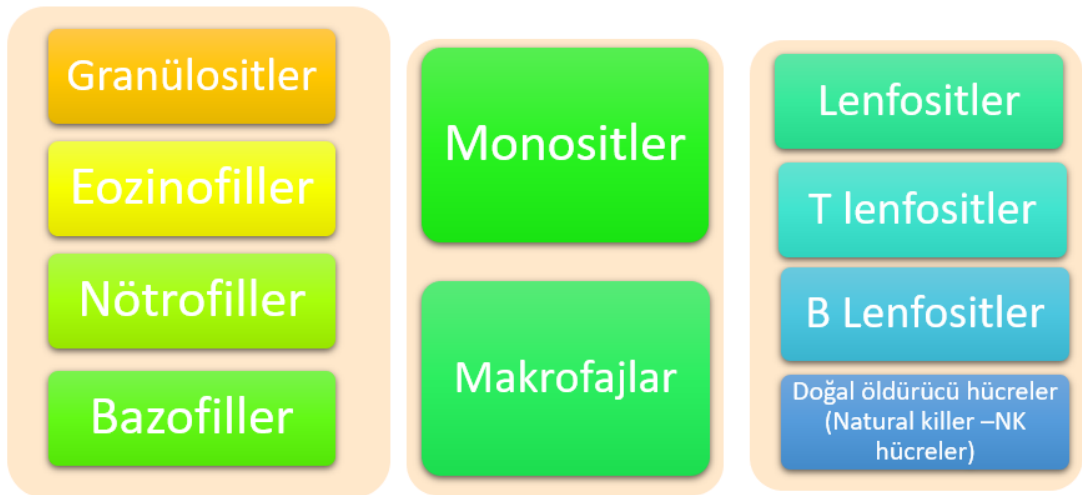
ROT'lar biyolojik membran yapılarında mevcut olan poliansatüre yağ asitlerinde (PUFA) oksidasyon reaksiyonuna sebep olarak lipid peroksidasyon sürecini aktifleştirirler. OH^- radikali Fenton ve Haber Weiss tepkimeleri ile meydana gelen ROT'lar arasında en kuvvetli reaktivite yeteneğine sahip radikaldir (72).

Lipid peroksidasyonun ilk adımı esasen radikallerin hücre membran yapılarında mevcut olan PUFA'lara atak yaparak bir hidrojen atomunu metilen gruptan ($-\text{CH}_2-$) sökmesiyle atılır (73). Hidrojen kaybı yaşayan yağ asiti moleküler olarak düzenlenme geçirir ve moleküler oksijen (O_2) ile reaksiyona girerek lipid peroksil (LOO^-) verir. Bu radikaller, komşu lipidlerden hidrojen atomlarını ayırarak peroksidasyon dönemini daha da ileriye taşıyabilirler. LOO^- radikali 4-hidroksil nonenal (4-HNE) ve MDA meydana getiren endoperoksitleri biçimlendirmek maksadıyla bir siklizasyon yeni baştan organize etme tepkimelerine girer. MDA ve 4-HNA molekülleri ciddi düzeyde toksisite sergileyen, son reaksiyon ürünleridir (65,74,75). MDA, ciddi reaktivite sergileyen, uzun ömürlü, hücre içi ve dışı ayırt etmeksizin birçok biyomoleküle geri dönüşümsüz şekilde tahribat veren aynı zamanda lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olarak tanımlanan moleküldür. Bu niteliklerin yanısıra dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinogenik etkilere de sahiptir (76). Lipid peroksidasyonu, membran işlev kaybına, membran yapısına ilintili enzim ve reseptörlerin inaktif hale gelmesine, iyon geçişi ve zar akışkanlığının gerilemesi gibi durumlara yol açarak hücre tahribatına neden olan ciddi bir olaydır (65).

Serbest radikaller glikolitik yolak vasıtasıyla ATP üretiminin azalmasını veya ATP kullanım düzeyinin artışını tetikler. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, okzoaldehit ve peroksit gibi yapılar monosakkaritlerin oto-oksidasyona uğramasıyla meydana gelir. Bu ürünlerin kanser, diyabet gibi çeşitli hastalıklarda ciddi görevleri vardır. Glikozilinde içerisinde bulunduğu Okzoaldehitler, nükleik asit ve protein yapılarına bağlanarak aralarında çapraz bağlar biçimlendirebilme potansiyeli vasıtasıyla antimitotik tesir sergilerler. Doymamış yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyon reaksiyonunun ürünü bilinen glioksal, hücre bölünmesini bloklayıcı tesir sergilediği saptanmıştır (2,77).

2.5. İnflamasyon ve Akciğer

İnflamasyon diğer bir adıyla yangı, dokuda çeşitli faktörler tarafından (örneğin patojenler, fiziksel-kimyasal durumlar) biçimlendirilen tahribat, yaralanma ya da imhaya tepki olarak doğan geri bildirimdir. Hücreler oldukça çeşitli ağlar vasıtasıyla dokuda meydana gelen tahribata ve aynı zamanda bu tahribata yol açan uyarıcı durumlara tepki olarak inhibitör, hafifletici, önleyici tepkiler verir. Organizmada 2 tür savunma gücü mevcuttur bunlar hücresel ve humoral savunma ağları olarak isimlendirilirler. Bağlantılı ve eşgüdümlü hareket ederek inflamasyon geri bildiriminde görevlidirler. Tek başlarına olmamakla birlikte bu ağlara polimorfonükleer lökositlerde (PNL) eşlik eder (78,79) (Şekil 12).



Şekil 12. Polimorfonükleer lökositler

Akciğer dokusu oldukça büyük yüzeyi ve gelişmiş kan desteğine sahip olmakla birlikte dış dünya ile en çok irtibat halinde olan dokudur. Ve bu durum akciğer dokusunu ROT'ların hedefi yapar (80,81). Akciğer epiteline birçok yabancı ajan solunum esnasında temasta bulunur ve yapılar laktoferrin, defensin, müsin, nitrik oksit gibi savunma hatlarıyla karşı karşıya kalır.

Akciğer epiteli tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-1 beta (IL-1 β) gibi sitokinleri, platelet aktive edici faktörü (PAF) ve ROT gibi inflamasyon durumunu uyarıcı çeşitli inflamatuvar araçları sentezleyebilir (82). Sentezlenen sitokinler araşidonik asit metabolizması vasıtasıyla eikosanoidler ortaya çıkar ve sonuç olarak goblet hücreleri vasıtasıyla mukus sentezini sağlarlar (83,84).

Akciğerde hava yollarında, alveollerde ve interstiyumda izlenen en yaygın bulunan inflamatuvar hücre tipi makrofajlardır. Dokunun en kritik sitokin, kemokin ve bir diğer inflamatuvar araçlarının kökenidir. Makrofajlar yapıları dentritik hücreler ile birlikte güçlü fagositoz kapasitesine sahiptirler. Dentritik hücreler antijen sunan hücreler olmakla birlikte fagositoz vasıtasıyla yutulan patojen yapısından antijen yaratırlar ve bunu immün geri bildirim meydana getirebilmek için lenf dokusuna iletterek ve T hücrelerine sunarlar (84,85). Epitelyal hücreler ve makrofajlar sitokin, kemokinler gibi yapıların salınmasını sağlayarak bölgesel olarak nötrofil yapılarının dikkatini çekerler ve nötrofiller farklılaşarak kanda mevcut bölgeye doğru yer değiştirerek bölgesel inflamasyonu aktive ederler (86). Nötrofiller enfeksiyon ya da tahribat alanlarında bakteri, virüs, tümör gibi yapılara karşı müdafaa maksadıyla atanan ilk hücreler olmakla birlikte pulmoner kapillerlerden hava boşluklarına doğru yer değiştirerek yıkım sağlayan enzimler, antimikrobiyal proteinler veya ROT'lar ile patojen yapısını imha eder (84,87).

Dokuda en az eozinofil grubu barınır ve sıklıkla paraziter, alerjik ve kronik enfeksiyon durumlarında faal olarak sayıca artış sergilerler. Aynı zamanda sitokin, araşidonik asitten türev alan prostaglandin, lökotrien gibi spesifik proteinlerin kökeni olarak bilinirler ve mast hücre yapılarının büyüme, degranülasyon ve kemotaksisine olanak sağlayan büyüme faktörlerinin salgılanması işlemini yaparlar (88). Mast hücreleri sinir ve kan damarları etrafına yerleşmiş bulunarak çok çeşitli reseptör ve uyarım mekanizmalarıyla aktive olurlar. Üzerlerinde immünoglobülin E (IgE) reseptörü bulundurur ve histamin, lökotrienler, sitokinler, kemokinler, proteazlar gibi

yapıların yanı sıra hava yolunda inflamasyonu tetikleyen birçok faktörü üretirler. Diğer yandan mast hücreleri doğal bağışıklıkta parazitlere karşı savunma gerçekleştirirken dokunun tamiri ve anjiyogenezinde görev alır. Mast hücreleri parazitlere karşı savunma yapılan dokuda onarım ve anjiyogeneziste sorumluluk almakla birlikte üstlerinde IgE reseptörü ihtiva ederek histamin, lökotrienler, sitokinler, kemokinlere ek olarak, hava yolunda inflamasyona neden olan muhtelif faktörleri sağlarlar (84,89).

Akciğer dokusunun bütün hava yolu ve parankim yapısında lenfositler barınır. B ve T lenfositler olmak üzere 2 tip olarak incelenirler.

Tablo 7. Lenfosit grup ve işlevleri

Lenfositler	
T Lenfositler	B Lenfositler
Kökeni: Timus	Kökeni: Kemik iliği
Görevi: Hücresel bağışıklık sağlama	Görevi: İmmünglobulin sentezleyerek humoral bağışıklık sağlama

CD4+ (diğer bir adıyla T helper – Th) ve CD8+ hücreleri T lenfositlerin Th1 ve Th2 adı verilen iki kritik alt bölümünü meydana getirirler. Bunlar muhtelif sitokinlerin salınmalarını meydana getirirler. Sitokinler inflamatuvar geri bildirimi başlatan veya artıran pro-inflamatuvar sitokinler olarak ve geri bildirimi azaltan veya bloklayan anti-inflamatuvar sitokinler olarak 2 sınıfta incelenir. İnflamatuvar geri bildirimin başlatılmasında akut dönemde sıklıkla TNF- α , IL-1 β , interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve interferon-gama (IFN- γ) pro-inflamatuvar sitokinleri rol oynar. Ekseriyetle TNF- α ve IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinler savunma hücrelerinde katepsin ve kollegenaz gibi yıkım etkinliği olan enzimlerin yapılması, T lenfositlere grubuna antijen sağlanması ve inflamatuvar hücrelerin aktive edilmesi benzeri kritik derecede önem taşıyan işlevleri vardır. Sıklıkla Th1, TNF- α sentezini yürüterek tümör hücrelerine ve patojen ajanlara karşı hücresel cevap yaratır (84,90).

İnflamatuvar yanıtı azaltan ya da baskılayan anti- inflamatuvar sitokinlere örnek olarak ise IL-10, IL-1 α ve transformatör büyüme faktör-beta (transforming growth factor, TGF- β) örnek gösterilebilir (91). Akciğer dokusunda alveolar makrofajlar aracılığıyla üretimi yapılan anti-inflamatuvar sınıfa ait sitokinler inflamatuvar geri

bildirimi azaltarak denetimi ele alır. Ek olarak akciğer dokusunda ihtiva eden hemen hemen her hücrede TGF- β için spesifik bir reseptör mevcuttur ve tetiklenmesi ile yara tamiri ve skar dokusu oluşumu başlatılır. Bu reseptörün uyarımı dokuda yara iyileşmesi ve sonrasında skar oluşumunu tetikler. Ayrıca interlökin 10 (IL-10) monositler, T hücreleri ve NK hücreleri tarafından sekrete edilir ve görevi pro inflammatuar sitokin yapımını bloklayarak inflammatuar geri bildirimi söndürmektir (84,92).

2.6. Karbon Tetraklorür

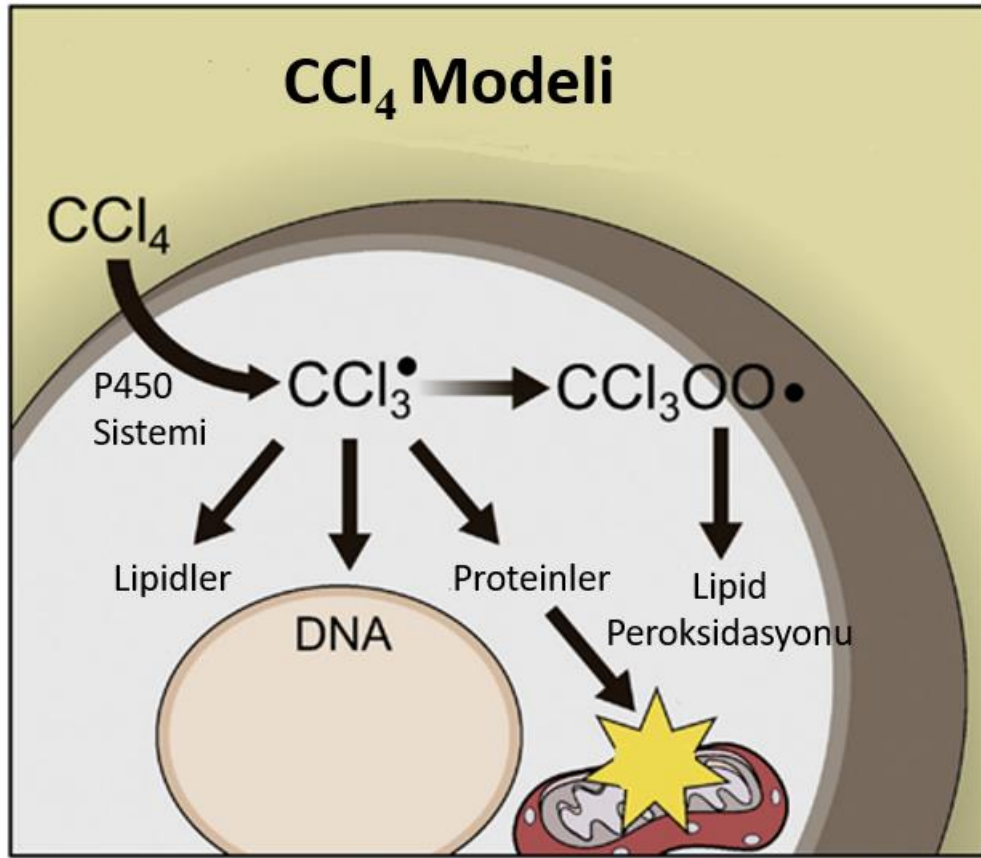
Karbon tetraklorür (CCl_4) herhangi bir renge sahip olmayan, parlak yapıda, yanma özelliği barındırmayan, uçucu özellik sergileyen, kuvvetli kimyasal kararlılık gösteren çözücü bir madde olarak bilinir. Kalbinde bir karbon atomu etrafında ise dört adet klor atomu ihtiva eder (93,94). Endüstriyel alanlarda ekseriyetle çözücü olarak sık kullanılmakla birlikte temizlik malzemelerinde, pestisitlerde, müzelerde koruma amaçlı, fosfogen ve klorlu bileşiklerin sentezinde, soğutucu ve yangın söndürücü maddelerde ve daha birçok alanda rol üstlenmiştir (95). Lakin son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar vasıtasıyla toksik etkileri tespit edilmiş olup imalatı küçük miktarlara indirgenmiştir. CCl_4 , ABD Çevre Koruma Ajansı tarafınca B2 Grubu muhtemel kanser yapıcı etkiye sahip kimyasallar arasına dahil etmiştir (93,96–100). CCl_4 organizmaya solunum yolu, sindirim yolu ve dermal yol vasıtasıyla sorunsuz bir şekilde giriş yapar. İnsanda yaklaşık %60'lık oranla maruz kalma türleri arasında ilk sırayı alır (93,98,101).

CCl_4 , deneysel çalışmalarda oldukça ilgi görür ve organizmada oksidatif stres durumunu model olarak hem hepatotoksin hem nefrotoksin hem nörotoksin hem de pulmotoksin olarak işlev görür (101–107).

CCl_4 ilk sırada karaciğer olmak üzere muhtelif dokularda toksik tesirlere sahiptir ve aynı zamanda karaciğer, akciğer, böbrek gibi sitokrom P450 (CYP450) ailesini ihtiva eden tüm dokular tarafından da metabolizasyonu yapılır (108–112).

CCl_4 , CYP450 enzim sisteminde triklorometil ve oksijen varlığında ekstra zehirli triklorometil peroksil radikallerine metabolize edilerek lipid peroksidasyonunu

aktive eder. Bu metabolizma ürünleri sadece lipitlere değil aynı zamanda protein ve DNA'ya da kenetlenerek tahribata sebep olur (101,113) (Şekil 13).



Şekil 13. CCl₄ mekanizması (114)

Puls radyoliz deneyleri vasıtasıyla triklorometil peroksil radikalının triklorometil radikalinden göre oldukça reaktif ve aynı zamanda makromolekül yapılarına bağlanmasının da daha hızlı olduğu tespit edilmiştir (115,116). Ayrıca Clara hücreleri CCl₄'ün yol açtığı tahribata oldukça duyarlıdır (101,117).

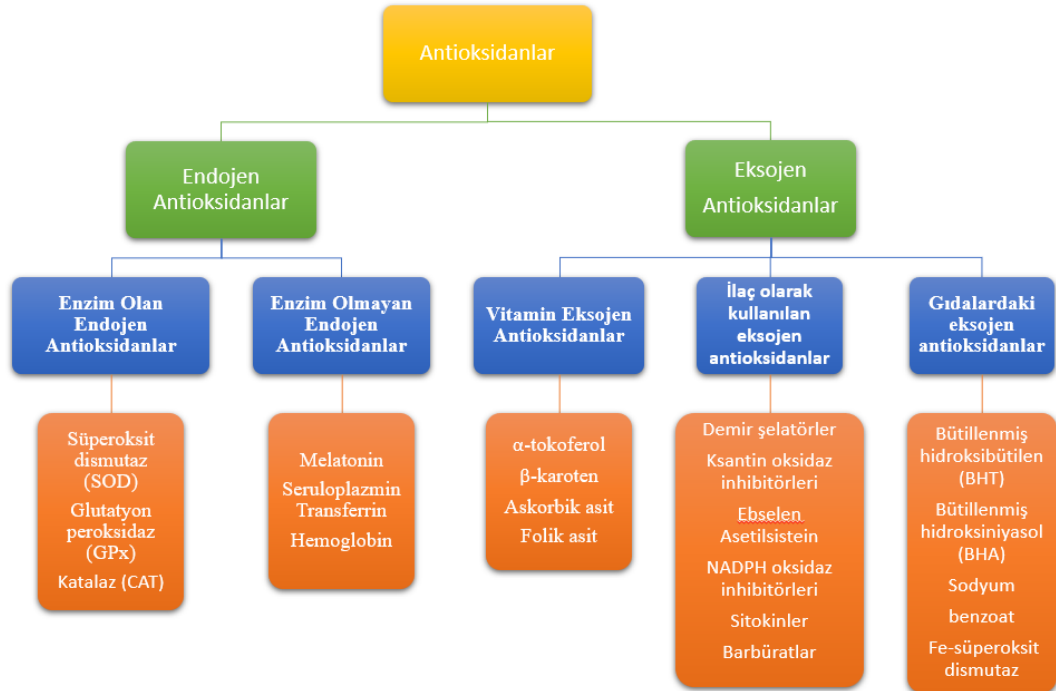
2.7. Antioksidanlar

Muhtelif tesirler vasıtasıyla oksidatif dengenin sağlanması şeklinde işlev gören savunma ağları antioksidanlar olarak bilinir. 4 şekilde tesir ederler (118–121) (Şekil 14)



Şekil 14. Antioksidanların tesir yolları

Antioksidanlar endojen veya eksojen kökenli olabilirler ve alt gruplara ayrılırlar (57,118,121–127) (Şekil 15).



Şekil 15. Antioksidanların sınıflandırılması

2.7.1. Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikallerine karşı en kuvvetli savunma mekanizmasıdır (Şekil 16).



Şekil 16. SOD enzim mekanizması

SOD'un üç izoformu mevcuttur. Bunlar;

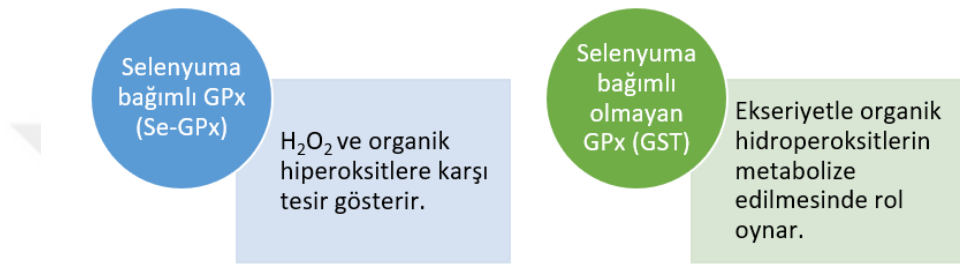
- ❖ Cu-Zn-SOD (SOD 1),
- ❖ Mn-SOD (SOD 2),
- ❖ Cu-SOD (SOD 3) olarak bilinir (128–132). (Şekil 17)

SOD Tipleri		
SOD 1	SOD 2	SOD 3
32,000 dalton ağırlığındadır.	23,000 dalton ağırlığındadır.	135,000 dalton ağırlığındadır.
Sitoplazmada, nükleer kısımlarda ve lizozomlarda konuşlanır.	Aerobik hücrelerin mitokondrisinde konuşlanır.	Plazma, lenf, sinoviyal sıvıda ve yüksek oranda damar duvarlarında konuşlanır.
Down sendromu, Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalıklarının patofizyolojisinde sorumluluk alır.	Hücre farklılaşması, tümorogenezis ve pulmoner toksisite ile tetiklenen hipoksida büyük rol üstlenir. SOD 2 gen mutasyonları nadir görülen ailesel motor nöron hastalıkları, idiyopatik kardiyomiyopati ve erken yaşlanma ile bağdaştırılabilir.	Heparine karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu yüzden heparin ve heparan sülfat protein kinaz C vasıtalı sistem ile ekspresyonu düzenlenebilir. Romatoid artrit, akut akciğer hasarı ve inflamasyonun patogeneğinde kritik öneme sahiptir.

Şekil 17. SOD tipleri

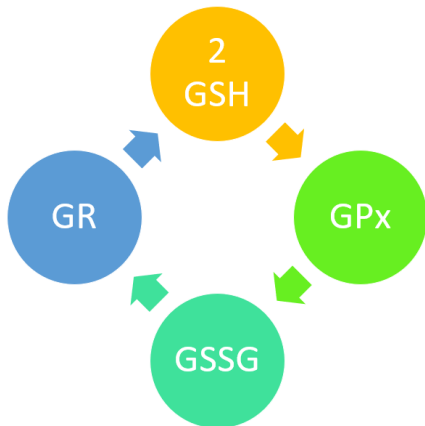
2.7.2. Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GPx), hücre sitoplazmasında barınır ve H_2O_2 'den OH^- 'in meydana gelmesini inhibe eder ve bu doğrultuda elektron jeneratörü olarak glutatyon (GSH) faydalanır. Glutasyon peroksidaz, dört adet protein alt departmanından meydana gelmekle birlikte her departmanda selenyum atomu barınır (121,123). GPx'in 2 temel tipi belirlenmiştir. Bunlar Selenyuma bağımlı GPx (Se-GPx) ve selenyuma bağımlı olmayan GPx (GST) 'tir (121,133,134) (Şekil 18).



Şekil 18. Se-GPx ve GST nitelikleri

Bu metabolizasyon tepkimeleri esnasında glutasyon (GSH), hidrojen sağlayıcılık görevini üstlendiğinden H_2O_2 ve hidroperoksit yapıları indirgenme gösterirken GSH'de okside olur (134). Okside olmuş GSH, glutasyon disülfid (GSSG) olarak isimlendirilir ve elektron sağlayıcı olarak olarak nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) kullanan glutasyon redüktaz (GR) enzimi varlığında eski haline geri döner (121,123,134) (Şekil 19).



Şekil 19. GPx ve GR ilişkisi

2.7.3. Katalaz

Katalaz (CAT) kompozisyonunda dört tane hem ihtiva eden bir hemoprotein olarak bilinmektedir. CAT başta peroksizomlarda olmak üzere daha az miktarlarda sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda barınır (135). SOD tesiriyle meydana gelen H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesinde görev alır (Şekil 20).



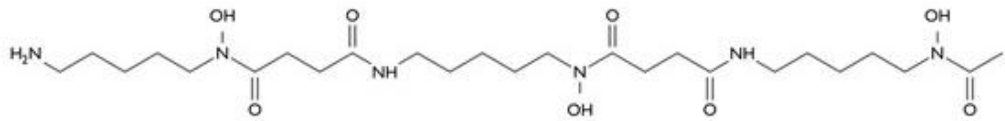
Şekil 20. Katalaz metabolizması

H_2O_2 bakır ve demir iyonlarının rehberliğinde fenton reaksiyonu vasıtasıyla oldukça reaktif ve toksik olan $OH^\cdot$ biçimlenmesinde ön basamaktır (121,135–137).

Aslında H_2O_2 düşük miktarlarda organizmada sinyal iletimi, hücre ölümü, mitokondriyal işlevlerde önemli sorumluluklara sahiptir. Lakin aşırı miktarlarda toksik etkiler cereyan eder. CAT bir saniye gibi bir süre içerisinde milyonlarca H_2O_2 ayrıştırabilir (128,138,139).

2.8. Desferal

Desferoksamin, desferrioksamin veya Desferal markası adı altında bilinen deferoksamin (DFO), *Streptomyces pilosus* öncülüğünde salgılanan trihidroksamik asit, siderfordur ve 1968 yılında bir demir şelatör olarak FDA kılavuzluğunda tasdik edilmiştir (140,141) (Şekil 21).



Şekil 21. DFO yapısı

Demir tüm canlılar için oksijen gibi temel, vazgeçilemez bir yakıttır ve insan vücudun da cüzi bir miktarda mevcuttur. Bu cüzi miktarına rağmen elektron transferi, enerji metabolizması, genetik materyal sentezi gibi işlevlerde kritik öneme sahiptir (141–148).

Yapılan deneysel çalışmalar Haber-Weiss ve Fenton tepkimeleri vesilesiyle meydana gelen demir kökenli oksidatif dengenin bozulma sonucunda oldukça reaktif ve toksik OH radikalının meydana geldiği ve biyomoleküller üzerinde ciddi tahribatlar yaratabileceği gözlemlenmiştir (149–151). DFO demir şelasyonu vasıtasıyla Fenton ve Haber Weiss tepkimelerini kontrol altına alarak bloklar ve böylece OH-radikallerinin biçimlenmesini engeller veyahut azaltır (152).

Davies ve arkadaşları DFO'nun demir mevcut değilken bile ROT'lar ile etkileşime girerek deferoksamin nitroksit radikalini (DfNO•) biçimlendirebileceğini tespit etmiştir (141,153).

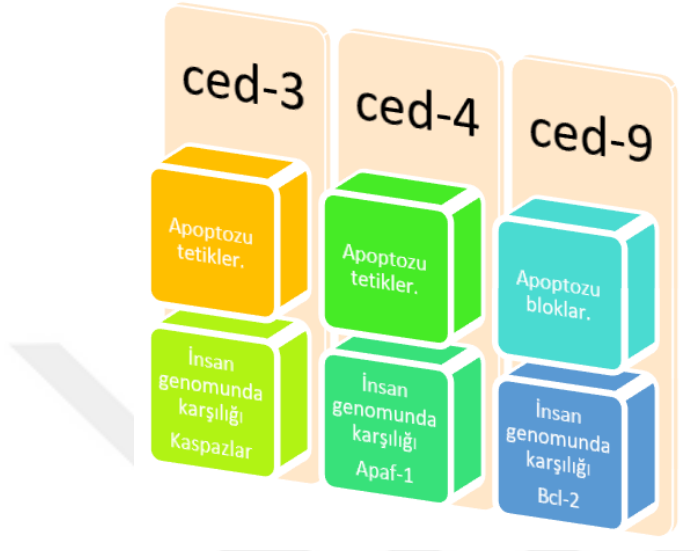
DFO serbest radikalleri sönmüleyerek hem oksidatif stresi hem de apoptozu azaltır (154–158). Tümör hücre yapılarında muhtelif sinyal ağları vasıtasıyla anti-tümör etki sergiler (149,159,160). Demirin tüketilmesiyle prolil-4-hidroksilaz yapılarının etkinliğini bloklayarak hipoksiyle indüklenen faktör- 1 alfa'yı (HIF-1 α) istikrarlı hale getirir (161,162). İskemi, yara onarımı ve kemik yeniden yapılanması konuları üstünde icra edilen çalışmalarla anjiyojenik bir madde olarak işlev gördüğü izlenmiştir (141).

2.9. Apoptoz

Apoptoz esasen hücrelerin bizzat kendisini imha ettiği, enerjiye bağımlı, programlı, genler öncülüğünde koordine edilen, iç dengeyi gözetten, mitoz bölünme gibi olağan gelişmeler esnasında elzem ve aynı zamanda dış tehlikelere karşı koruyucu rol üstlenen bir sistemdir (163).

Apoptozu dair ilk adım 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie'nin başlattığı çalışmalarla doğmuştur. Sonradan Sydney Brenner, Robert Horvitz ve John E. Sulston isimli araştırmacılar yapıda günümüzde bile deneysel çalışmalarda sıkça kullanılan oldukça basit yapılı ve aynı zamandan çok hücreli *Caenorhabditis elegans* ile

alışmalarını sürdürerek apoptoz kavramına netlik kazandırarak 2002 yılında Nobel sahibi olmuşlardır (164,165). Bu deneysel organizmadaki ced-3, ced-4 ve ced-9 olarak isimlendirilen 3 gen apoptozu denetler ve kontrol altına alır (163,166,167) (Şekil 22).



Şekil 22. *C. Elegans*’ta apoptozu denetleyen genler ve insan genomundaki denkləri

Apoptoz, embriyonik safhada, normal süreçlerde ve patolojik şartlarda iç denge için oldukça elzem bir serüvendir (163,164,168–174) (Şekil 23).

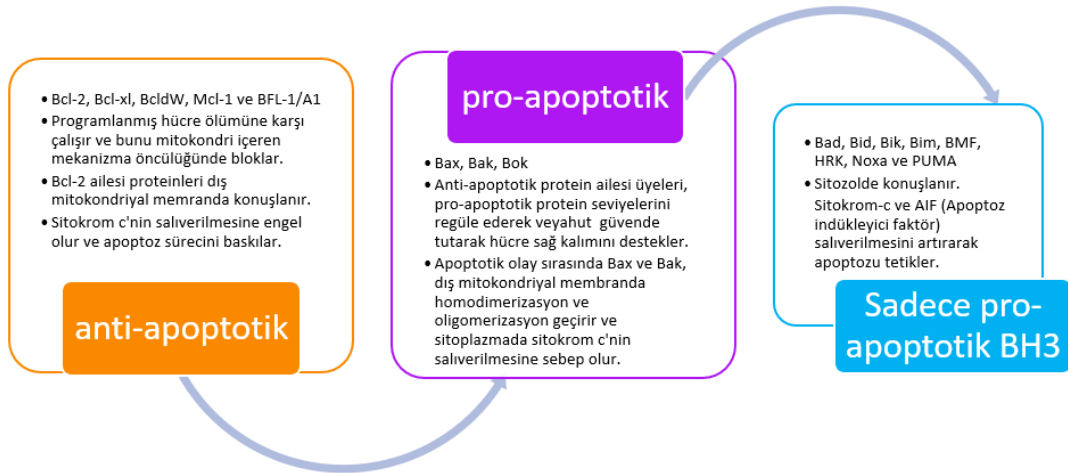
EMBRYONİK DÖNEMDE GÖZLENEN APOPTOZ	NORMAL KOŞULLARDA GÖZLENEN APOPTOZ	PATOLOJİK DURUMLARDA GÖZLENEN APOPTOZ
•Memelilerde gelişim sırasında el ve ayak parmak taslaklarının arasındaki ara dokunun ortadan kalkması •Merkezi sinir sisteminin şekillenmesi •Kan damarlarının sayısının azaltılması •Fetusun cinsel gelişimi esnasında duktus sisteminin gerilemesi •Gözün lens hücrelerini ölerək ve içlerinin kristalin ile dolması	•Kemik iliğinde kan üretiminin dengede tutulması esnasında •Menstruasyon sırasında endometriyum tabakasının dökülmesi •Menstruel siklus sonunda korpus luteumun involusyonu •Sütten kesilen dişilerin meme bezlerinde •Kastrasyon yapılan erkeklerin prostat bezlerinde	•Oksidatif stres •Diyabet •Parkinson hastalığı •Alzheimer hastalığı •Bağışıklık sistemi hastalıkları •Foliküler atrezi •Viral enfeksiyonlar •Tümör oluşumu •Aterosklerozis •Miyokard infarktüsü •Organ transplantasyonları •Alkolizm •X ışınları ve radyasyon

Şekil 23. Apoptoz izlenen durumlar

Ek olarak bağışık geri bildirine karşı savunma ağı olarak görev yaparak harap olmuş hücrelerin imha edilmesinde kritik öneme sahiptir (164,175–178).

Bir hücre apoptoz sinyalini edindiğinde komşularıyla bağlarını keser, uzaklaşma ihtiyacı duyar. Bu esnada yapısal bir bozulma göstererek büzüşmeye başlar, kromatin yoğunlaşma gösterir ve piknotik bir görünüm sergiler. DNA yapısı nükleozomlarca parçalandığından jel elektroforezi tekniği uygulandığında oldukça karakteristik merdiven şeklinde bant görüntüsü sergiler. Hücre membranında barınan fosfotidil serin translokasyona uğrayarak iç taraftan dış tarafa göç eder. Çekirdek yapısı parçalanma gösterir. Hücre apoptotik cisimciklere kadar bozunur ve bu yapılar makrofajlar öncülüğünde belirlenerek fagositoz işlemi gerçekleştirilir. Lakin burada inflamasyon etkisi izlenmez (163,179,180).

Apoptoz çeşitli unsurlar öncülüğünde düzenlenir. Bu unsurlara örnek olarak Bcl-2 ailesi, p53, FAS ve kaspazlar verilir. Bcl-2 ailesi anti-apoptotik, pro-apoptotik ve sadece pro-apoptotik BH3 olarak üç ana grupta incelenir (164,181) (Şekil 24):

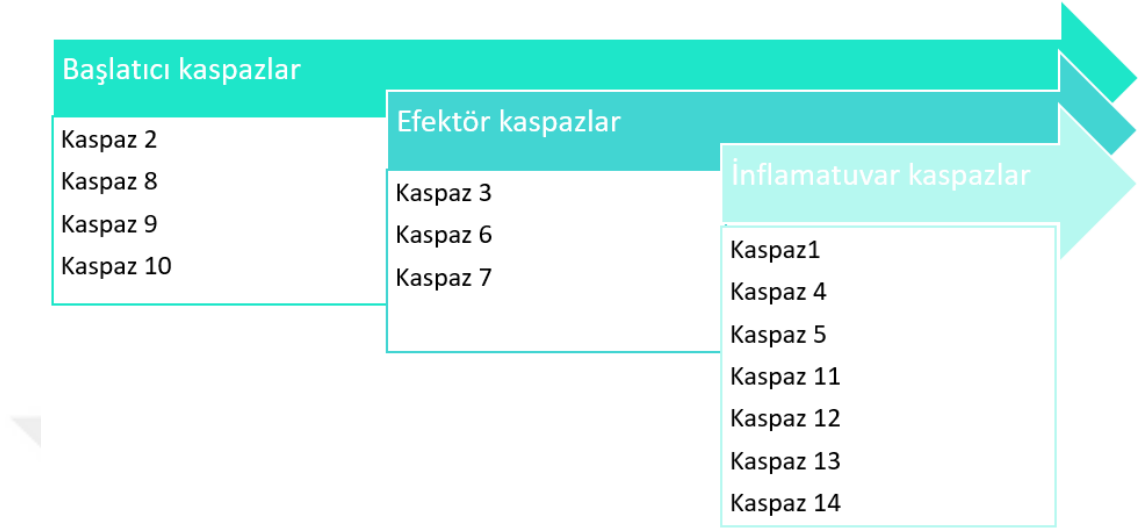


Şekil 24. Bcl-2 ailesi üyeleri

p53 hücrede DNA tahribatı cereyan ettiğinde hücre döngünü ilk fazda bloke ederek DNA'nın onarımı için elzem süreç oluşturan bir transkripsiyon faktörüdür. Eğer tahribat geri çevrilemeyecek durumdaysa apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) ve Fas imalatını artırır, Bcl-2 ve Bcl-xL'yi bloke ederek ve apoptozu tetikler (163,182).

Kaspazlar ise sistein proteazlar olarak bilinirler ve aspartik asitin ardından gelen peptid bağını kırma yoluna giderler. Hücrede pasif halde konuşlanırlar, ancak

yeri geldiğinde proteolitik biçimde karşılıklı olarak aktifleşirler. 100 kadar farklı türden hedef proteini kesme yoluyla apoptozu gerçekleştirirler. Başlatıcı efektör ve İnflamatuvar Kaspazlar şeklinde 3 genel tipte incelenebilirler (163) (Şekil 25).



Şekil 25. Kaspazların sınıflandırılması

Apoptoz morfolojik olarak muhtelif mikroskop tipleriyle, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve moleküler yöntemler ile tespit edilebilmektedir (183,184).

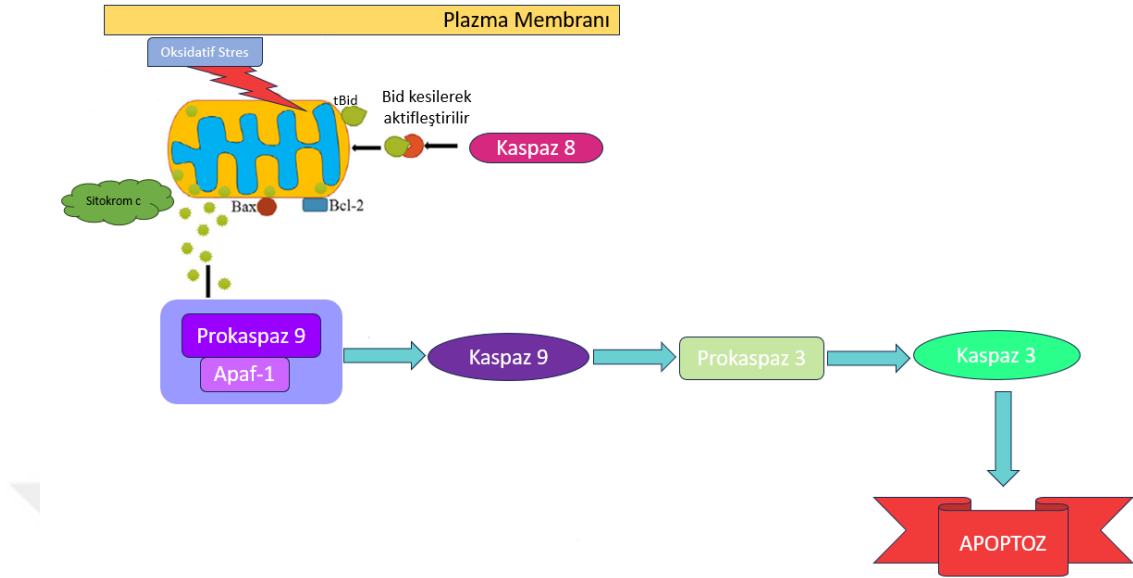
Apoptoz düzenleyici unsurların öncülüğünde temelde 2 yol vasıtasıyla gerçekleşir ve bu yollara intrinsik yol ve ekstrinsik yol adı verilir.

2.9.1. İntrinsik yol

Apoptoz çevresel impulslar dışında nükleik asitin tahribatı benzeri oksidatif stres biçimlendiren iç tetikleyici sinyaller tarafınca da organize edilebilir veya faaliyetine geçirilebilir ve bu yol intrinsik yol olarak adlandırılır. (Fulda, Gorman, Hori ve Samali, 2010). Bcl-2 ailesinin mensupları bu yol için mihenk taşlarıdır (164,185).

Bid, Bcl-2'yi bloklayarak Bax'ı etkinleştirir. Bax membranda por oluşumunu tetikler ve mitokondriyal membran bozunmasının ardından sonra sitokrom c sitoplazmaya salıverilir (163,186). Sitokrom c Apaf-1 ve prokaspaz 9 öncülüğünde

apoptozom olarak nitelendirilen bir yapılanma meydana getirir. Ardından zincirleme bölme ve aktifleştirmeler vasıtasıyla apoptoz tetiklenir (164,187) (Şekil 26).

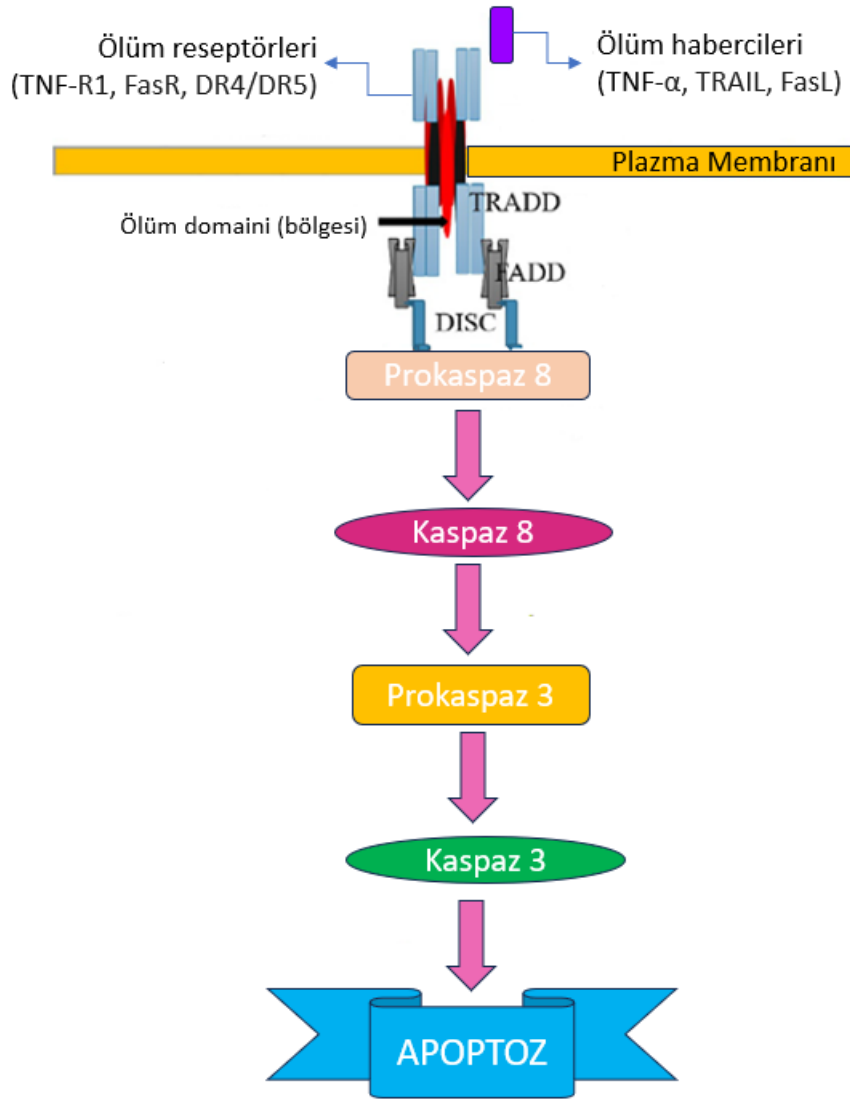


Şekil 26. Apoptozun intrinsik yolu

2.9.2. Ekstrinsik yol

Ekstrinsik yolda, muhtelif hücre yapılarının yüzey kısmında barınan Fas reseptörleri, DR4/DR5, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNF-R) ve TNF ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand reseptörleri (TRAIL-R) kritik rol oynar (164,188).

Bu reseptörlere ölüm habercilerinin (FasL, TNF-a, TRAIL) ilişkilendirilmesi reseptörlere trimerik yapılanma sağlar. Yeni yapısına kavuşan reseptör DISC adı olarak bilinen iskeleti oluşturmak üzere yardımcı moleküller (Fas ile ilişkilendirilmiş protein (FADD), tümör nekroz faktör reseptörü tip 1 ile ilişkilendirilmiş ölüm bölgesi proteinini (TRADD)) ve prokaspaz 8 ile bir araya gelir (164,189). Bu bir araya gelme durumunun ardından Kaspaz-8 aktifleştirilir. Aktifleşen Kaspaz 8 son aşamada olan Kaspaz 3'ü, 2 yol vasıtasıyla faal hale getirir. Birinci yol doğrudan kaspaz 3'ü etkinleştirmedir. 2. Yol ise bid proteinini keserek intrinsik yolda Kaspaz 9'u ardından da Kaspaz 3'ü etkin hale getirmedir (163,164,186,190,191) (Şekil 27).

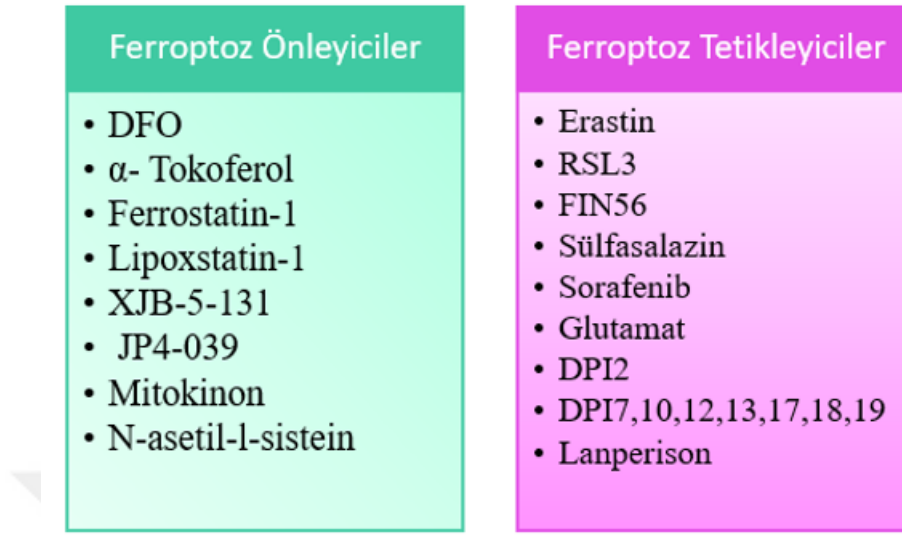


Şekil 27. Apoptozun ekstrinsik yolu

2.10. Ferroptoz

Ferroptoz bilinen apoptoz, nekroz gibi bilinen hücre ölümü şekillerinden bağımsız, demire bağımlı yeni bir tip olarak Dixon tarafından 2012 yılında ortaya atılmıştır. Ferroptoz bu tiplerden farklı nitelikler sergilemektedir. En temel farklılık olarak ferroptoz hücre genişlemesi, apoptoz hücre daralması ve vakuolleşmesi ile neticelenir. Ferroptozun hedefi mitokondridir ve mitokondride hacim, krista miktarı azalması, membran intensitesinde artış gibi yıkımlar yapar (192–198).

Ferroptoz için moleküller tetikleyici ve bloklayıcı moleküller olarak sınıflandırılabilir (192,199) (Şekil 28).



Şekil 28. Ferroptoz molekülleri

Bu moleküller muhtelif hedeflerde muhtelif tesirlere ev sahipliği yapar (192,199) (Tablo 8).

Tablo 8. Ferroptoz moleküllerinin hedefleri ve tesirleri

Molekül	Hedef	Tesir
DFO	Demir	Şelatlama
α-Tokoferol	Demir	Serbest demir tüketme
Ferrostatin-1	Lipid radikalleri	Lipid peroksidasyonunu bloklama
Lipoxstatin-1	Lipid radikalleri	Lipid peroksidasyonunu bloklama
Erastin	Sistem Xc	Sistin ithalatını bloklama, GSH tükenmesi
RSL3	GPx4	Bloklama

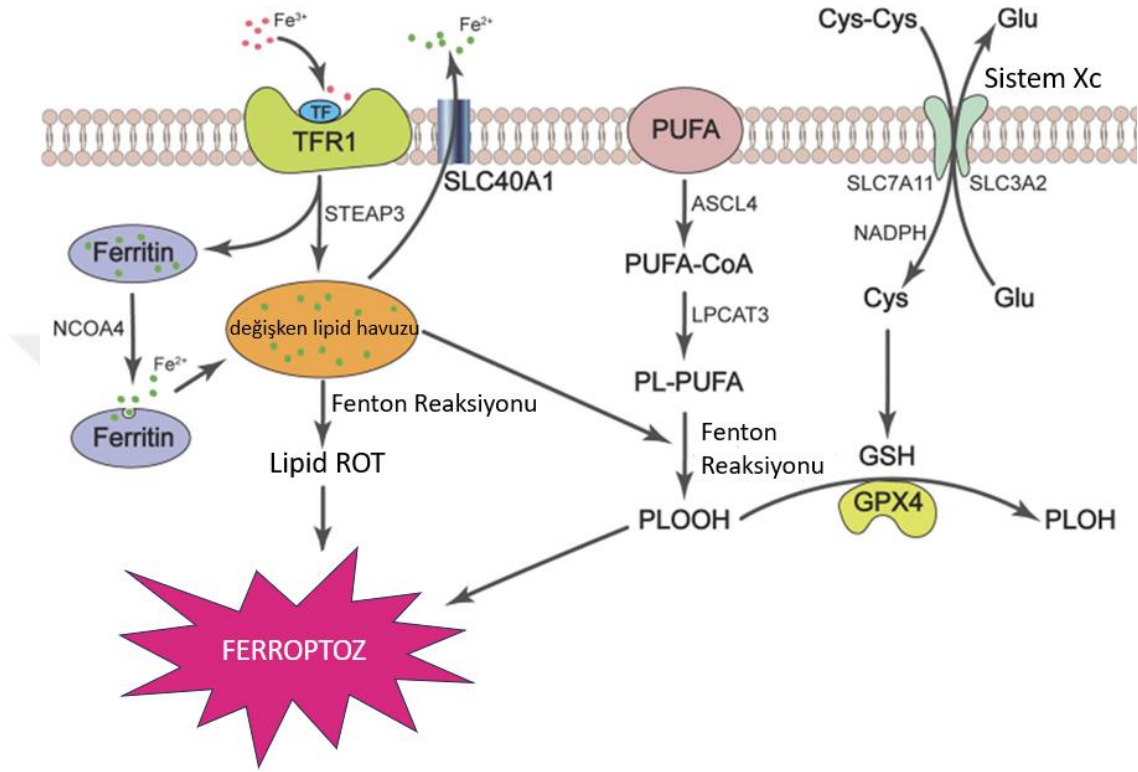
FIN56	GPx4	GPx4 bozunması
Sülfasalazin	Sistem Xc	Bloklama
Sorafenib	Sistem Xc	Bloklama
Glutamat	Sistemi Xc	Glutamin, sistin alımı ve GSH sentezini bloklama
DPI2	GSH	GSH'yi tüketir
DPI7,10,12,13,17,18,19	GPx4	Lipit hidroperoksitlerin birikmesini teşvik eder
Lanperison	Sistem Xc	ROS üretimini teşvik eder
XJB-5-131, JP4-039	ROS	Hücrel ROS'u temizler
Mitokinon	ROS	Mitokondriyal süperoksit oluşumunu engeller
N-asetil-l-sistein	ROS	Hücrel ROS'u temizler

Ferroptoz akciğer, böbrek beyin ve birçok dokuda patolojik durumlar biçimlendirilebilir, kanserin biçimlenmesinde ve gelişme safhasında rol oynayabilir (192).

Muhtelif tedavilere ve kemoterapi yöntemine direnç gösteren birçok kanserli hücrenin ferroptozu karşı hassasiyet gösterdiği ve bu durumda GPx4'ün bloklanması yoluyla gerçekleştiği keşfedilmiştir. Ayrıca p53'ün ferroptoz üzerindeki bastırıcı tesiri de göz önüne alınarak, ferroptozun düzenlenmesinin muhtelif hastalık gruplarında ve kanserde potansiyeli yüksek bir strateji olarak rol alabileceği değerlendirilmektedir (197,200–207).

Yapılan çalışmalarda enteresan bir durum keşfedilmiştir. Bir diğer hücre ölüm yolu olan otofajinin ferritini parçalayarak ayırıp demir derişiminin yükselmesine sebep olarak ferroptozu teşvik edebilir (194,207,208).

Ferroptoz çeşitli mekanizmalarla düzenlenebilir (Şekil 29).



Şekil 29. Temel ferroptoz mekanizmaları (209).....

2.10.1. Ferroptozun karakteristik niteliği lipid peroksidasyonu

PUFA'lar ROT 'lara karşı oldukça hassastırlar ve kolayca lipit peroksidasyonu şekillenebilir. PUFA'ların PUFA-CoA'lara dönüşüm geçirmesini sağlayan Asil-CoA sentaz uzun zincirli aile üyesi 4 (ACSL4) hız kısıtlayıcı bir enzim olarak bilinir (209,210). PUFA-CoA'lar tekraren esterleşme reaksiyonlarına sokularak ve çoklu doymamış yağ asidi zinciri (PUFA-PL'ler) barındıran fosfolipidler biçimlendirebilmek için lisofosfatidilkolin asiltransferaz 3 (LPCAT3) vasıtasıyla membran fosfolipidlerine eklenir ve ardından ve ferroptozu tetikleme gayesiyle peroksidasyon geçirir (209–211). Bu süreç serbest Fe^{2+} ye bağıllık açısından fenton reaksiyonu ve dolayısıyla $OH^{\cdot}$ radikali ile bağımlıdır (37,209,211,212). Lipid peroksit üretim hızı arındırma

tepkimelerinin üstesinden gelince oluşan lipid peroksitler hem biyomoleküllere hemde membranlar üzerinde ciddi tahribatlar yaratarak ölüm hücre ölümü ile sonuçlanacaktır (209,212,213) (Şekil 29).

Peroksidasyon sonucu oluşan son ürünler olarak bilinen 4-HNE ve MDA oksidatif stres belirteci olarak kullanılabileceği gibi ferroptoz için de kullanılabilir (192).

2.10.2. Ferroptozun glutasyon ve GPx4 yoluyla düzenlenmesi

Glutasyon peroksidaz 4'ün (GPx4) kofaktörü olarak bilinen GSH hücresel manada en çok mevcut olan antioksidandır olmakla birlikte glisin, sistein ve glutamat isimli amino asitlerinden yapımları gerçekleştirilir (209,214,215). Sistein hız kısıtlayıcı bir öncüdür ve hücre dışı boşlukta ekseriyetle sistin biçimlendirecek şekilde oksitlenme gösterir. Hücreler sistin'i sistin-glutamat antiporteri (sistem Xc) ismi verilen SLC7A11 ve SLC3A2 isimli 2 alt ünite ihtiva eden sistem öncülüğünde alır ve sisteine dönüşümü GSH üretimi izler (209,216) (Şekil 29).

Ferroptozu tetikleyen moleküllerden biri olan elastin, tesirini sistem Xc'yi bloklama yoluyla GSH yapımını kontrolü altına alarak sınırlandırma şeklinde gösterir (206,209,211). Neticede antioksidan denge bozulur ve hücre ferroptoz için adeta bir hedef olur (209,217). Başka bir açıdan SLC7A11'in eksprese edilmesi moleküler olarak p53 ve BAP1 tümör süpresör genlerce bloklanabilir bu durumda sistinin alınamaz lipid peroksitler kümelenmesi ve yine ferroptoz için hedef olur (203,209,218).

2.10.3. Ferroptozun hücre içi demir öncülüğünde düzenlenmesi

Demir oksijen gibi ömrü devam ettirebilmek için elzem elementlerden biri olmakla birlikte birçok fizyolojik proste kritik öneme sahiptir. Lakin hem düşük hem de yüksek düzeylerde demir patolojik koşulların göstergesi olarak bilinmektedir.

Muhtelif dokularda katılan Fe^{2+} seruplazminin öncülüğünde ferrik demire (Fe^{3+}) dönüşümü yapılır ve dolaşımdaki gezinen Fe^{3+} hücre membranında ihtiva eden

transferrine kitlenir ve transferrin reseptör 1 (TRF1) öncülüğünde endositoz sayesinde içeri alınır (32). Ardından Fe^{3+} serbest bırakılır ve STEAP3'ün ferri-redüktaz etkinliğinde tekraren Fe^{2+} 'ye dönüşür ve demir havuzuna dahil olur. Fe^{2+} hücreyi ferroportin etkinlik ile bir demir akış pompası olarak bilinen SLC40A1 öncülüğünde zaman zaman da eksozomlar öncülüğünde terk eder (209,219). Demire bağlı iç denge bozunmaya uğradığında homeostazı bozulduğunda, olağan üstü düzeyde hücrenel bazlı Fe^{2+} ROT yapımına geçer ve Fenton reaksiyonu öncülüğünde demir ihtiva eden enzimleri aktive ederek işlevsel hale getirerek ferroptozu karşı hassasiyetin artması ile sonuçlanır. NCOA4'ün öncülüğünde otofaji ile tetiklenen ferritin lizozomal şekilde parçalanması, Fe^{2+} 'nin değişken demir havuzuna salıverilmesini tetikleyerek yine ferroptozu olan hassasiyeti üst düzeye çıkarır (208,209,220) (Şekil 29).

Ek olarak ferroportinin yitip gitmesi Fe^{2+} dışarıya atılımını bloklayarak, hücrede Fe^{2+} konsantrasyonunu artırır ve yine ferroptozu indükler (209,221,222).

2.10.4. Ferroptozun glutasyon ve GPx4 bağımsız yollar vasıtasıyla düzenlenmesi

Geçtiğimiz günlerde yapılan çalışmalar öncülüğünde bu 3 temel yolun yanı sıra ferroptozu karşı koruyucu ilave yollarında olduğu tespit edilmiştir. Bu tür savunma mekanizmasına örnek olarak ferroptoz baskılayıcı protein 1 (FSP1) verilebilir. Ubikinonu, ubikinole dönüştürmek için plazma membranına dahil olur. Ubikinol lipid peroksidleri tutarak hem hücre membranında hem mitokondriyal membranda lipid peroksidasyonunu engeller (209,223,224).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi (ZBEÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 03.11.2022 tarihinde 2022-18-03/11 protokol numaralı etik kurulu onayı alınmakla birlikte araştırmanın her aşamasında yapılan bütün işlemler etik kurul yönergesinde belirlenen kurallara göre gerçekleştirilmiştir. Var olan çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2023-98210206-04)

3.1. Deney Hayvanları

Mevcut çalışma ZBEÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarları ve ZBEÜ Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir ve ZBEÜ Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 03.11.2022 tarihinde 2022-18-03/11 protokol numaralı etik kurulu onayı temin edilmiştir. Çalışmada genç erişkin 40 adet 8-12 haftalık, 150-200 gr ağırlığında ZBEÜ Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarı tarafınca üretimi yapılan Wistar albino türü dişi sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma için sıçanlar rastgele seçilmek suretiyle biri kontrol üçü deney grubu olmak üzere toplam 4 grup şeklinde tasarlanmıştır. Tüm denekler deney süresi boyunca ideal laboratuvar koşullarında (sıcaklık 22 ± 1 °C, nem oranı $55 \pm 8\%$, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda), günlük içme suyu ve %21 ham protein içerikli pellet yemlerle ad libitum şekilde beslenmiştir. Deney grupları Tablo 9'daki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 9. Deney Grupları

Deney Grupları	
Kontrol Grubu (n=10)	Deneyin başından itibaren 3 hafta boyunca gün aşırı 0,5 ml/kg intraperitoneal (IP) yolla zeytinyağı verilecektir.
Desferal Grubu (n=10)	Desferal 3 hafta boyunca her gün, günde bir kez 100 mg/kg dozunda, serum fizyolojik (SF) içinde çözünmüş şekilde IP yolla verilecektir.
CCl ₄ Grubu (n=10)	CCl ₄ , 3 hafta boyunca gün aşırı olarak, 1/1 oranda zeytinyağında çözünmüş 0,5 ml/kg IP yolla verilecektir.

Desferal+CCl ₄ (n=10)	Grubu	CCl ₄ , 3 hafta boyunca gün aşırı olarak, 1/1 oranda zeytinyağında çözünmüş 0,5 ml/kg IP yolla verilecek, Desferal ise 3 hafta boyunca her gün, günde bir kez 100 mg/kg dozunda SF içinde çözünmüş şekilde IP yolla verilecektir.
-------------------------------------	-------	--

3.2. Kimyasalların Hazırlanması

Çalışmamızda sıçan akciğerinde deneysel akciğer hasarı meydana getirme gayesiyle ZBEÜ Mühendislik Fakültesi, Maden Mühendisliği bölümünden temin edilen CCl₄ (Saf Kimya, Türkiye) kullanıldı. CCl₄'e bağlı akciğer tahribatında bir antioksidan ve aynı zamanda demir şelatör olan Desferal (Novartis, Türkiye) kullanılarak koruyucu tesirin sergilenmesi amaçlandı.

Çalışma başlayana dek Desferal üretici tarafından önerilen koşullarda depolanarak, deney süresinde de SF ile uygun ölçüde sulandırılıp çözündürülerek 100 mg/kg dozunda verildi. Oda sıcaklığında muhafaza edilen CCl₄ ise 1/1 oranında zeytin yağında çözündürülerek 0.5 ml/kg dozunda verildi.

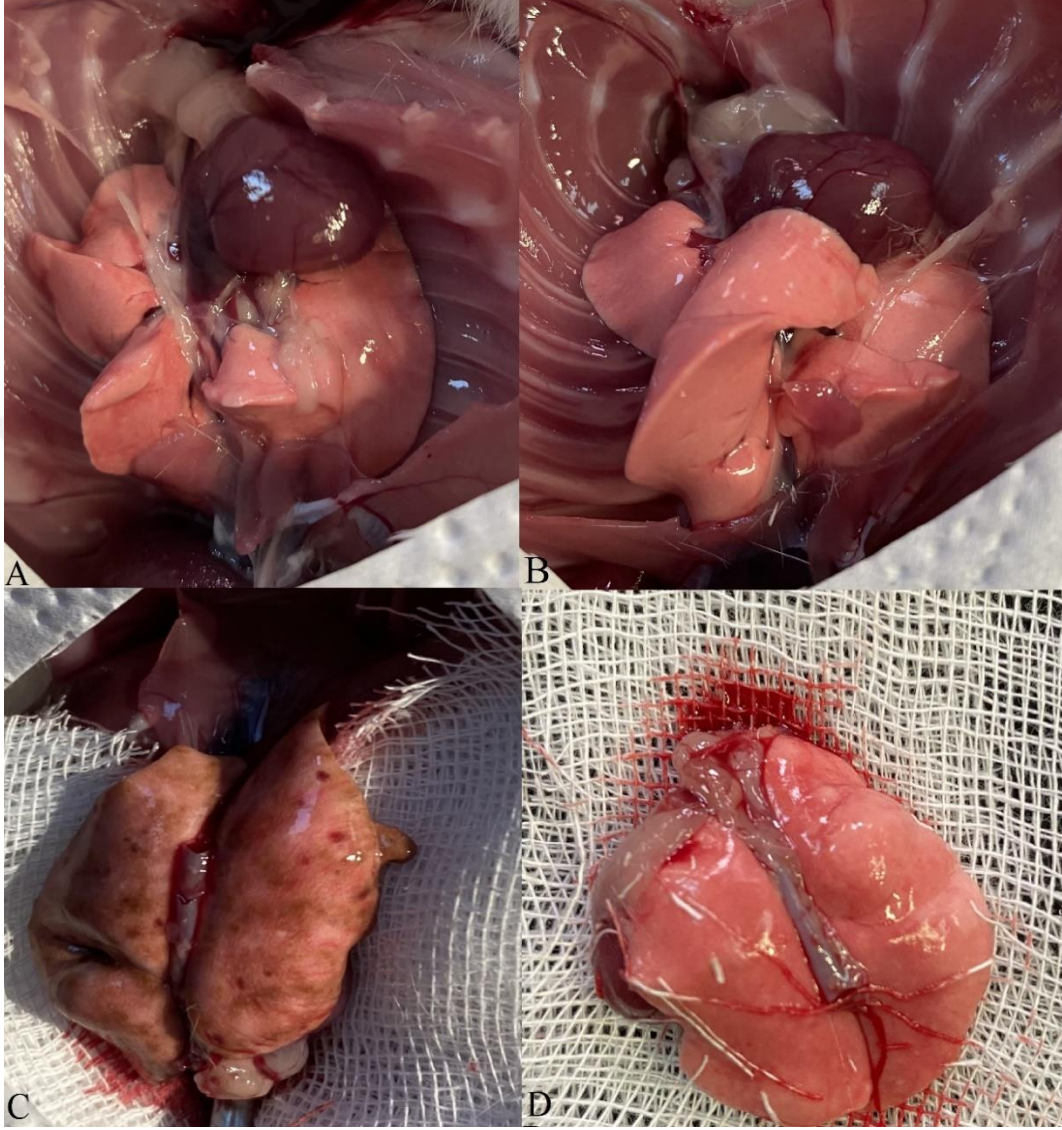
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deneyin ilk gününden son gününe dek, yapılacak enjeksiyonlar evvelinde denekler tek tek tartılmış olup ağırlıkları daha sonra istatistiksel analizlerde kullanılma gayesiyle kayıt altına alınmıştır.

3.4. Dokuların Alınması

21 günlük deney sürecinin ardından 22. günde, 90 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı, Türkiye) ve 10 mg/kg ksilazin (Rompun-Bayer, Türkiye) IP yol ile verilerek, denekler anesteziye alınmıştır. Ardından sakrifikasyon işlemi başlatılarak akciğer dokuları çıkarılmış ve hassas terazi (Ohaus, Adventurer Pro AV264C) ile tartılmıştır (Şekil 30). Tartım sonrası sağ akciğer, %10'luk formaldehit (MERCK-Darmstadt, Almanya) çözeltisine konulmuş olup fiksatifin tüm dokuya nüfus etmesi

ve yüzeye çıkmaması için üzeri bir miktar spanç ile kapatılmıştır. Geriye kalan sol akciğer örnekleri ise biyokimyasal parametrelerin işlenmesinde kullanılmak üzere -80 °C'lik derin dondurucuda depolanmıştır.



Şekil 30. Akciğer dokularının çıkarılması

A: Kontrol grubu, B: DFO grubu, C: CCl₄ grubu, D: CCl₄+DFO grubu.

3.5. Doku Takibi

Dokuların ışık mikroskopik düzeyde incelenebilir hale getirilmesi için gerekli işlemler Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Doku takibi süreci

Süre	İşlem
24 saat	Akciğer dokusu %10'luk formaldehit içinde bekletildi.
24 saat	Dokular yeterince sertleşip kesilebilir vaziyete gelince makroskobi yapıldı, ardından dokular kasetlenip ve akan çeşme suyunun altına alındı.
24 saat	Doku kasetleri %70'lik alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri %90'lık alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri tekrardan %90'lık alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri %96'lık alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri tekrardan %96'lık alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri %100'lük alkol içine alındı.
1 saat	Doku kasetleri tekrardan %100'lük alkol içine alındı.
15 dk	Doku kasetleri cam bir kap içerisinde toluene (MERCK) alındı.
15 dk	Doku kasetleri tekrardan toluene alındı.
24 saat	Doku kasetleri etüv içindeki sıvı parafine (MERCK) konuldu.
	Kasetler açılarak basemold adı verilen çelik gömme kalıpları kullanılarak gömme işlemi ve ardından bloklama işlemi yapıldı.

3.6. Kesitlerin Alınması ve Rutin Histolojik Boyamalar

Oluşturulan akciğer dokusu bloklarından Shandon Finesse 325 marka silindirli mikrotom vasıtasıyla 5µ kalınlığındaki kesitler alınarak, 38 C° de su banyosunda katlantıları açılıp düzleştikten sonra lamlara alınarak oda sıcaklığında kurutulmuştur. Işık mikroskobik düzeyde akciğer dokusunun temel histolojik yapı ve niteliklerinin değerlendirilmesi amacıyla Hematoksilen & Eozin (H&E), Masson Trikrom ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama prosedürleri (Tablo 11,12,13) uygulanmakla

birlikte bu preparatlar Ax10 Lab A1 (Zeiss Germany) marka ışık mikroskopunda incelemelere tabi tutulmuştur. İmmünohistokimyasal boyamalar için farklı olarak 3µ kalınlığında kesitler alınarak TNF- α (Novus bio), IL-1 β (Bioss), Kaspaz 9 (Thermo scientific) ve Bax (Bioss) boyama protokolleri uygulanmıştır.

Tablo 11. H&E Boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü

H&E Boyama Prosedürü	
Kimyasallar	Uygulama Şekli
Toluen	15 dk x2
Alkol Serisi %100, %96, %90 ve %70	Sırasıyla 1 dk, 3 dk, 3 dk ve 5 dk
Durgun çeşme suyu	3 dk
Hematoksilen Boyası	10 sn
Su	Çalkalama
Asit Alkol	Batır çıkar
Akar su	20 dk
Eozin Boyası	4 dk
Su	Çalkalama
%70 ve %90 Alkol	Batır çıkar
%96 Alkol	5 dk
%100 Alkol	10 dk x2
Toluen	15 dk x2
Entellan (MERCK)	Lam üzerine damlatılır, lamel kapatılarak yapıştırılır.

Masson trikrom boyama protokolü Tablo 12’de gösterilmiştir:

Tablo 12. Masson trikrom boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü

Masson Trikrom Boyama Prosedürü	
Kimyasallar	Uygulama Şekli
Toluen	15 dk x2
Alkol Serisi %100, %96, %90 ve %70	Sırasıyla 1 dk, 3 dk, 3 dk ve 5 dk
Durgun çeşme suyu	3 dakika
Weigert Hematoksilen Boyası	6 dk
Akar su	15 dk
Ponzo Boyası	7 dk
Su	Çalkalama
%1’lik asetik asit	Batır çıkar
%1’lik Fosfotungustik asit	15 dk
%1’lik asetik asit	Batır çıkar
Işık Yeşili Boyası	10 sn
Su	Çalkalama
T%1’lik Asetik Asit	Batır çıkar
%70 ve %90 Alkol	Batır çıkar
%96 Alkol	5 dk
%100 Alkol	10 dk x2
Toluen	15 dk x2
Entellan	Lam üzerine damlatılır, lamel kapatılarak yapıştırılır.

PAS boyama protokolü Tablo 13'te gösterilmiştir:

Tablo 13. PAS boyamada kullanılan kimyasallar ve uygulama prosedürü

PAS Boyama Prosedürü	
Kimyasallar	Uygulama Şekli
Toluen	15 dk x2
Alkol Serisi %100, %96, %90 ve %70	Sırasıyla 1 dk, 3 dk, 3 dk ve 5 dk
Durgun çeşme suyu	3 dakika
Periyodik Asit	15 dk
Akar su	10 dk
Distile Su	3x çalkalama
Shiff reaktifi	Karanlık ortamda 27 dk
Yıkama solüsyonu 1	5 dk
Yıkama solüsyonu 2	5 dk
Yıkama solüsyonu 3	5 dk
Akar su	5 dk
Hematoksilen Boyası	25 sn
Akar su	20 dk
%70 ve %90 Alkol	Batır çıkar
%96 Alkol	5 dk
%100 Alkol	10 dk x2
Toluen	15 dk x2
Entellan	Lam üzerine damlatılır, lamel kapatılarak yapıştırılır.

3.7. Histomorfometrik Değerlendirme

Axio Lab A1 (Zeiss Germany) marka ışık mikroskopunda rutin histolojik boyamalar, immünohistokimyasal boyamalar incelenerek fotoğraflanmıştır. Adobe Photoshop programı vasıtasıyla fotoğraflar düzenlenerek şekil yazıları eklenmiştir. H&E boyalı preparatlarda belirlenen kriterlerde histolojik skorlamalar yürütülmüştür. Bu preparatlar alveolar makrofaj, perialveolar hemoraji ve interstisyel inflamatuvar hücre reaksiyonu bakımından değerlendirmeye alınarak 0-3 arasında skorlama yapılmıştır ve her akciğer dokusu için 10 alan değerlendirilmiştir (6,101). Örneğin:

- 0: Alveoler/interstisyel alanlarda perialveolar hemoraji yok
- 1: Alveoler/interstisyel alanlarda 0-5 perialveolar hemoraji
- 2: Alveoler/interstisyel alanlarda 5-10 perialveolar hemoraji
- 3: Alveoler/interstisyel alanlarda >10 perialveolar hemoraji

Septum kalınlığı ve vakuolizasyon kriterleri için de her akciğer dokusundan yine 10 alan değerlendirmeye alınmış olup ve inceleme sırasında kriterin o alandaki yüzdesine göre 0-3 arası skorlanmıştır. Örneğin:

- 0: Septum Kalınlığı Yok
- 1: %33'lük Alanda
- 2: %33-66'lük alanda
- 3: %66'lük ve daha fazlası alanda

3.8. İmmünohistokimyasal Analizler

Kaspaz 9, TNF- α , Bax ve IL-1 β ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Zeiss marka Axio Lab mikroskop öncülüğünde H-Skor analizleri yardımıyla icra edilmiştir. Bu vasıtayla ekspresyon seviyeleri semikantitatif (0, boyanma olmamış; 1+, zayıf lakin saptanabilir boyanma; 2+, orta veya dikkat çekici boyanma; 3+, kuvvetli boyanma) olarak değerlendirilmiştir. Her bir kesit için H-Skor değeri, her bir yoğunluk

sınıfına ait boyalı hücre yüzdesinin yoğunluk ile çarpımı ile temin edilmiştir. H-Skor = $\sum i \times P_i$, i ; yoğunluk skoru, P_i ; hücre yüzdesi Skorlama ışık mikroskobu öncülüğünde, X40 objektif büyütmesiyle, her kesit için rasgele belirlenen 20 bölgede gerçekleştirilen, istatistiksel analizlerde ortalama skorlar olarak yararlanılmıştır (225).

İmmünohistokimyasal boyama prosedürleri Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14. TNF-a, IL-1 β , Kaspaz-9 ve Bax Boyama Prosedürleri

Süre	İşlem
20 dk x2	Toluene konur.
Sırasıyla 1 dk, 3 dk, 3 dk ve 5 dk	Alkol serisinden (%100, %96, %90 ve %70) geçirilir.
3 dk	Distile suda bekletilir.
Kaynayana kadar	Sitrat buffer ve Triton x-100 suya eklenir ve kaynatılır. Taşmamasına dikkat edilir.
10 dk	Mikrodalganın defrost (buz çözme) ayarında bekletilir.
5 dk	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
	Dokuların çevresi hidrofobik bariyer sağlayan doku sınırlama kalemi (pap pen) ile çizilir.
5 dk	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
10 dk	Large volüm ultra v blok yapılır.
5 dk x2	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
	PBS içinde 1/1000 oranında TNF- α , IL-1 β , Kaspaz 9 ve Bax için dilüsyon işlemi yapılır.
24 saat	Beklemeye alınır.
5 dk x2	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
20 dk	%8’lik H ₂ O ₂ ile müdahale edilir.
5 dk x2	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
30 dk	Sekonder antikor damlatılır.
5 dk x2	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
20 dk	Streptavidin damlatılır.
5 dk x2	PBS vasıtasıyla yıkama yapılır.
1 dk 27 sn	Mikroskop altında DAB (3,3’-diaminobenzidin) damlatılır.
40 sn	Hematoksilen boyama yapılır.
20 dk	Akar suya alınır.

	Sırasıyla %70 ve %90 alkole batırıp çıkarılır.
5 dk	%96'lık alkolde bekletilir.
10 dk x2	%100'lük alkolde bekletilir.
20 dk x2	Toluende bekletilir.
	Lam üzerine entellan damlatılır, lamel kapatılarak yapıştırılır.

3.9. Biyokimyasal Analizler

Akciğer dokularında ELISA yöntemi öncülüğünde MDA (Rel assay, Türkiye) CAT (Rel assay, Türkiye) ve GPx (Rel assay, Türkiye) tayinleri yapılmıştır.

3.10. İstatiksel Analizler

İstatistik analizler jamovi 2.3.21 paket programı vasıtasıyla yapılmıştır. Biyokimyasal parametrelerin indeksi ortalama±standart sapma öncülüğünde değerlendirilmiştir. Akciğer dokusunun histolojik skorlamaları neticesinde ulaşılan değerler ve immunohistokimyasal H-Skor dataları medyan (min-max) ile olarak gösterilmiştir. Dataların normal dağılım için uygun olup olmadığına Shapiro-Wilk testi vasıtasıyla incelenmiş ve normal dağılıma uyan niceliksel değerleri kıyaslama amacıyla tek yönlü varyans analizinden yararlanılmıştır. Değişkenlerin homojenlik koşuluna göre Bonferroni ya da Dunnet doğrulama testleri vasıtasıyla gruplar arasında fark ortaya çıkarsa bu farkın hangi gruplar arasında olduğu saptanmıştır. Kruskal Wallis testinden, normal dağılıma uygun kalitatif değerleri kıyaslama gayesiyle yararlanılmıştır. İkili kıyaslamalı analizlerde Mann Whitney U testinden yararlanılmıştır.

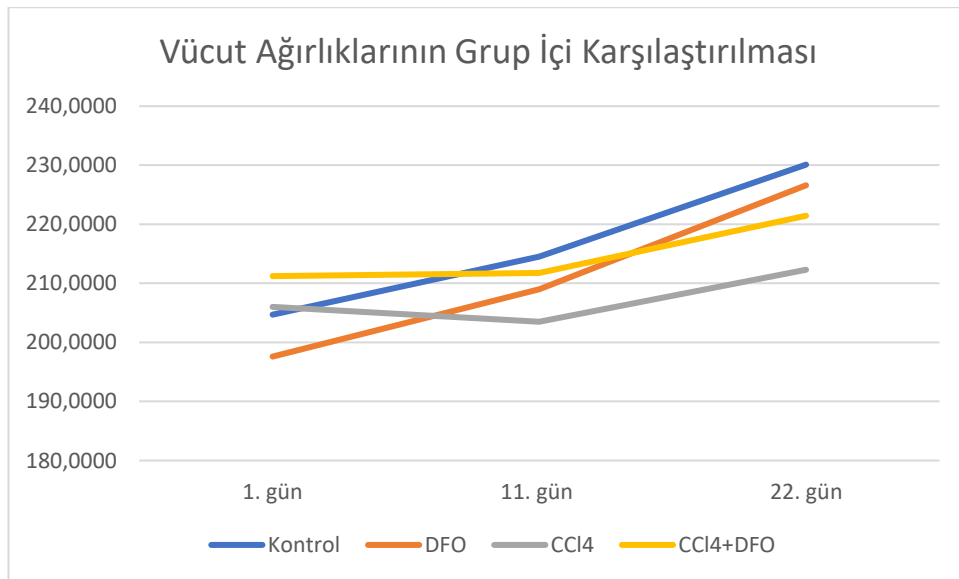
4.BULGULAR

Çalışmada, Wistar albino sıçanlar kullanılarak CCl₄'ün akciğere verdiği hasar ve hasarı tamir etme yönünde DFO'nun koruyucu etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu hedef ışığında çeşitli yöntemler uygulanarak sonuçlar kaydedilmiştir. Bu yöntemler:

- ❖ Deneklerin vücut ağırlık değişimlerinin ve ortalama akciğer ağırlıklarının değerlendirilmesi,
- ❖ Dokudan biyokimyasal analizlerin yapılması
- ❖ Akciğer dokusu için rutin histolojik boyamaların yapılması,
- ❖ Akciğer dokusunu morfometrik olarak değerlendirerek skorlamalar yapılması,
- ❖ İmmünohistokimyasal analizler sonrasında H-Skor yapılarak değerlendirilmesidir.

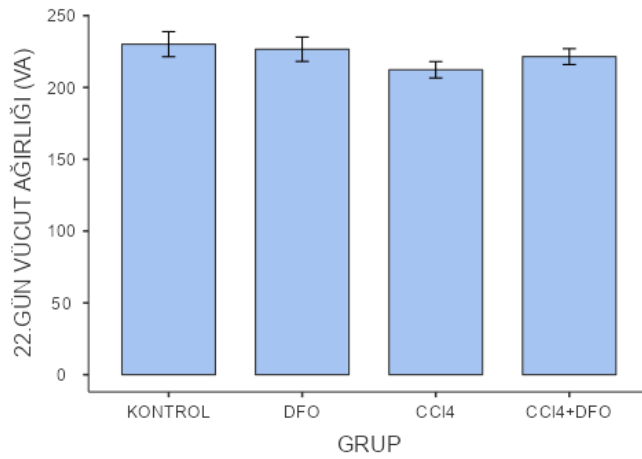
4.1. Vücut Ağırlıkları ve Akciğer Ağırlıkları

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda hayvan ağırlıklarının grup içi karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte 1. ve 22. Gün ağırlık ortalamaları arasındaki farkın en az olduğu grup CCl₄ grubuydu.



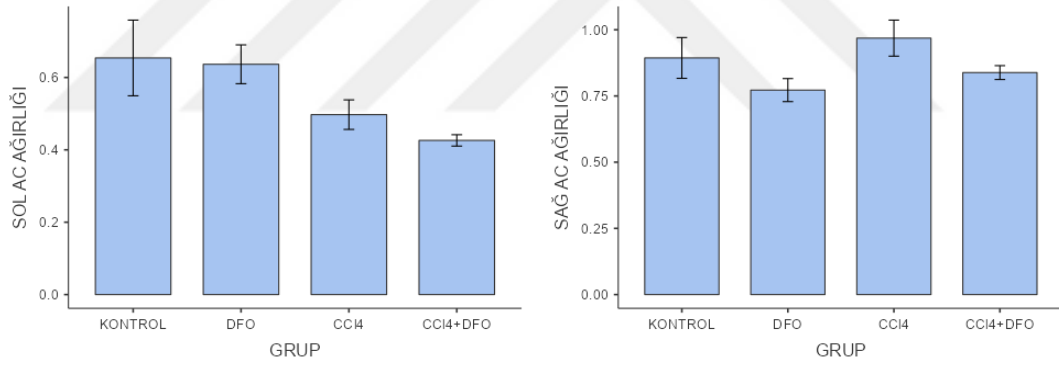
Şekil 31. Vücut ağırlıklarının grup içi karşılaştırılması

Deneklerin son günde vücut ağırlıkları arasında anlamlı fark bulunamamıştır.



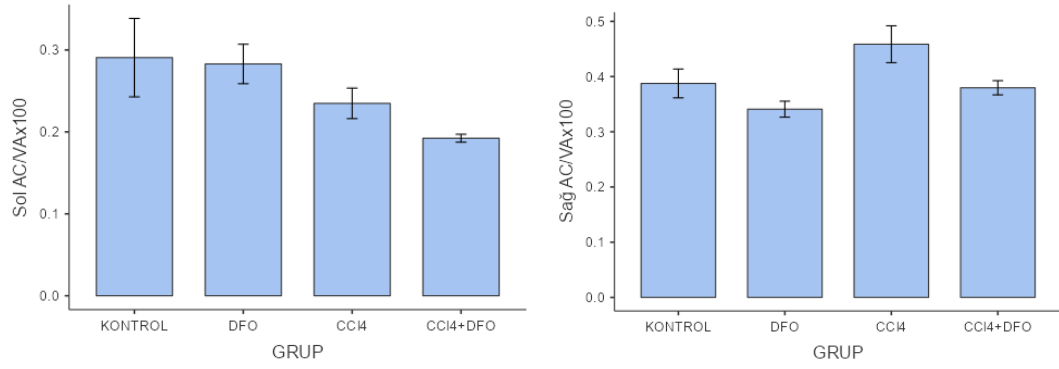
Şekil 32. Deneklerin son günde vücut ağırlıkları

Deneklerin sakrifikasyon sonrası akciğer loblarının tartılmasından elde edilen verilerde gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır.



Şekil 33. Deneklerin akciğer ağırlıkları

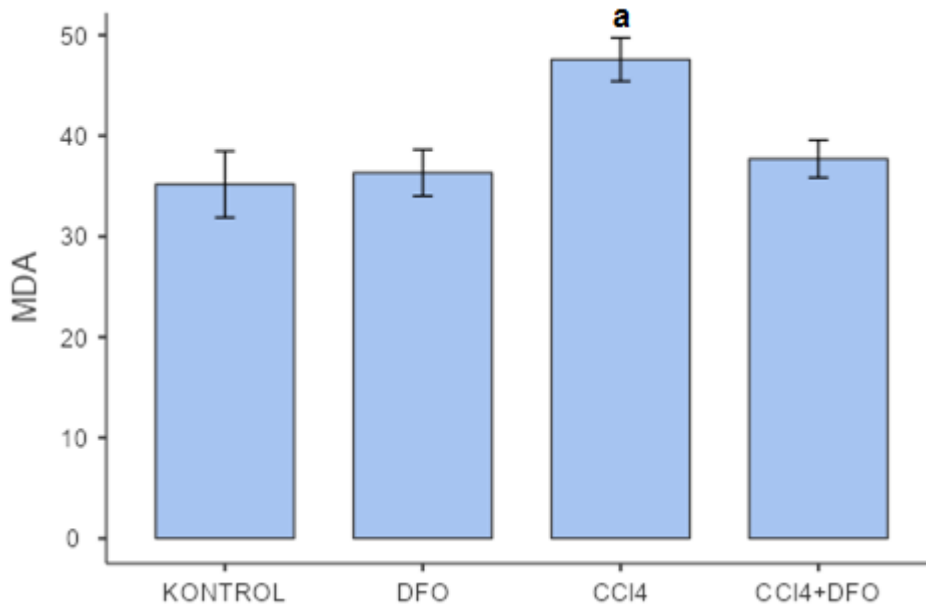
Deneklerin sağ ve sol akciğer ağırlıklarının vücut ağırlığına bölünerek 100 ile çarpılmasıyla elde edilen verilerde elde gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır.



Şekil 34. Deneklerin sağ ve sol akciğer ağırlıklarının vücut ağırlığına bölünerek 100 ile çarpılmasıyla elde edilen veriler

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında MDA seviyesi en yüksek olan grup CCl₄ grubu olmuştur ($p < 0,05$).



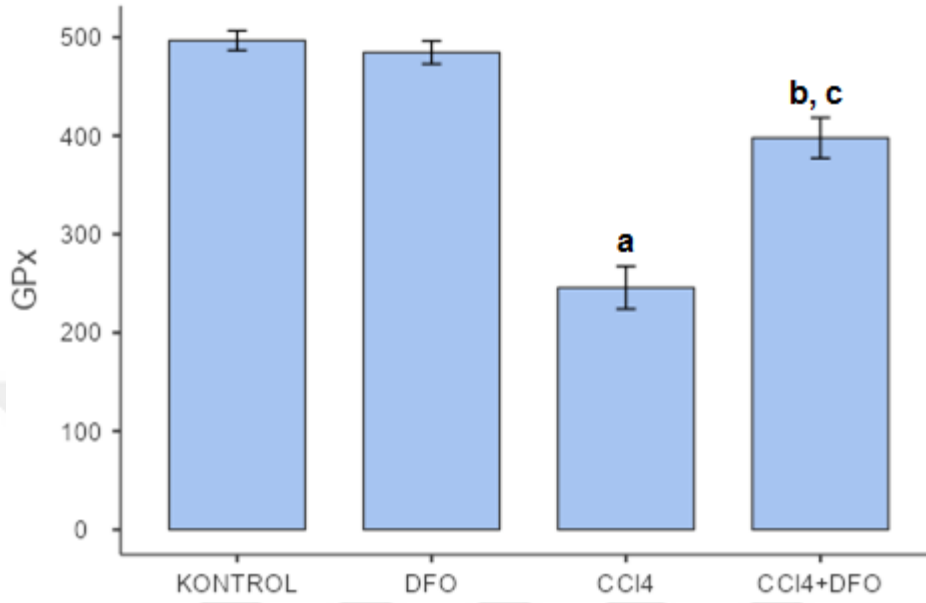
Şekil 35. Akciğer dokusunda gruplar arası MDA seviyelerinin kıyaslanması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları işaret eder.

^aKontrol, DFO ve CCl₄+DFO gruplarından farklı ($p < 0,05$)

Gruplar arası kıyaslamalar sonucunda en düşük GPx düzeyi CCl₄ grubunda izlenmiştir. CCl₄ ve CCl₄+DFO grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur. (p<0,01)



Şekil 36. Akciğer dokusunda gruplar arası GPx seviyelerinin kıyaslanması

Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

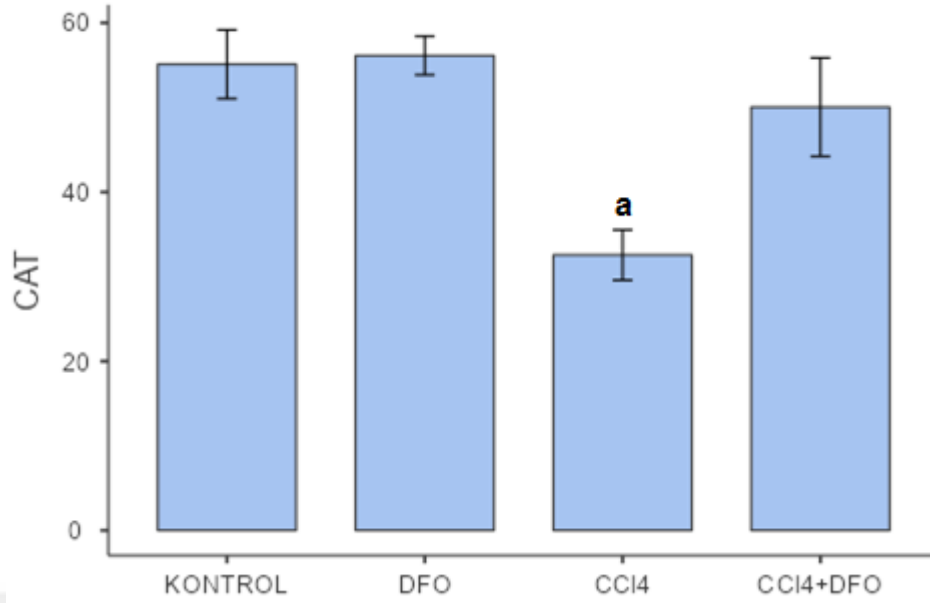
Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları işaret eder.

^aKontrol ve DFO gruplarından farklı (p<0,01),

^bKontrol ve DFO gruplarından farklı (p<0,05),

^cCCl₄ grubundan farklı (p<0,01)

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında CAT seviyelerinin CCl₄ grubunda azaldığı ancak tedavi grubundan farklı olmadığı izlenmiştir.



Şekil 37. Akciğer dokusunda gruplar arası CAT seviyelerinin kıyaslanması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları işaret eder.

^aKontrol ve DFO gruplarından farklı ($p < 0,01$).

4.3. Histolojik Bulgular

Akciğer dokularından alınan kesitler üzerine hematoksilin & eozin (H&E), Masson Trikrom ve Periyodik asit shiff (PAS) rutin boyamaları uygulanmıştır.

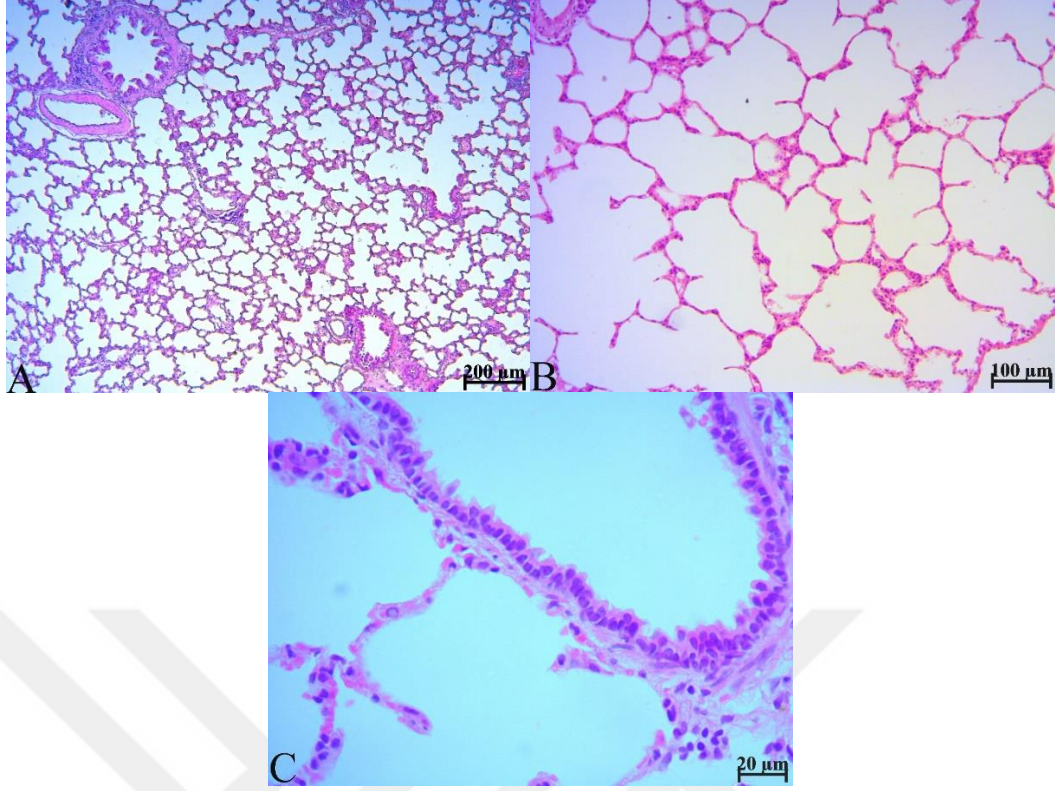
4.3.1. H&E boyama

Kontrol ve DFO gruplarına ait deneklerin akciğer dokusu kesitlerinde; akciğer içi hava yollarının ve alveol yapılarının normal morfolojide olduğu izlenmiştir. Polihedral şekilli alveollerin tek katlı yassı epitel ile döşeli olduğu ve birbirlerinde kapiller damarları ve ince bir bağ dokusunu içeren interalveoler septumla ile ayrıldığı gözlenmiştir.

CCl₄ grubu deneklerinin akciğer dokuları incelendiğinde interalveoler septumların kalınlaşması sonucu akciğer dokusunun sıkı parankimatöz bir yapıya

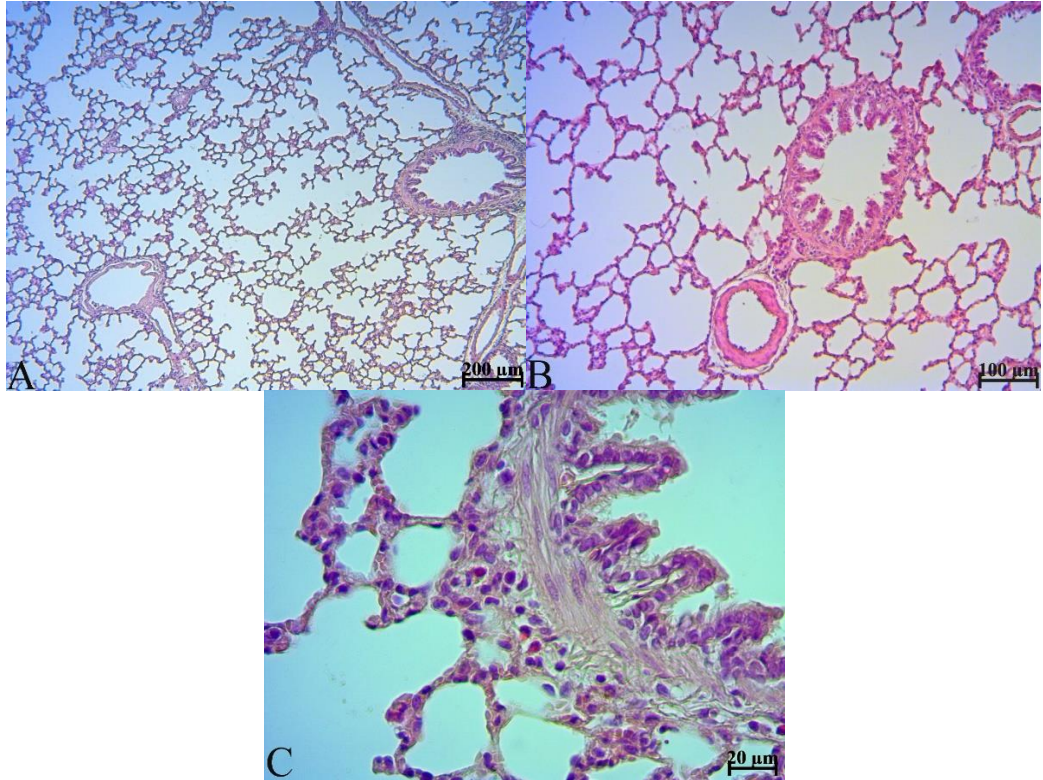
büründüğü görülmüştür. Alveoller arası septumların kalınlaştığı alanlarda başta bazılarının sitoplazmaları hemosiderin birikimine işaret edecek şekilde sarımsı kahverengimsi renkte gözlenen makrofajlar olmak üzere yer yer lenfositler ile az sayıda nötrofilik infiltrasyon varlığı dikkat çekmiştir. Alveoler septal kalınlaşmanın sonucu olarak alveollerin poligonal yapılarını kaybederek genişlemiş septumlar arasında sıkıştığı ve vakuoller şeklinde görülmeye bağlandığı dikkat çekmektedir. Septal kalınlaşmanın olmadığı alanlarda alveoler makrofajların alveol lümenlerinde yoğun şekilde yayıldığı görülmüştür. Bu gruba ait deneklerin akciğer dokularında alveoler septumlarda, alveoler lümenlerde ve yer yer bronşiol lümenlerinde kanama alanları dikkat çekmektedir. Bazı kanama bölgelerinde eritrositlerin damar dışına çıkarak küçük hava yollarına sızması ve burada sıkışmaları sonucu ortaya çıkan çubuk şekilli eritrosit kristalleri gözlenmiştir. Bu grup deneklerin akciğer dokularında yer yer vasküler konjesyona mevcudiyeti dikkat çekmektedir.

CCl₄+DFO grubu deneklerin akciğer dokularının H&E boyanmış preparatları incelendiğinde sınırlı alanlarda septal kalınlaşma varlığı devam etse de normal görünümlü geniş alveoler alanlar ile bronşiol yapılarının varlığı dikkat çekmiştir. Buna paralel olarak bu grup ta vakuolizasyon da oldukça azalmıştır. Bu grup deneklerde çok sınırlı alanlarda kanama bölgeleri gözlenmekle birlikte bu alanların hiçbirinde eritrosit kristali gözlenmemiştir.



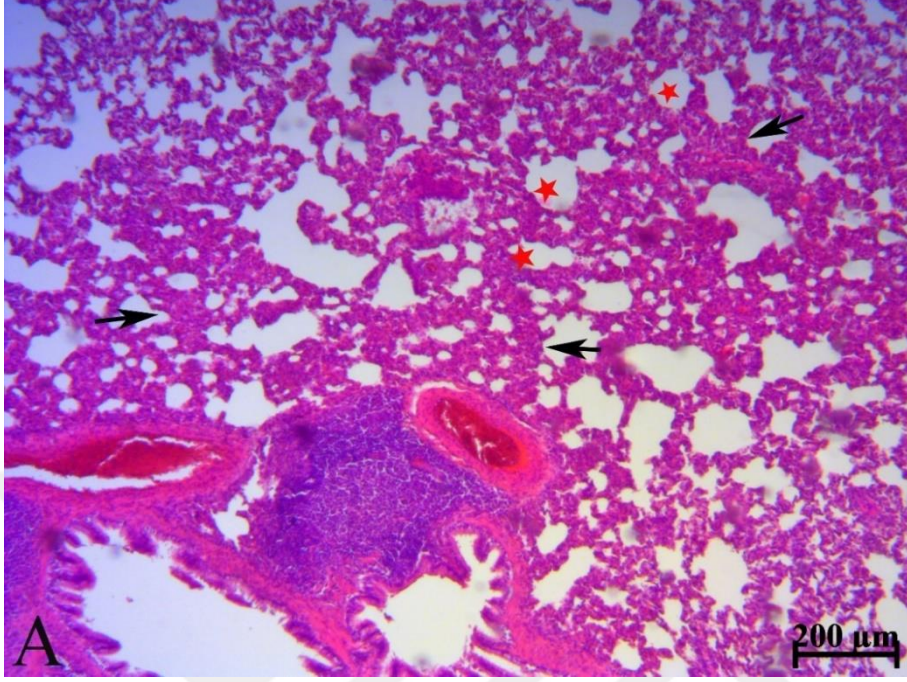
Şekil 38. Kontrol grubuna ait H&E boyamaları

İnteralveoler septumlar ince, normal morfoloji sergileyen bronşiyol epiteli ve çok sayıda alveolar kese izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 200 µm, B: 100 µm, C:20 µm.



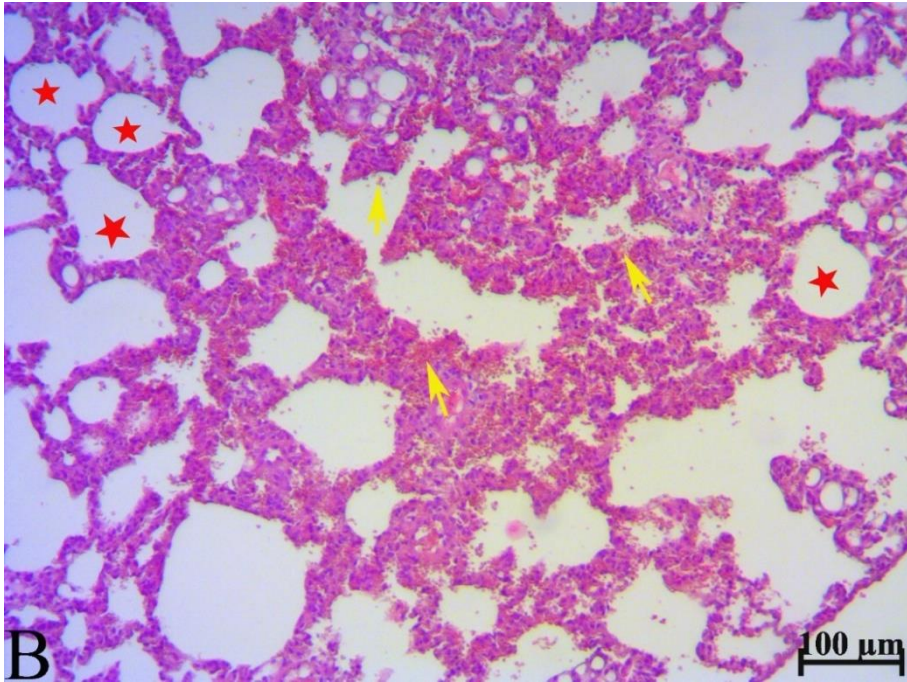
Şekil 39. DFO grubuna ait H&E boyamaları

Kontrol grubuna benzer bir morfoloji izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 200 μm , B: 100 μm , C:20 μm .



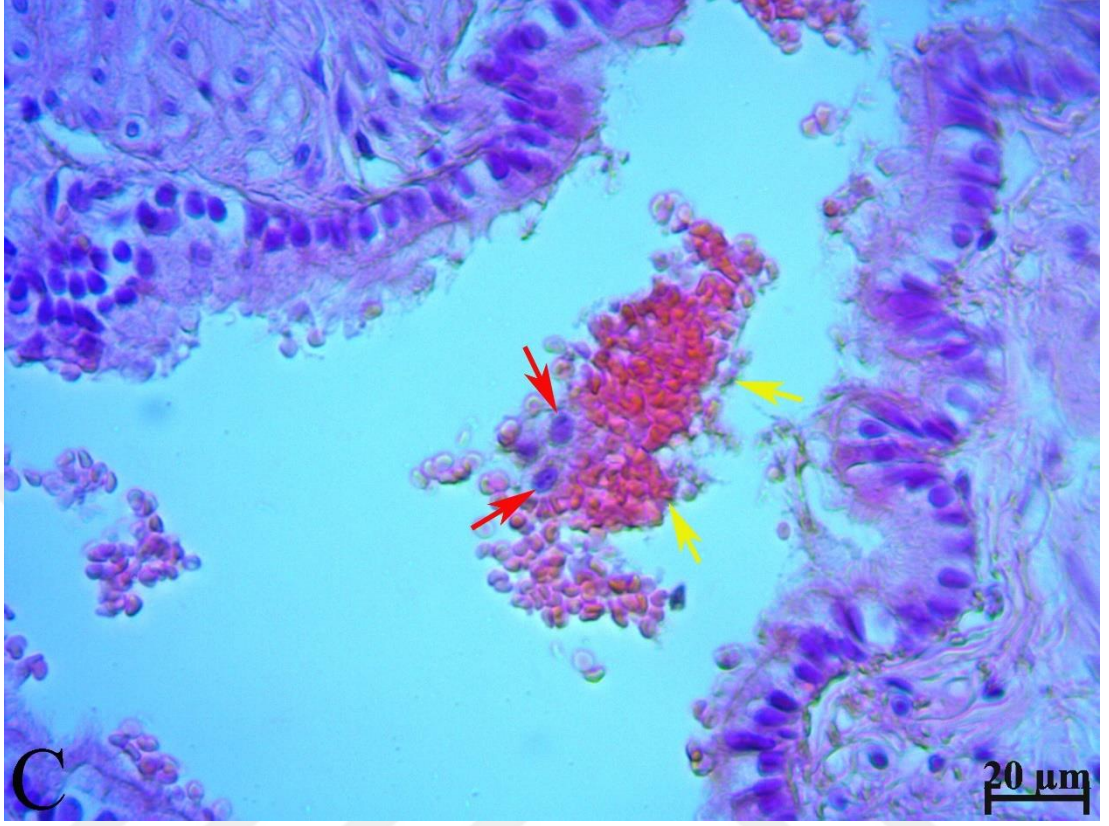
Şekil 40. CCl_4 grubuna ait kesitin H&E boyaması

Vakuolizasyon (kırmızı yıldız) ve alveolar septal kalınlaşma (siyah ok) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 200 μm .



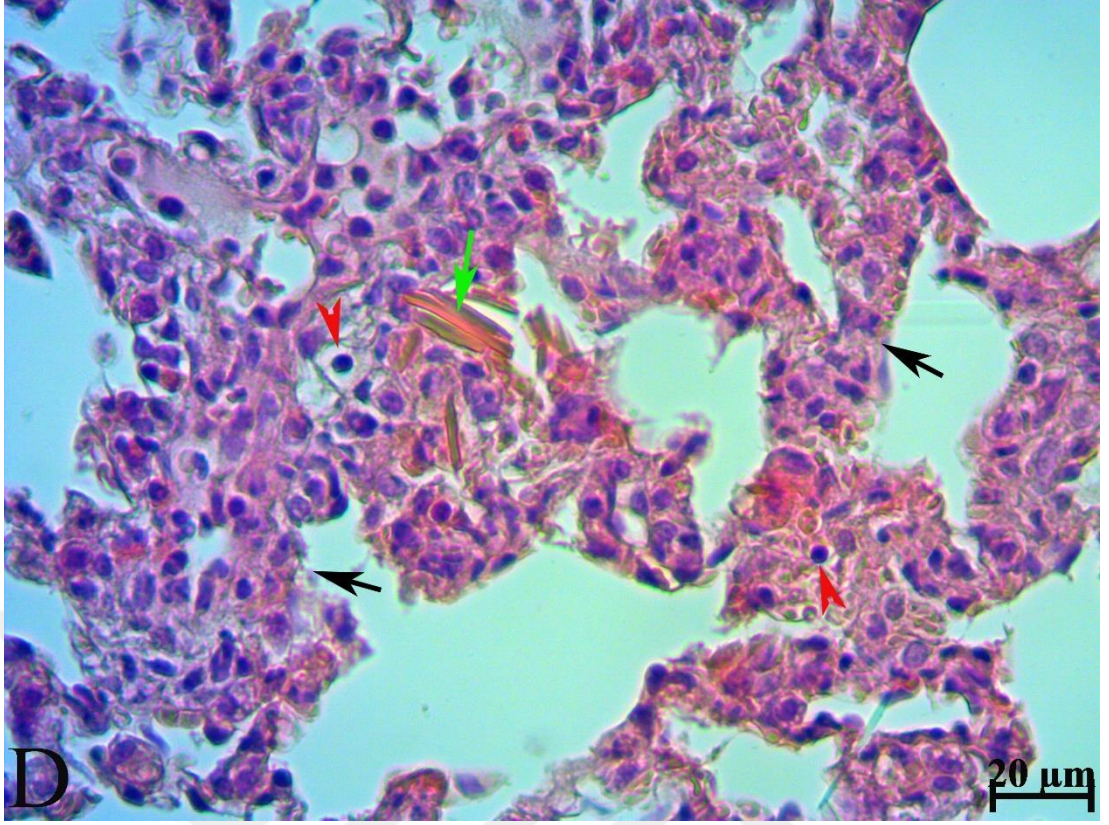
Şekil 41. CCl_4 grubuna ait kesitin H&E boyaması

Hemoraji alanları (sarı ok) ve vakuolizasyonlar (kırmızı yıldız) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; B: 100 μ m.



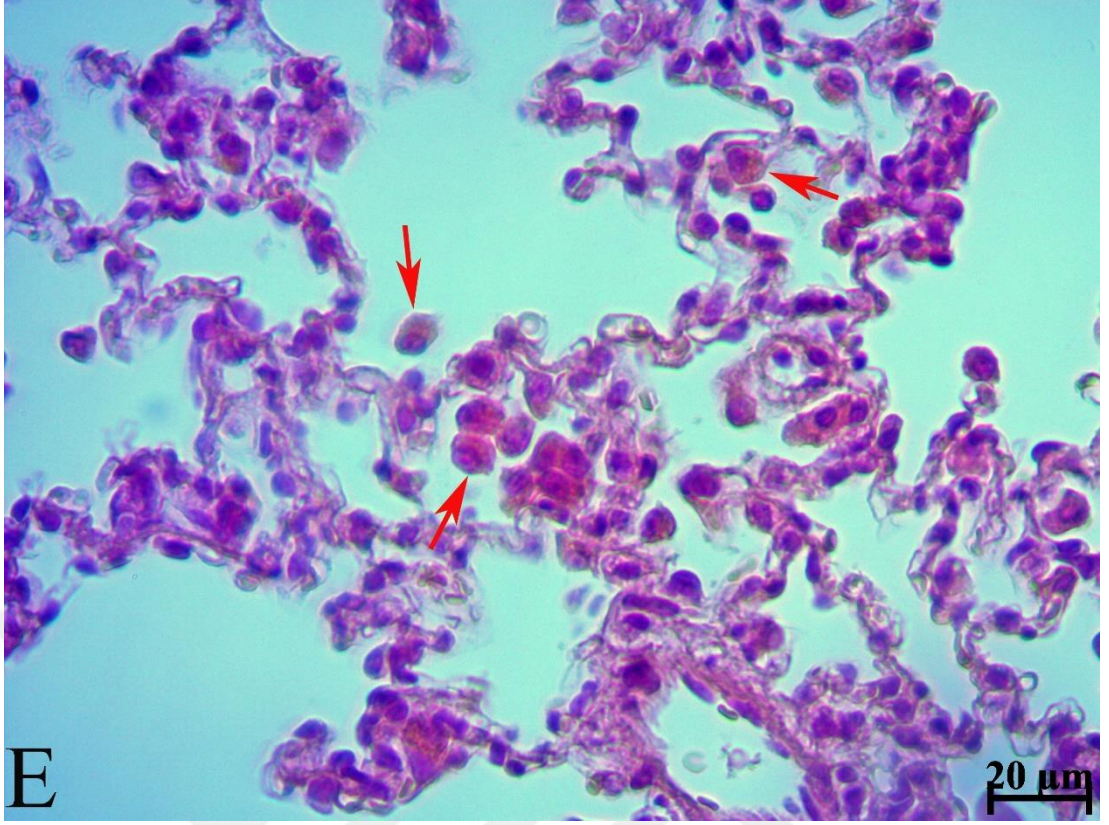
Şekil 42. CCl₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması

Bronşiyol lümeninde hemoraji (sarı ok) ve makrofajlar (kırmızı ok) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; C:20 μ m.



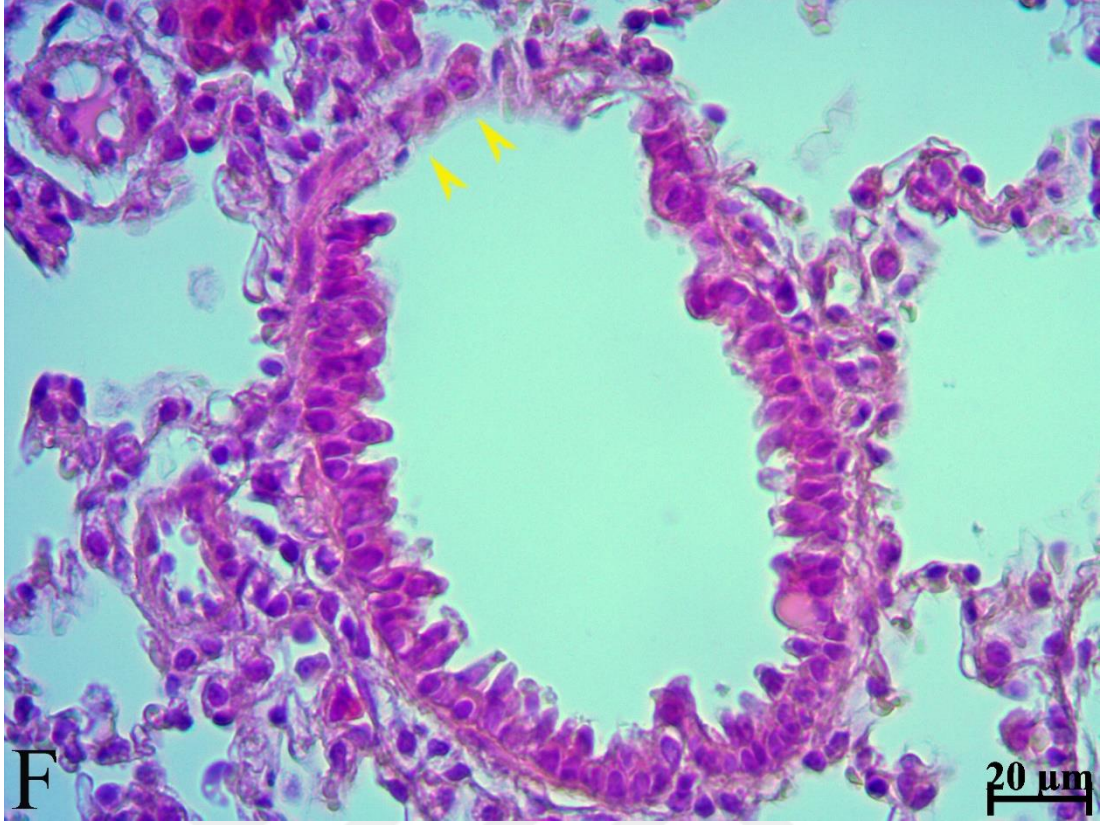
Şekil 43. CCl₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması

Eritrosit kristalleri (yeşil ok) ve lenfositler (kırmızı ok başı) ve alveolar septumda kalınlaşma (siyah ok) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; D:20 µm.



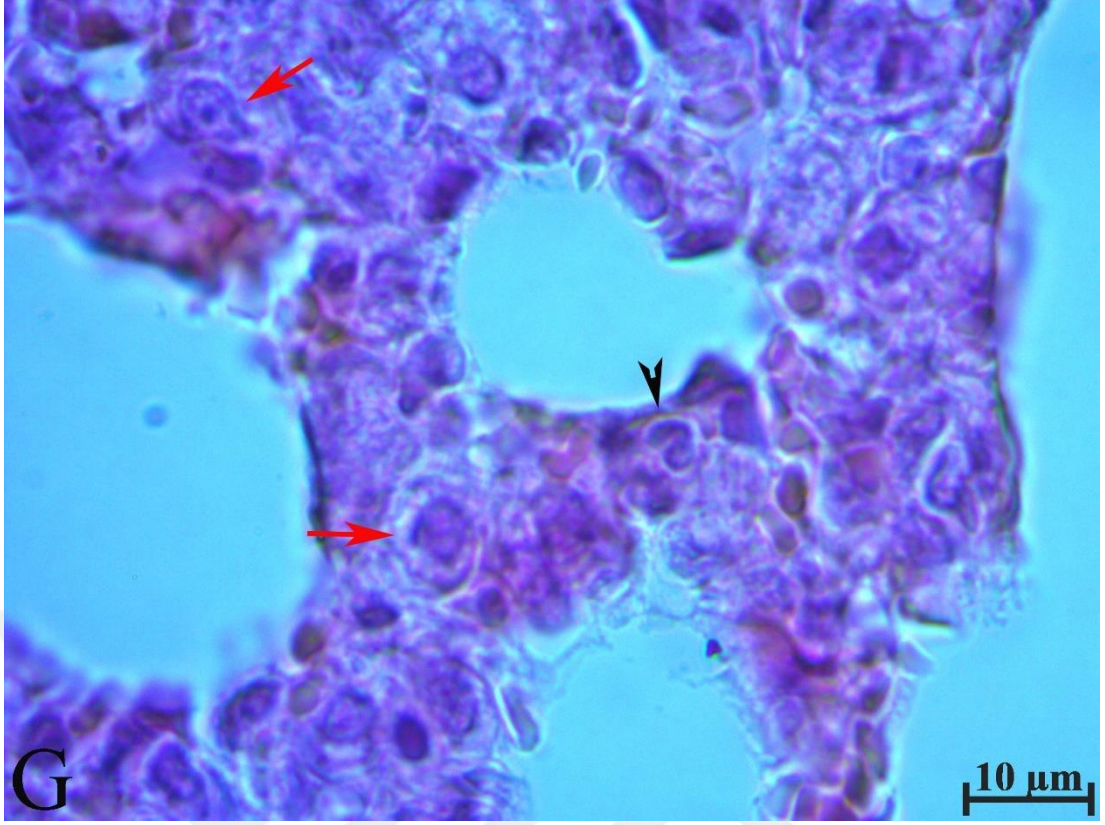
Şekil 44. CCl₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması

Yoğun olarak makrofajlar (kırmızı ok) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; E:20 µm,



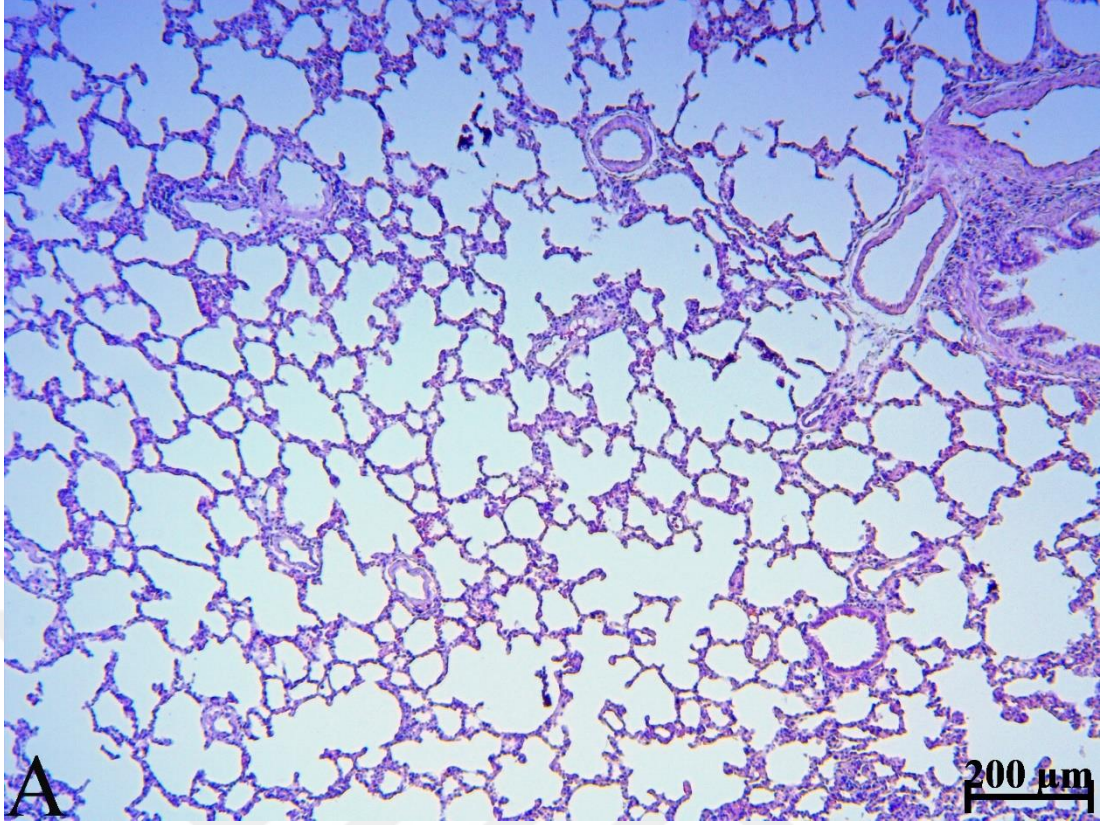
Şekil 45. CCl₄ grubuna ait kesitin H&E boyaması

Epitel deskuamasyonu (sarı ok başı) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; F:20 µm.



Şekil 46. CCl₄ grubuna ait H&E boyamaları

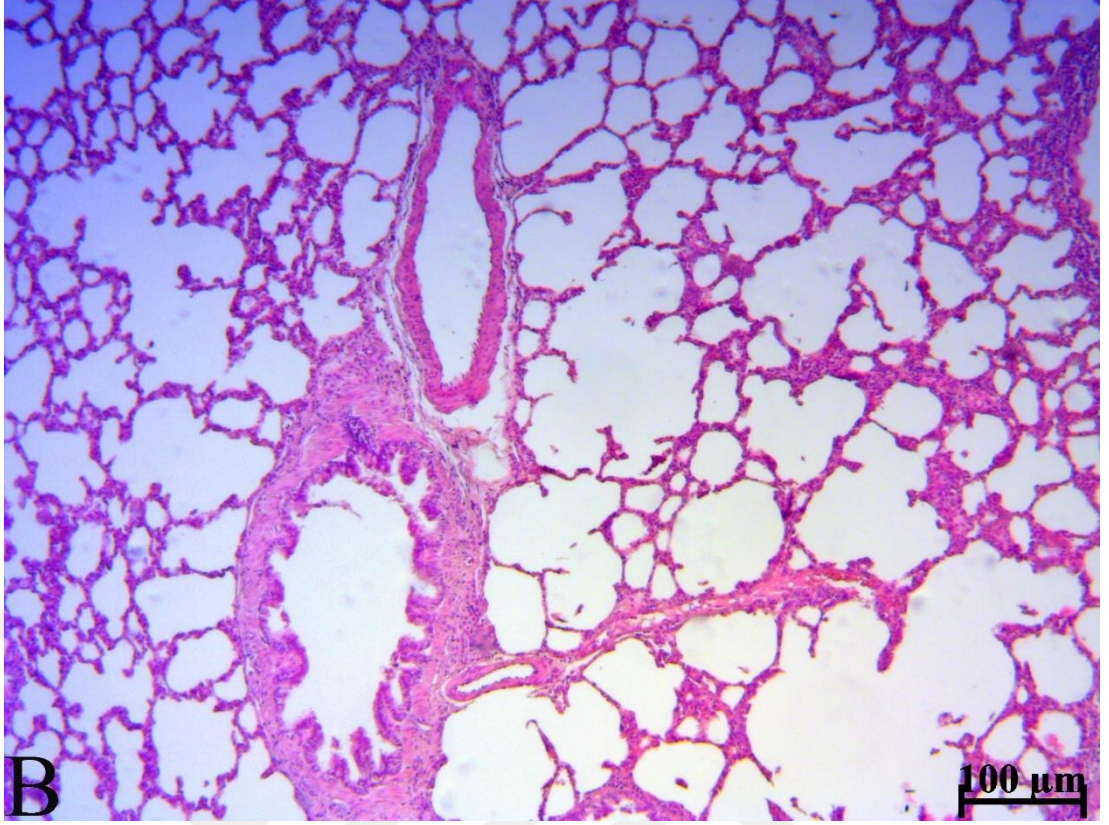
Makrofajlar (kırmızı ok) ve nötrofil (siyah ok başı) izlenmektedir. Ölçü çubuğu; G:10 µm.



Şekil 47. CCl₄+DFO grubuna ait H&E boyamaları

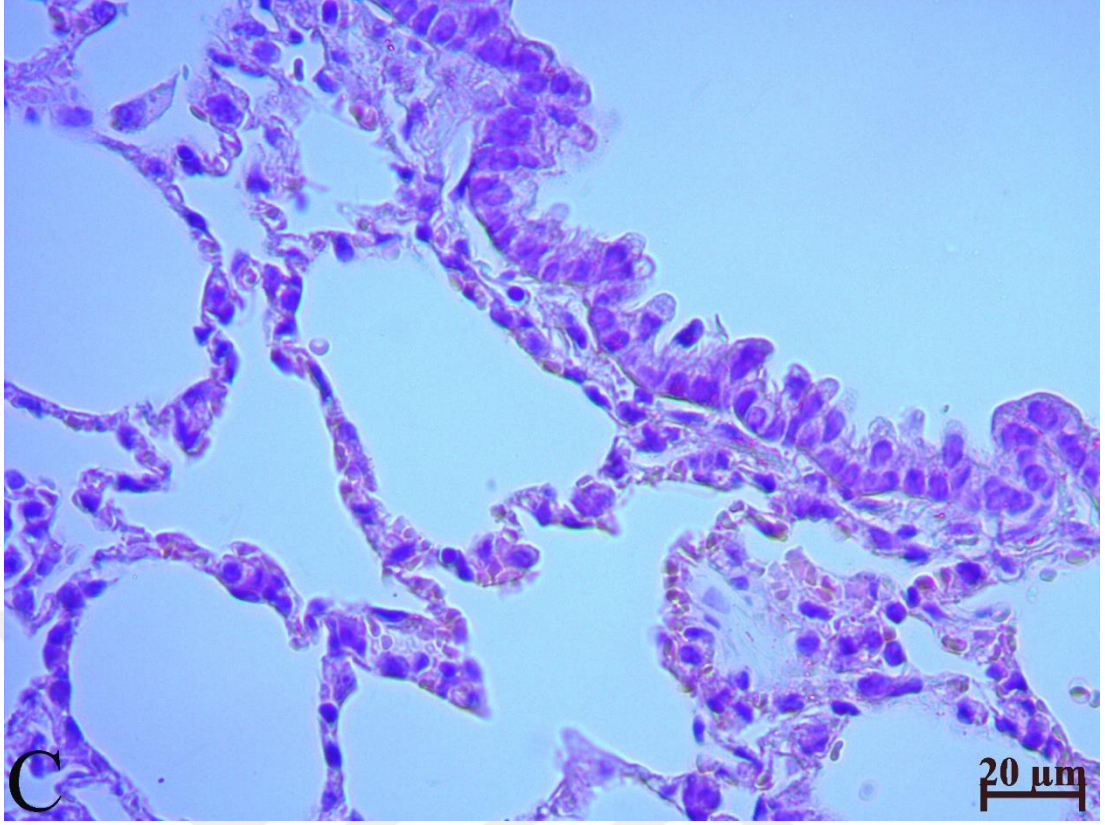
Genel olarak kontrol grubuna benzer normal morfoloji sergilemektedir.

Ölçü çubuğu; A: 200 μm.



Şekil 48. CCl₄+DFO grubuna ait H&E boyamaları

Sınırlı alanlarda dökülmeler olsa da genel olarak kontrol grubuna benzer normal morfoloji sergilemektedir. Ölçü çubuğu; B: 100 µm.

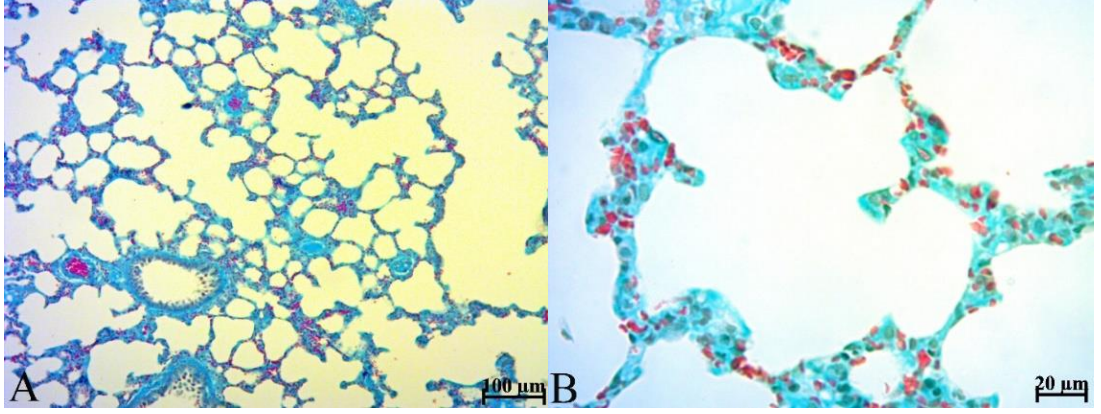


Şekil 49. CCl₄+DFO grubuna ait H&E boyamaları

Bronşiyol epiteli oldukça normal izlenmekte ve sınırlı olarak minik kanamalar izlenmektedir. Ölçü çubuğu; C: 20 µm.

4.3.2. Masson trikrom boyama

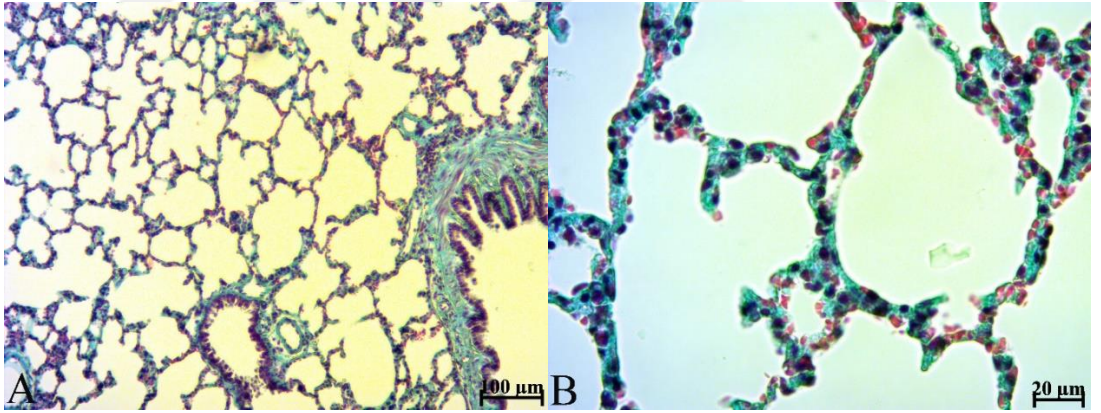
Kontrol grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonucunda alveoler septumların herhangi bir bağ dokusu artışı olmaksızın normal kalınlıkta olduğu gözlemlendi. Bronş ve bronşiyollerin adventisyalı ile damar adventisyalı da normal görünümdeydi.



Şekil 50. Kontrol grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları

İdeal kalınlıkta alveoler septumlar, ideal kalınlıkta bronşiyol çevresi bağ dokusu izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 100 µm, B: 20 µm.

DFO grubu deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyaması sonucunda kontrol grubuna benzer histolojik özellikler gözlenmiştir.

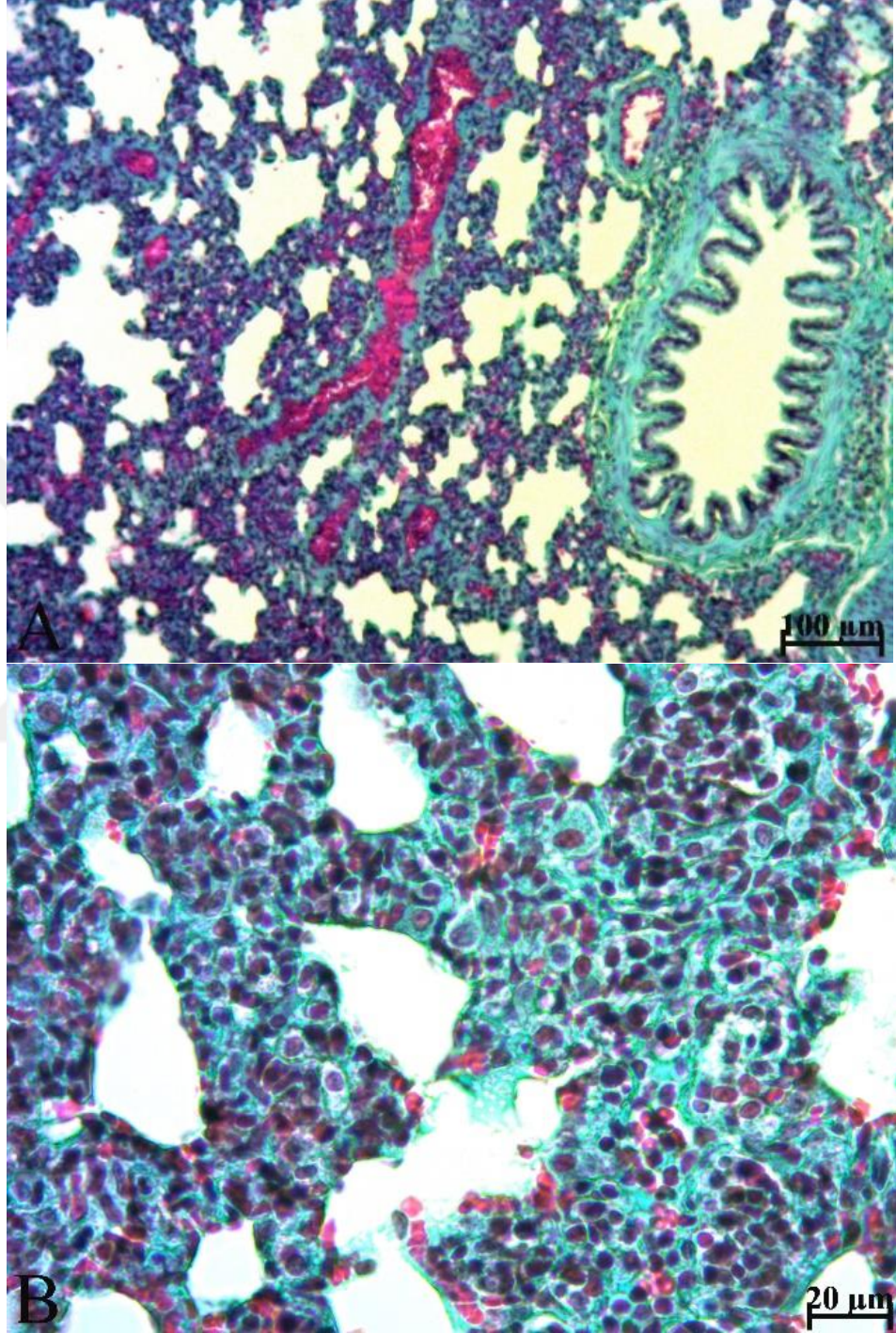


Şekil 51. DFO grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları

İdeal kalınlıkta alveoler septumlar, ideal kalınlıkta bronşiyol çevresi bağ dokusu izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 100 µm, B: 20 µm.

CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının masson trikrom boyaması sonucunda kalınlaşmış alveoler septumlarda kolajen artışına işaret eden ışık yeşili ile boyanmada artış gözlenmemiştir. Bunun yerine çok sayıda inflamatuvar hücre

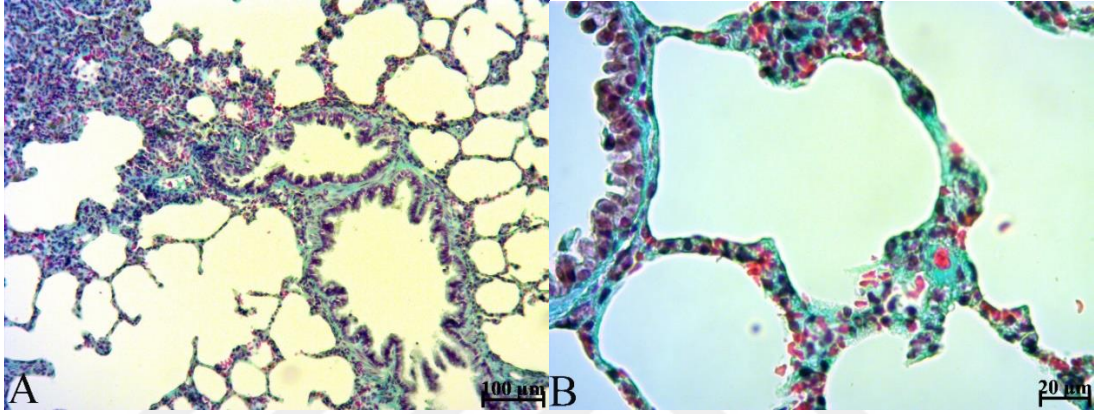
çekirdeğinin kalınlaşmış septumları, damar adventisyelerini ve yer yer bronş ve bronşiyol advenstisyelerini işgal ettiği izlenmiştir.



Şekil 52. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları

İnflamatuvar hücreler ve alveoler septum kalınlıkları artmış ve bronşiyol etrafında barınan bağ dokuda yoğun kolajen lif artışına bağlı kalınlaşma izlenmiştir. Ölçü çubuğu; A: 100 µm, B: 20 µm.

CCl₄+DFO grubu deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyaması sonucunda yer yer inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile kalınlaşmış alveoler septumlar, damar adventisyalı ve bronş ve bronşiol adventisyalı gözlense de geniş alanlarda akciğer doku mimarisi kontrol ve DFO gruplarına benzer histolojik yapı sergilemekteydi.

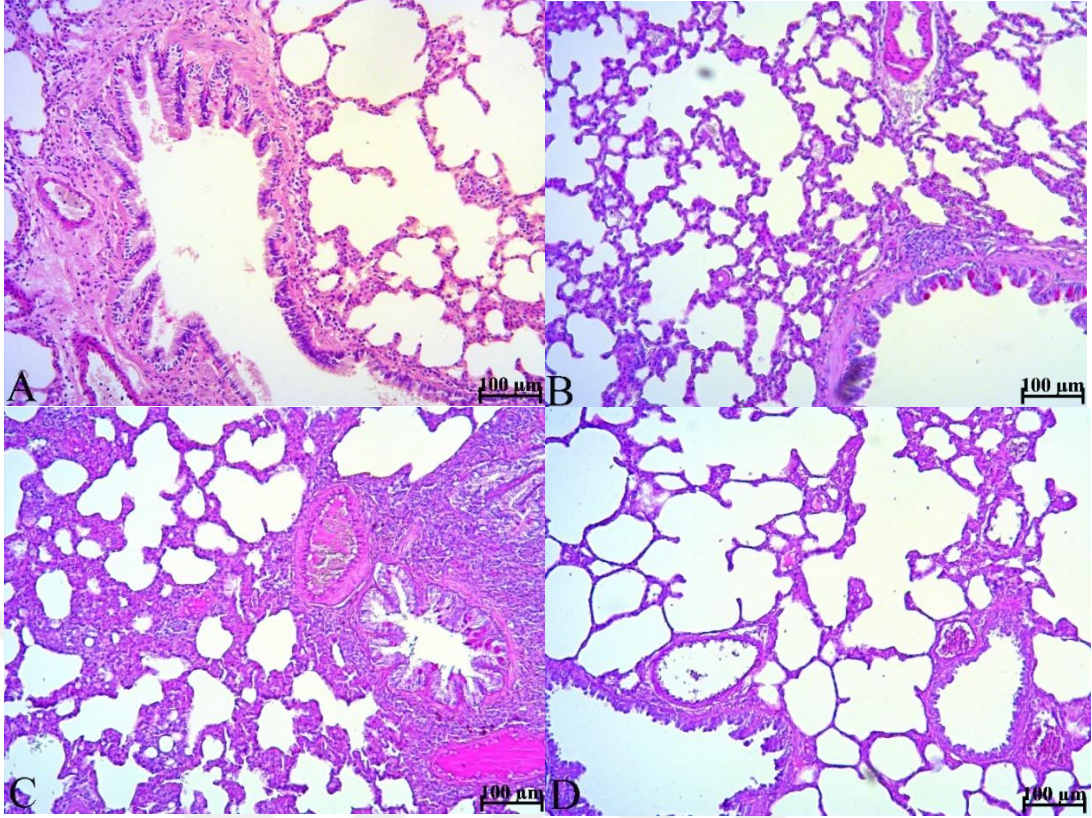


Şekil 53. CCl₄+DFO grubuna ait deneklerin akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları

İdeal kalınlıkta alveoler septumlar ve ideal kalınlıkta bronşiyol çevresi bağ dokusu izlenmektedir. Ölçü çubuğu; A: 100 µm, B: 20 µm.

4.3.3. PAS boyama

Tüm gruplara ait akciğer dokularının PAS boyaması sonucunda kontrol ve DFO gruplarında goblet hücrelerinin bronş ve büyük bronşiyol epitel hücreleri arasında yerleştiği gözlemlendi. Küçük bronşiyollerde goblet hücreleri hemen hiç gözlenmedi. CCl₄ grubu deneklerine ait akciğer doku örneklerinde goblet hücrelerinin büyük bronşiyollerde sayılarının hafifçe artması ile birlikte küçük bronşiyollerde de belirgin şekilde görülmeye başladığı dikkat çekmekteydi. CCl₄+DFO grubu deneklerin akciğer dokularının PAS boyası kontrol ve DFO gruplarına benzer özellikler sergilemekteydi.



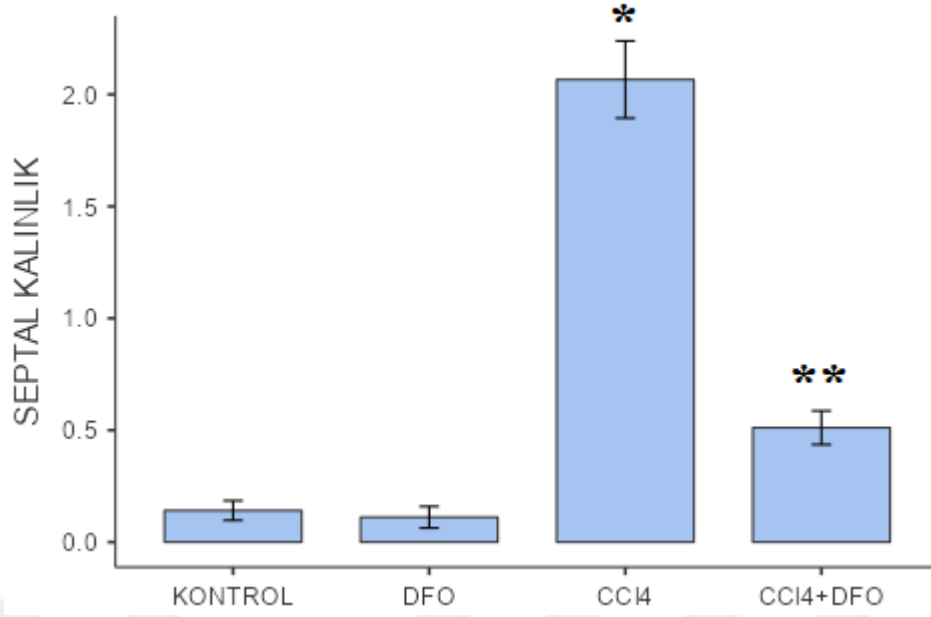
Şekil 54. Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularının PAS boyama sonuçları

A: Kontrol grubu, B: DFO grubu, C: CCl₄ grubu, D: CCl₄ + DFO grubu.

Ölçü çubuğu; 100 µm.

4.4. Histomorfometrik Analizler

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında septal kalınlaşmanın en fazla CCl₄ grubunda olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grubunda kalınlık anlamlı olarak azalma göstermiştir.

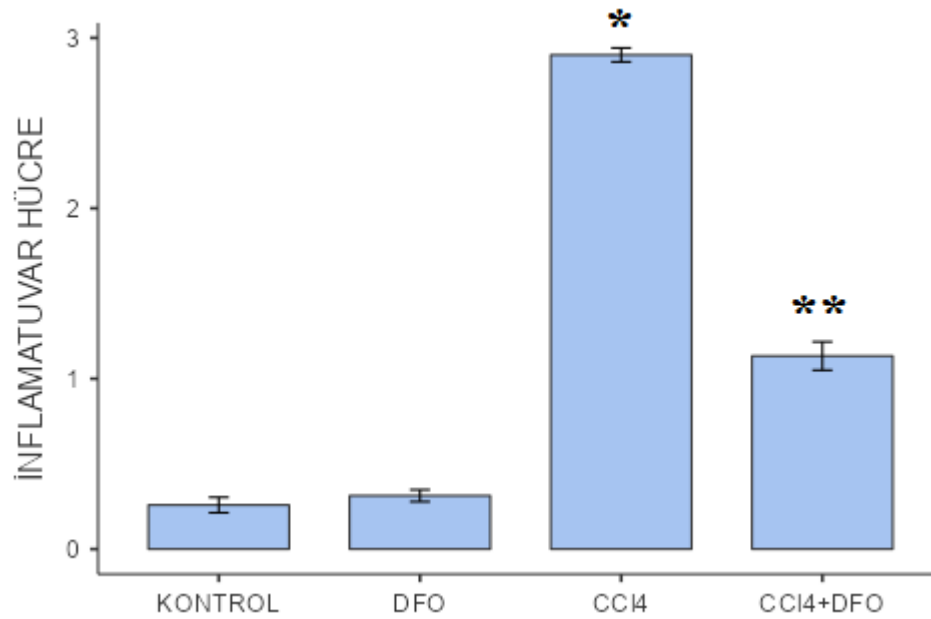


Şekil 55. Akciğer dokusunda gruplar arası septal kalınlığın kıyaslanması

*Kontrol, DFO ve CCl₄ + DFO gruplarından farklı ($p < 0,01$),

**Kontrol, DFO ve CCl₄ gruplarından farklı (sırasıyla $p < 0,05$, $p < 0,05$ ve $p < 0,01$).

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında inflamatuvar hücre sayısının en fazla CCl₄ grubunda olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grubunda inflamatuvar hücre sayısı anlamlı olarak azalma göstermiştir.

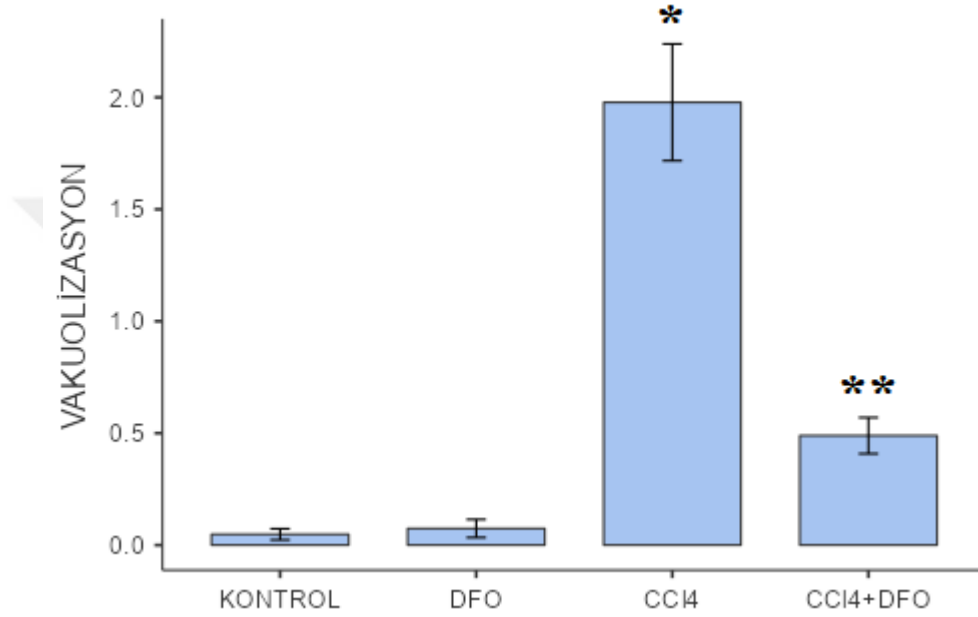


Şekil 56. Akciğer dokusunda gruplar arası inflamatuvar hücre sayısının kıyaslanması

* Kontrol, DFO ve CCl₄ + DFO gruplarından farklı (p<0,01),

**Kontrol, DFO ve CCl₄ gruplarından farklı (p<0,01).

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında vakuolizasyonun en fazla CCl₄ grubunda olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grubunda vakuolizasyon anlamlı olarak azalma göstermiştir.

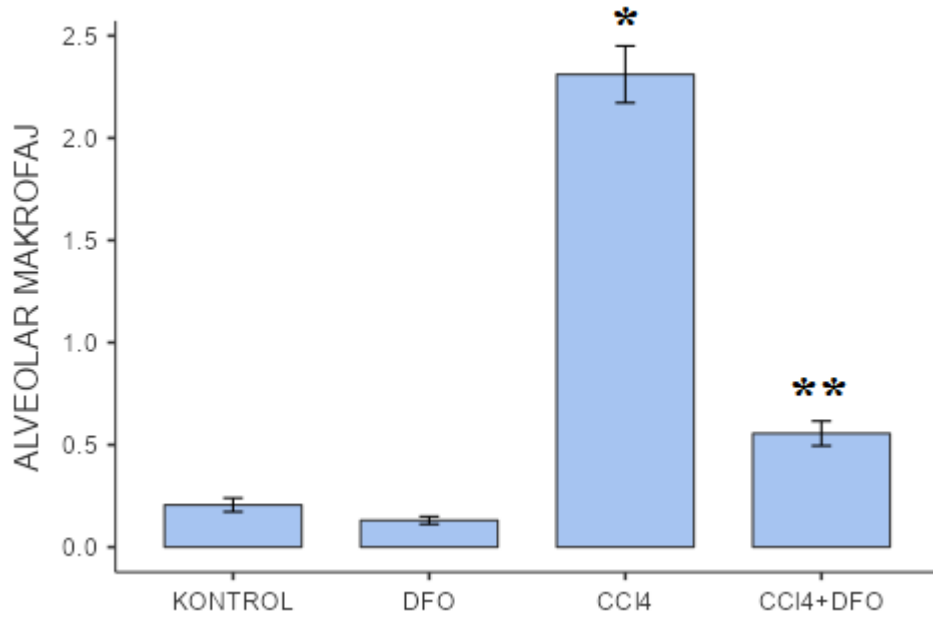


Şekil 57. Akciğer dokusunda gruplar arası vakuolizasyonun kıyaslanması

*Kontrol, DFO ve CCl₄ + DFO gruplarından farklı sırasıyla p<0,01, p<0,01 ve p<0,05),

**Kontrol, DFO ve CCl₄ gruplarından farklı (sırasıyla p<0,01, p<0,05 ve p<0,05).

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında alveolar makrofaj sayısının en fazla CCl₄ grubunda olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grubunda alveolar makrofaj sayısı anlamlı olarak azalma göstermiştir.

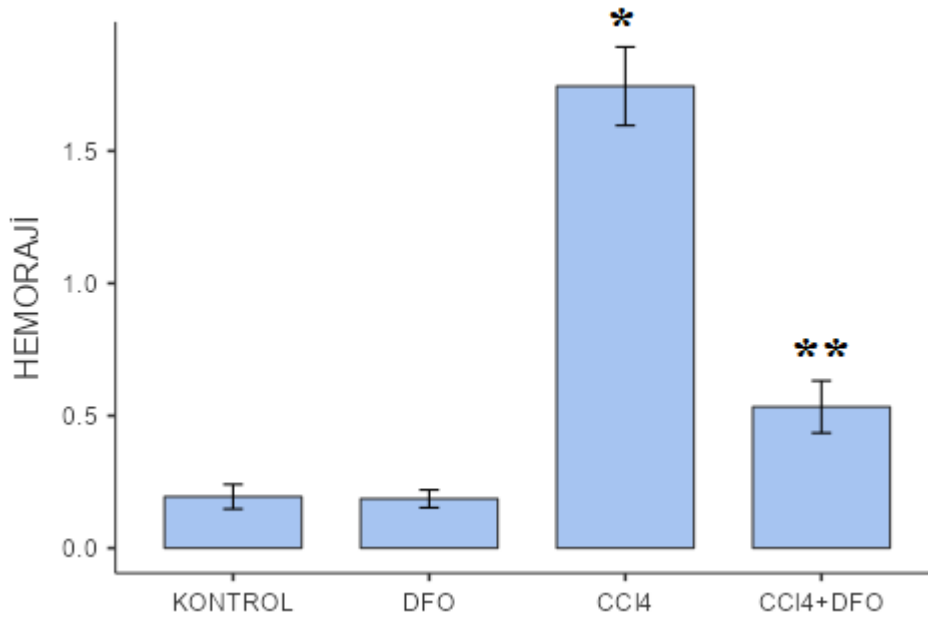


Şekil 58. Akciğer dokusunda gruplar arası alveolar makrofaj miktarının kıyaslanması

* Kontrol, DFO ve CCl₄ + DFO gruplarından farklı ($p < 0,01$),

**Kontrol, DFO ve CCl₄ gruplarından farklı ($p < 0,01$).

Gruplar arası kıyaslamalar yapıldığında alveolar hemorajinin en fazla CCl₄ grubunda olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grubunda hemoraji anlamlı olarak azalma göstermiştir.



Şekil 59. Akciğer dokusunda gruplar arası hemorajinin kıyaslanması

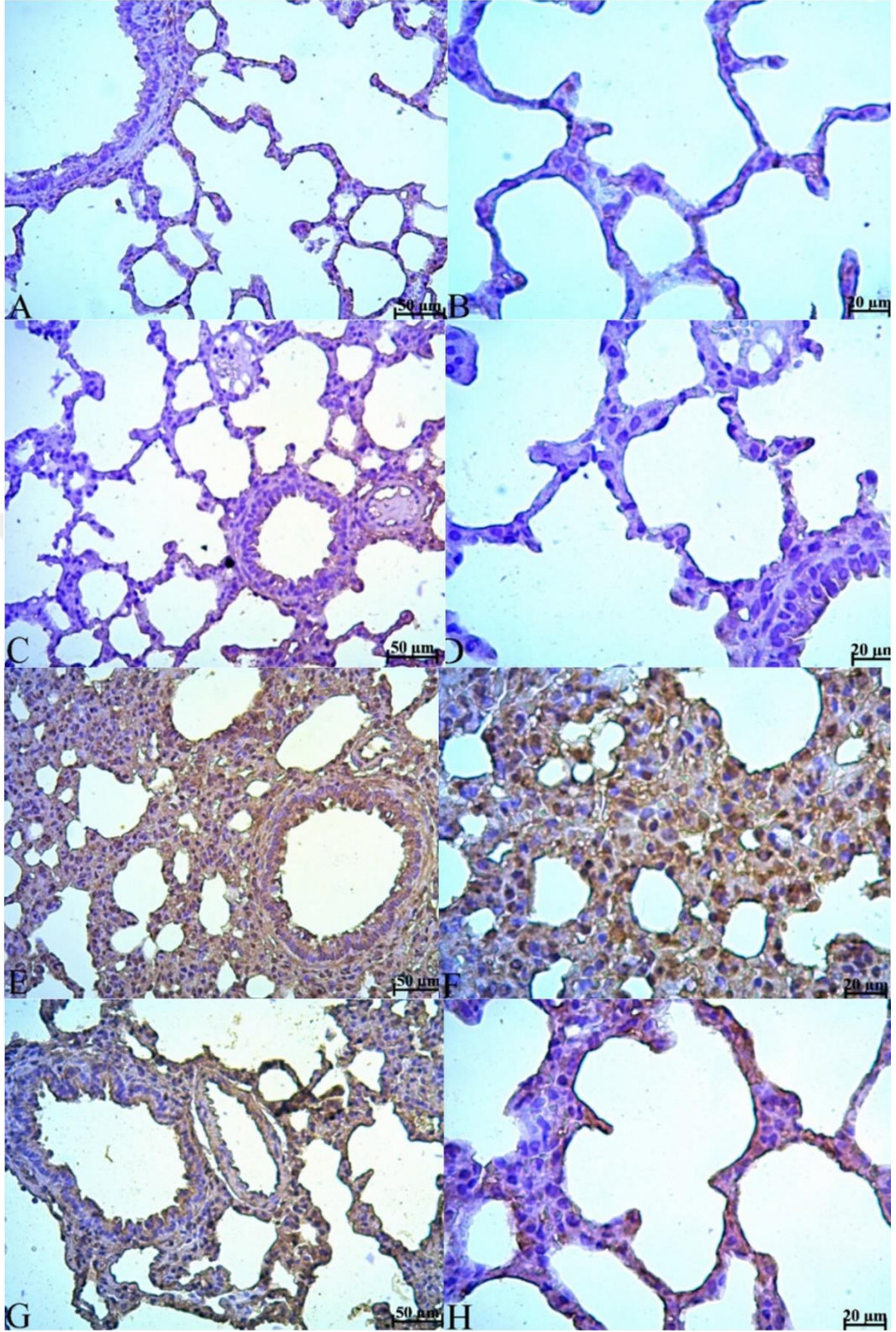
*Kontrol, DFO ve CCl₄ + DFO gruplarından farklı (p<0,01),

**DFO ve CCl₄ gruplarından farklı (sırasıyla p<0,05 ve p<0,01).

4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular ve H-Skor Analizleri

4.5.1. TNF- α boyaması

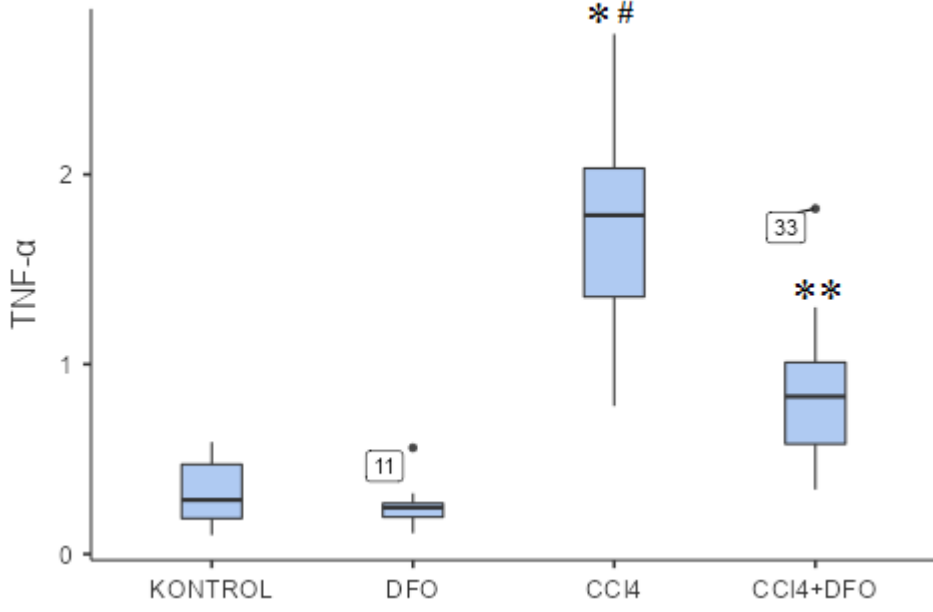
Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularında TNF- α protein ifadesi immünohistokimyasal yolla gösterilmiştir. Kontrol ve DFO gruplarında oldukça zayıf TNF- α ifadesi tespit edilmiş, CCl₄ grubunda ise TNF- α ifadesinin oldukça arttığı gözlenmiştir. CCl₄+DFO grubunda is TNF- α ifadesi CCl₄ grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır.



Şekil 60. Tüm gruplara ait akciğer dokularının TNF- α proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu

A, B: Kontrol grubu C, D: DFO grubu E, F: CCl₄ grubu G, H: CCl₄+DFO grubu

Ölçü çubuğu; A, C, E, G: 50 μ m, B, D, F, H; 20 μ m.



Şekil 61. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki TNF- α immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları

Değerler ortanca (min-maks) olarak hesaplanmıştır.

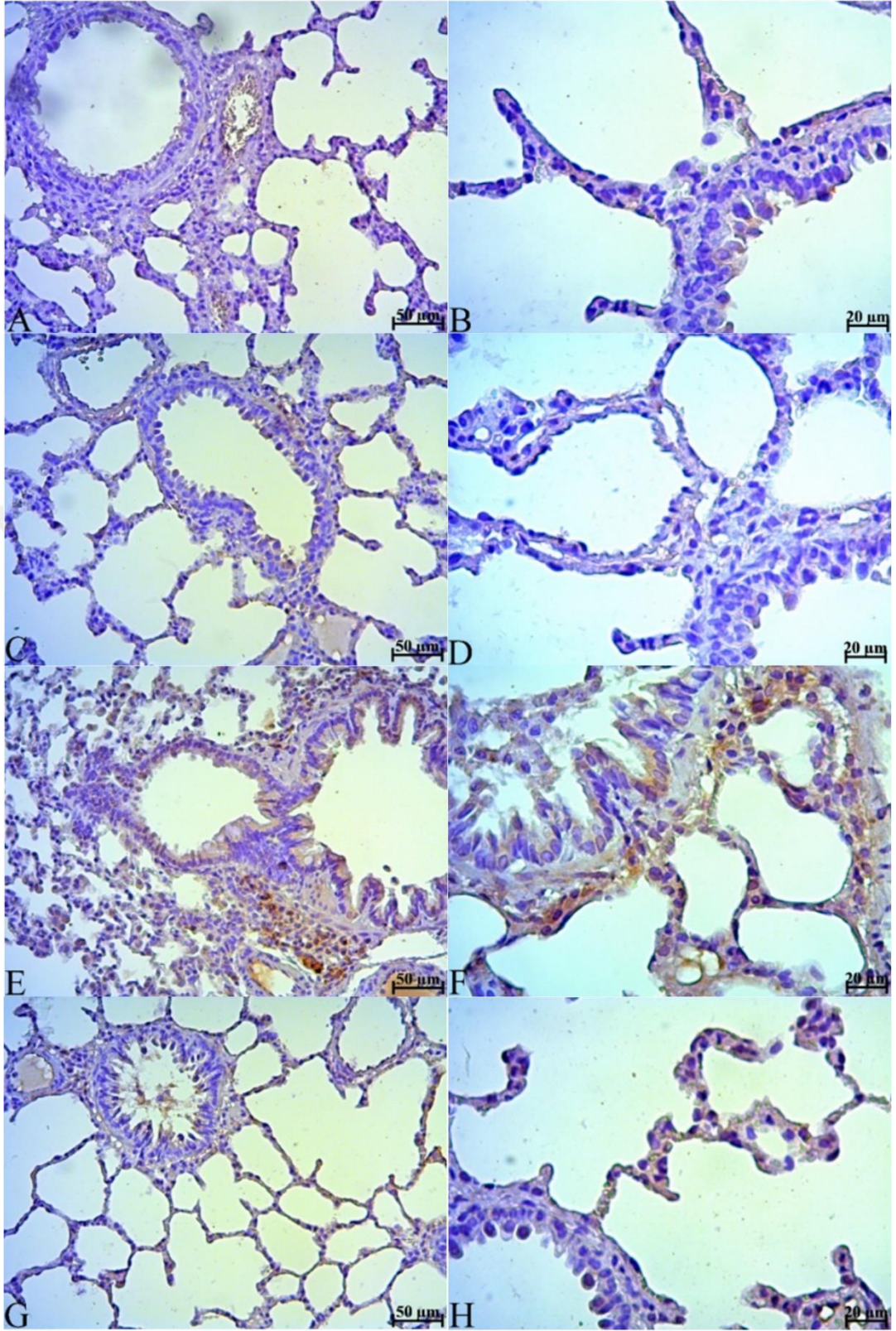
* $P < 0,01$ Kontrol ve DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

$P < 0,05$ CCl₄+DFO grubu ile karşılaştırıldığında.

** $P < 0,01$ Kontrol ve DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

4.5.2. IL-1 β boyaması

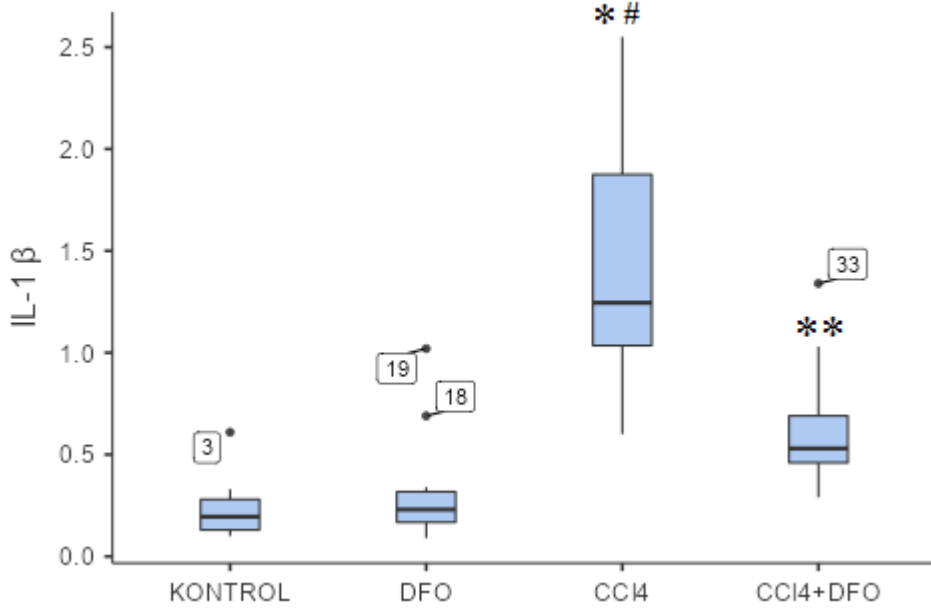
Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularında IL-1 β protein ifadesi immünohistokimyasal yolla gösterilmiştir. Kontrol ve DFO gruplarında oldukça zayıf IL-1 β ifadesi tespit edilmiş, CCl₄ grubunda ise IL-1 β ifadesinin oldukça arttığı gözlenmiştir. CCl₄+DFO grubunda ise IL-1 β ifadesi CCl₄ grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır.



Şekil 62. Tüm gruplara ait akciğer dokularının IL-1 β proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu

A, B: Kontrol grubu C, D: DFO grubu E, F: CCl₄ grubu G, H: CCl₄+DFO grubu

Ölçü çubuğu; A, C, E, G: 50 µm, B, D, F, H; 20 µm.



Şekil 63. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki IL-1 β immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları

Değerler ortanca (min-maks) olarak hesaplanmıştır.

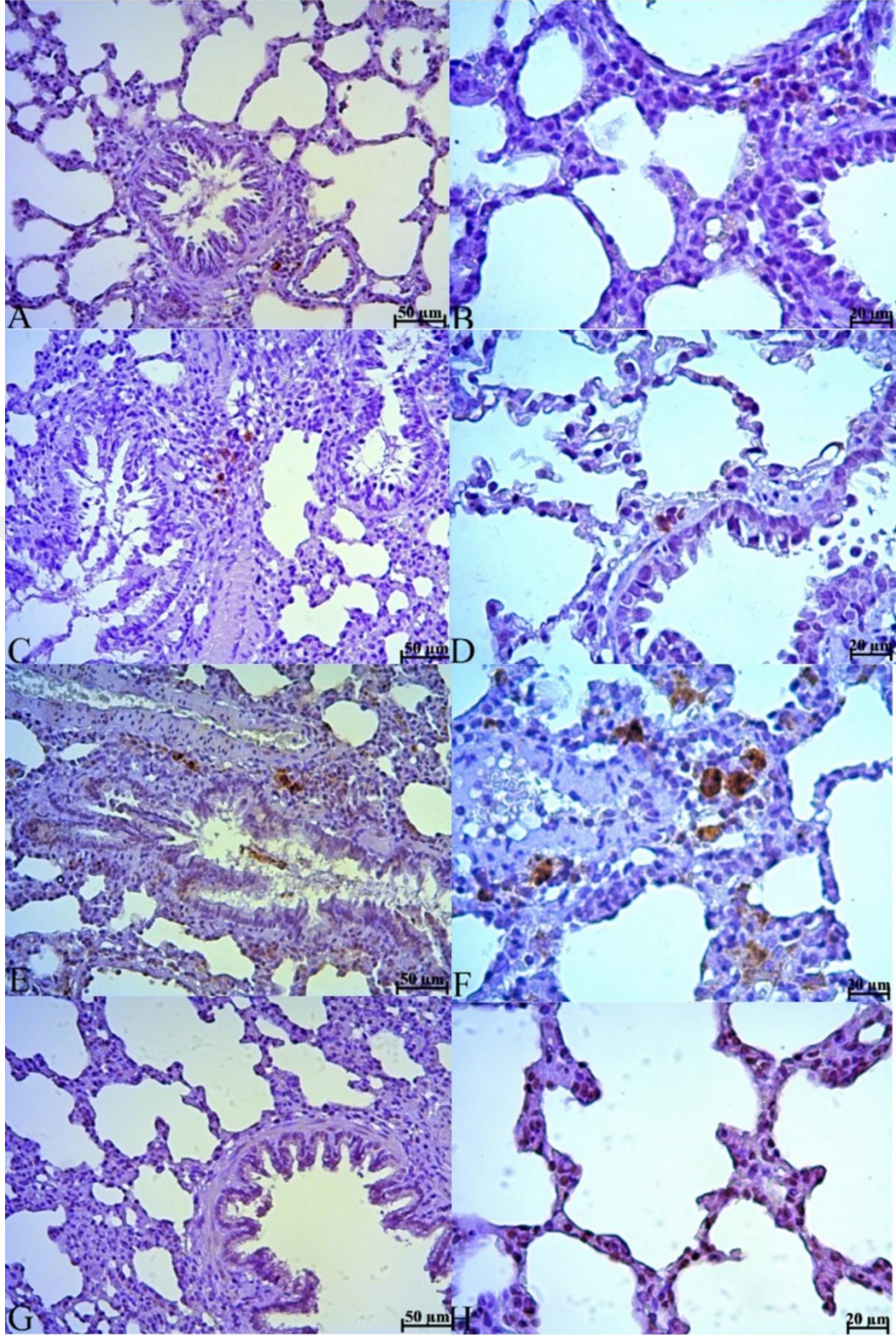
*P<0,01 Kontrol ve DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

#P<0,05 CCl₄+DFO grubu ile karşılaştırıldığında.

**P<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

4.5.3. Kaspaz-9 boyaması

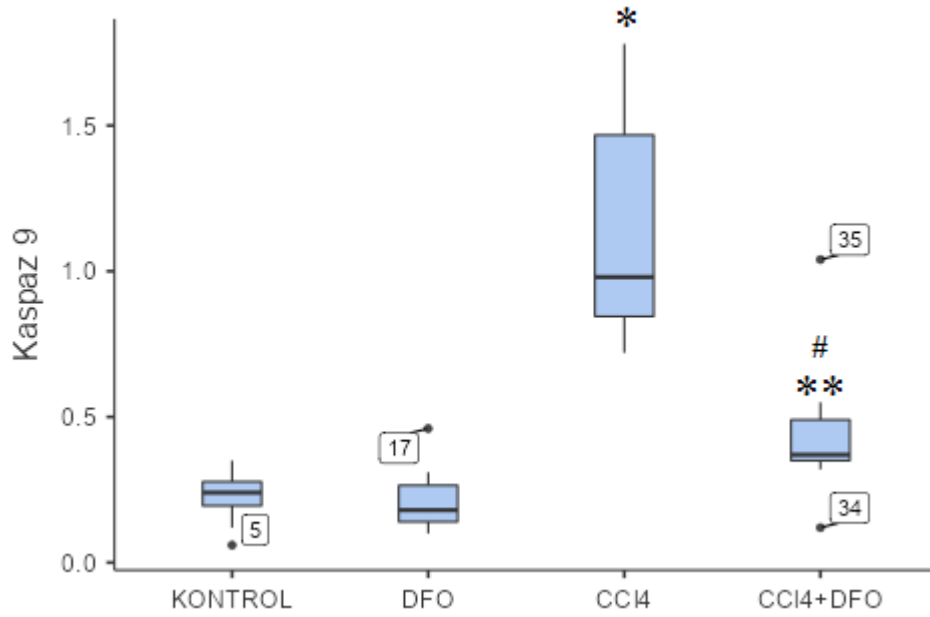
Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularında kaspaz 9 protein ifadesi immünohistokimyasal yolla gösterilmiştir. Kontrol ve DFO gruplarında oldukça zayıf kaspaz 9 ifadesi tespit edilmiş, CCl₄ grubunda ise kaspaz 9 ifadesinin oldukça arttığı gözlenmiştir. CCl₄+DFO grubunda is Kaspaz 9 ifadesi CCl₄ grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır.



Şekil 64. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Kaspaz 9 proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu

A, B: Kontrol grubu C, D: DFO grubu E, F: CCl₄ grubu G, H: CCl₄+DFO grubu.

Ölçü çubuğu; A, C, E, G: 50 µm, B, D, F, H; 20 µm.



Şekil 65. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki Kaspaz 9 immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları.

Değerler ortanca (min-maks) olarak hesaplanmıştır.

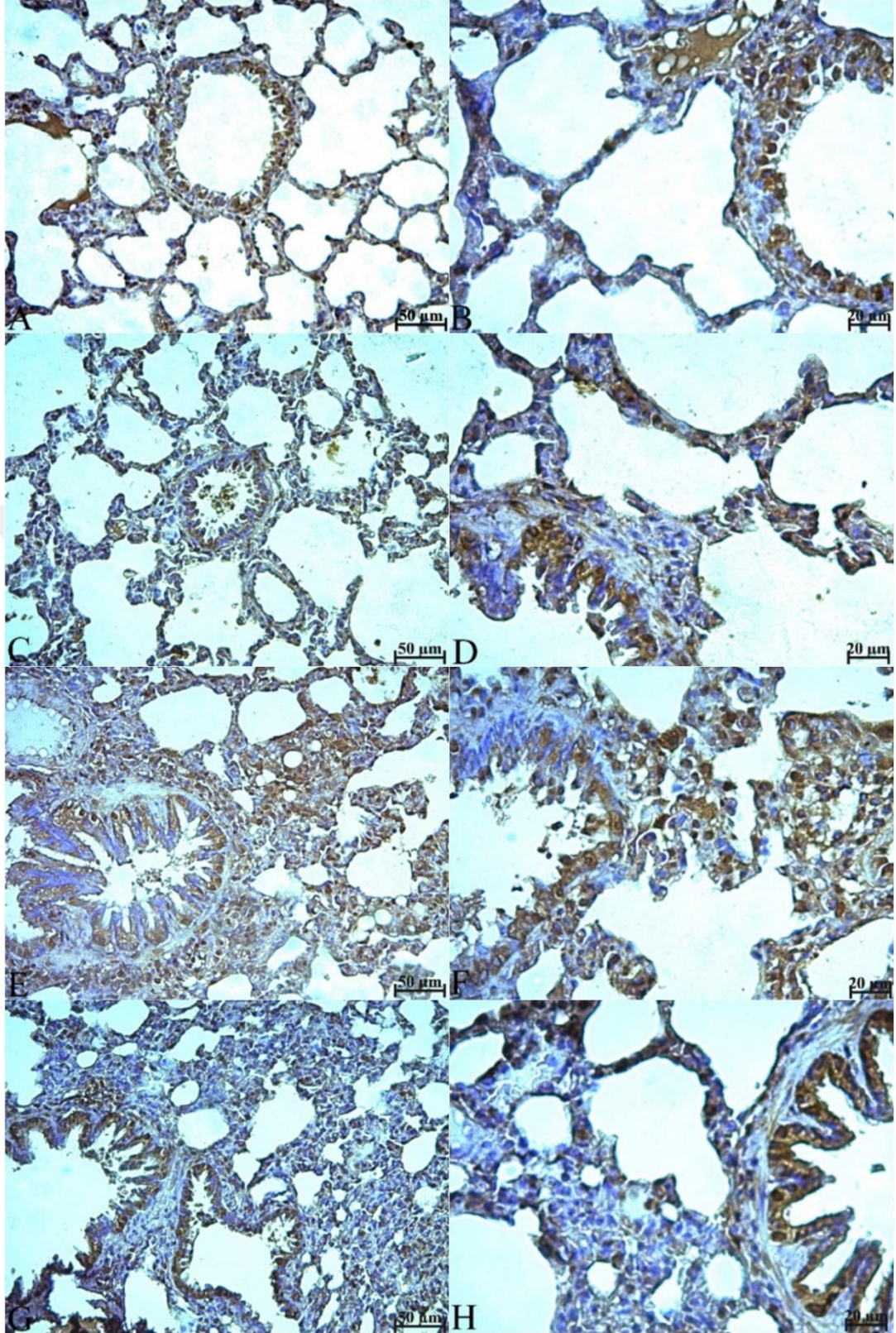
* $P < 0,01$ Kontrol, DFO ve CCl₄+DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

** $P < 0,01$ Kontrol ve DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

$P < 0,05$ CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında.

4.5.4. Bax boyaması

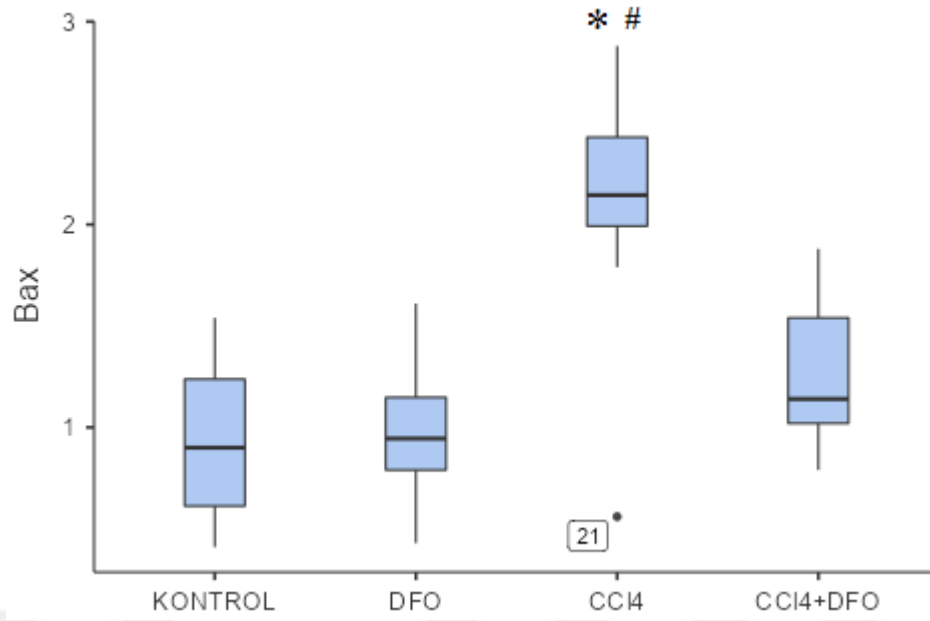
Tüm gruplara ait deneklerin akciğer dokularında Bax protein ifadesi immünohistokimyasal yolla gösterilmiştir. Kontrol ve DFO gruplarında CCl₄ grubuna göre daha zayıf Bax ifadesinin daha zayıf olduğu, CCl₄ grubunda ise Bax ifadesinin oldukça arttığı gözlenmiştir. CCl₄+DFO grubunda is Bax ifadesi CCl₄ grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır.



Şekil 66. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Bax proteini için yapılan immünohistokimyasal boyama sonucu

A, B: Kontrol grubu C, D: DFO grubu E, F: CCl₄ grubu G, H: CCl₄+DFO grubu.

Ölçü çubuğu; A, C, E, G: 50 µm, B, D, F, H; 20 µm.



Şekil 67. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki Bax immünreaktivitesini değerlendirmek için yapılan H-Skor sonuçları

Değerler ortanca (min-maks) olarak hesaplanmıştır.

* $P < 0,01$ Kontrol ve DFO grupları ile karşılaştırıldığında.

$P < 0,05$ CCl₄+DFO grubu ile karşılaştırıldığında.

5.TARTIŞMA

Canlılarda ROT'lar ile antioksidan sistemler arasında harikulade bir harmoni vardır. Bu harmoninin tahribatı söz konusu olunca oksidatif stres cereyan eder, biyomoleküller zarar görür ve bu durum ferroptoz, apoptoz gibi hücre ölüm yollarını aktifleştirir (101,226–229).

Akciğer geniş yüzey alanı vasıtasıyla oldukça üst düzey oksijen değişimi ve gaz alışverişine olanak sağlar. Bu sebepten ksenobiyotiklere (örneğin CCl₄), sigara dumanına ve daha muhtelif pek çok ajana maruz kalır ve bu durum akciğeri pulmoner hasara oldukça açık hale getirir. Bu eksojen kaynaklı maddeler vücuda giriş yaptığında hemen metabolitlerine ayrıştırılır ve bu arada serbest radikaller de türer. Normal koşullar altında radikaller üretilebilir ancak bu durum antioksidan sistemlerle dengede tutulur. Eğer bu denge bozulursa radikaller biyomoleküllere hücum ederek tahribat yaratır (230–243).

Yapılan çalışmalar yardımıyla aşırı ROT yapımıyla oluşan oksidatif stresin akciğer dokusunda astım, hiperoksi, pulmoner fibröz, sarkoidoz, kronik obstrüktif akciğer hastalığını (KOAH), kronik bronşit, amfizem gibi çeşitli plevral hastalıkların ve kanser oluşturabileceği saptanmıştır (6,101,235,244).

CCl₄ karbon temelli oksidatif stres oluşturabilen bir moleküldür. Deneysel çalışmalarda sıklıkla karaciğer tahribatı yaratmak için kullanılıyor olsa da tek hedef organı karaciğer değildir aynı zamanda akciğer, kalp, beyin gibi muhtelif dokular üzerinde de tesir göstermektedir (103,108–110,245).

CCl₄ oldukça geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir, sentetik olarak üretilmesinin ve kullanılmasının yanısıra doğal olarak da bulunabilir. CCl₄ oldukça hızlı buharlaşabildiği için oldukça minimal dozda olsa da havadan soluma yolu ile organizmaya alınabilir. Ne yazık ki CCl₄'ün kimyasal atık olarak havaya, suya ve toprağa karışması kontrol edilememektedir (93).

CCl₄'ün metabolizması sıçan, tavşan, hamster, tavuk ve hatta insanlar gibi birçok muhtelif canlı üzerindeki tesirleri popüler çalışma konusu olmuştur. En iyi modelin yinelenebilirliği fazla, kolay standartlaştırabilmesi ile sıçanlar olduğu tespit edilmiştir (246).

Uzun zamanlar boyunca icra edilen çalışmalarda CCl_4 'ün dozu kadar çözücü maddenin ve hatta uygulama yöntemi ve döneminde önemli olduğu keşfedilmiştir. Literatür taramaları sonucunda CCl_4 'ün tek doz şeklinde verilebileceği gibi gün aşırı, haftada 2 gibi 50 güne dek çıkmış çalışmalar mevcuttur (247–251). CCl_4 intragastrik sonda vasıtasıyla, IP olarak, subkutan, intramüsküler olarak uygulanabilmektedir. Çözücü olarak ise yaygın olarak zeytinyağı, ayçiçek yağı, mısır yağı tercih edilir (247,250–256).

CCl_4 saf halde kullanıldığında oldukça hızlı lakin çok daha az emilmektedir. CCl_4 'ün dokuya daha iyi tesir etmesini sağlayabilmek için zeytinyağı gibi bir çözücü kullanılarak emilim miktarı artırabilir (257).

Doz kısmına gelindiğinde ise literatürde IP olarak uygulanan en düşük doz 0.4 ml/kg'ın bile siroza, pulmoner dolaşımın tahribatına ve dolayısıyla akciğer tahribatı yaratan hastalıklara sebep olduğu gösterilmiştir (6).

Zuinen ve ark. (250), muhtelif dozlarda, muhtelif çözücü maddeler ile icra ettikleri çalışmalarında CCl_4 'ün meydana getirdiği zehirleyiciliğin çözücü maddenin çeşidinden ziyade seyreltme oranı ile eş zamanlı arttığını keşfetmişlerdir.

Taşlıdere ve ark. (258) icra ettiği çalışmada 1:1 oranda zeytin yağı ile çözdürülmüş 0,5 ml/kg dozunda CCl_4 kullanılmıştır. Biz de çalışmamızı uygulama yöntemi olarak intraperitoneal yol; çözücü olarak zeytinyağı, doz olarak ise 0.5 ml/kg olarak tasarladık.

Bu molekül sitokrom p450 sistemince işlendikten triklorometil radikali oluşturur ve eğer çevresinde oksijen varsa oksijen ile ilişki içerisine girerek daha toksik triklorometil peroksil radikale evrilir (103,259). Bu radikaller akciğer hücre membranındaki PUFA'lar interaksiyona girer ve hem lipid peroksidasyonunu hemde DNA bozunma seviyesini yükseltir (6).

Lipid peroksidasyon sürecinin sonunda oluşan MDA literatürde lipitlerde oksidatif hasarın bir belirteci olarak bilinmekle birlikte ferroptozunda önemli bir belirteçdir (192,238,260,261). Ferroptozun kalbinde lipit oksidasyon mekanizmalarının düzensizliği vardır ve PUFA'lar, ferroptozda lipit peroksitlerin birikmesinde kilit yapılarıdır (262,263). CCl_4 'ün MDA seviyelerinde artışa yol açtığı muhtelif çalışmalar yardımıyla kanıtlanmıştır

(6,103,258,264–267). Çalışmamızda CCl₄ grubunda diğer gruplara kıyasla MDA seviyelerinin anlamlı şekilde arttığını tespit ettik.

Ozon, klor gibi tahriş edici maddelere ek olarak CCl₄'te akciğer dokusunun olağan görüntüsünde de büyük değişiklikler meydana getirir. Bu değişikliklere hemoraji, bronş ve bronşiyol epitellerinde dökülme (desukamasyon), makrofaj infiltrasyonu, polimorfonüller lökositlerin infiltrasyonu, interstiyel kalınlaşma, intra-alveolar septal yırtıklar, ödem örnek verilebilir (268–282).

Paakko ve ark. (7,283) intraperitoneal yolla uygulanan CCl₄'ün alveoler dejenerasyon, interstisyel fibroz, hemoraji ve ödemle neticelendiğini bildirmişlerdir. Frukawa ve ark. (284) yaptıkları deneysel çalışmada lenfosit infiltrasyonunu bildirmişlerdir.

Taşlıdere ve ark. (258) çalışmalarında bronşiyol epitelinde deskuamasyon, kanama, polimorfonükleer lökosit ve makrofaj infiltrasyonu tespit etmiştir.

Yıldırım ve Karabulut (273) ise alveolar interstisyel bölgelerde artma, bronşiyol epitel yapısında vakuolizasyon ve dejenerasyon benzeri değişiklikler tanımlamıştır.

Ahmad ve ark. (101) CCl₄ uygulanan sıçanlarda alveolar septumun deforme olduğunu, alveol duvarlarının kalınlaşma sergilediğini, alveoler makrofajların muhtelif kısımlarda yer aldığını ve tahribat gördüklerini, göstermişlerdir. Alveol duvarların kesişim noktalarında kollajen lifler kümelenmiş ve fibroblast sayısı artmıştır.

Çalışmamızda CCl₄ grubunda masson trikrom boyamsı ile kolajen artışı olup olmadığına bakılmıştır ve kolajen artışı yerine inflamatuvar hücrelerin artarak kalınlaşmış septumları, yer yer bronş ve bronşiyol adventisyalarnı işgal ettiği saptanmıştır.

Kronik astım modeli inşa etme gayesi ile gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda goblet hücrelerinin hiperplazisi izlenmiştir (285,286). Çalışmamızda PAS boyaması yaparak goblet hücrelerini gruplar arası karşılaştırmayı planladık. CCl₄ grubunda goblet hücrelerinin büyük bronşiyollerde sayı olarak hafifçe arttığı ve küçük bronşiyollerde de belirgin şekilde görülmeye başladığını tespit ettik. Lakin çalışmamızda oldukça dikkat çeken bir kriter olan epitel dökülmesi goblet hücre sayılarını efektif şekilde değerlendirmemiz ile sonuçlandı.

Çalışmamızda H&E boyalı preparatların incelenmesiyle akciğerin genel yapı ve patolojik yapıları inceledik. Ve CCl₄ grubunda hemoraji, vakuolizasyon, septal kalınlaşma, polimorfonükleer lökosit ve makrofaj infiltrasyonu bulgularına rastlandık. DFO ve kontrol grupları beklendiği üzere normal morfoloji sergiledi. CCl₄+ DFO grubunda genel olarak normal morfolojinin hâkim olduğunu bu kritirlerin sınırlı alanlarda izlendiğini kaydettik.

Antioksidanlar oksidatif strese karşı savaş içerisinde olan oksidatif dengeyi sağlayan harikulade moleküller olmakla birlikte tek görevleri ROT'ları imha etmek değil, anti-inflamatuvar, antialerjik, antitrombotik, antiviral ve antikarsinojenik tesirler de sergilemektedir (93,287).

CCl₄'ün metabolizma ürünlerinin GSH, CAT ve GPx sistemlerini blokladığı gözlemlenmiştir (6,101,288,289).

Aslan ve ark. (238) CCl₄ kullanarak akciğer üzerinde yaptığı çalışmada CAT ve GPx düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Ganie ve ark. (103) Yine CCl₄ kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında SOD ve GPX'in anlamlı şekilde azaldığı CAT aktivitesinin de diğer gruplara oranla oldukça azaldığını gözlemlemişlerdir.

Bizde çalışmamızda CAT ve GPx sistemlerini değerlendirdik. CCl₄ grubunda GPx ve CAT aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığı anlamlı şekilde azaldığını gözlemledik.

Sistem Xc, SLC7A11 ve SLC3A2 olmak üzere 2 alt birimden meydana gelir. SLC7A11, glutamat ve sisteine karşı oldukça özel bir ilgi besler ve GSH sentezi için sistein salınımında büyük sorumluluğa sahiptir. GSH, toksik lipid hidroperoksitleri toksik olmayan lipid alkole dönüştürerek hücreleri ferroptozu karşı koruyan GPx4 için hayati öneme sahiptir (206,290).

GPx4, GSH'ı kofaktör olarak kullanır ve LOOH'ları toksik özellik sergilemeyen lipid alkollere modifiye eder (291). Bu mekanizmasının yitirilmesi ferroptozun dikkat çekici bir belirticidir (292).

Ferroptoz sonucu, alveoler epitel hücreleri apoptoza uğrar, makrofaj polarizasyonu tetiklenir ve pulmoner fibröz gelişmesinde büyük rol edinir. Bilhassa

DFO, ferritin-1 gibi moleküllerin ferroptozu azalttığı ve pulmoner fibröz durumunda lipid peroksidasyonunu blokladığı gösterilmiştir (263).

Han ve ark. (292) SLC7A11 seviyelerinin CCl₄ uygulamasının ardından azalma gösterdiğini, luteolin ile tedavisinin ardından bu seviyenin tekrar yükselme gösterdiğini dolayısıyla SLC7A11'in karaciğer tahribatına karşı koruyucu bir tesir sergilediğini gösterdi.

Lin ve ark. (290), Zhao ve ark. (293) yaptıkları çalışmada CCl₄ grubunda SLC7A11 protein ekspresyonunun azalma sergilediğini keşfetmişlerdir.

Bizde çalışmamızda CCl₄'ün GPx düzeyini anlamlı şekilde azalttığını izlemiştik. Dolayısıyla çalışmamızın bizi lipid peroksidasyonuna bağımlı ferroptozu götürdüğünü ve bu yolla DFO'nun Fenton reaksiyonunu engelleyerek LOOH oluşmasını blokladığını tahmin ediyoruz.

İnflamasyonda sitokinler yarattıkları tesirlerin tipine göre ya geri bildirimi indükleyen proinflamatuvar veya geri bildirimi bastıran anti- inflamatuvar şeklinde kategorize edilir. Bu geri bildirimin başlatılmasında akut safhada ekseriyetle TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IFN- γ pro-inflamatuvar sitokinler sorumluluk üstlenir. Özellikle TNF- α ve IL-1 β endotel hücrelerinde adezyon molekülleri, savunma hücrelerinde kollegenaz parçalayıcı enzimlerin üretimi, T lenfositlere antijen sağlanması, inflamatuvar hücrelerin etkinleştirilmesi gibi çok oldukça kritik öneme sahip sorumluluklar alırlar (84,294,295).

CCl₄ enjeksiyonu makrofaj yapılarını tetikleyerek fibrozis ve doku tahribatına sebep olduğu gösterilmiştir (6,296). Akciğer dokusunda alveolar makrofajların artması ROT yapımının artması, epitel ve bronşların hasar görmesi gibi akciğerin işlev bozukluğuna uğramasıyla son bulur. Makrofajlarca salınan TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinler doku tahribatının hızlanmasına sebep olurlar (6,297).

TNF- α nötrofil gruplarının tahribat almış alana hareketini artırır ve bu yapılardan proteolitik enzimlerin yapımı artar ve neticede ROT oluşumu cereyan eder (6,298). Ek olarak TNF- α direkt olarak Kaspaz yolağının tetiklenmesi ve tahribat nedeniyle apoptozu doğurur (6,170).

Kurt ve ark. (6) çalışmalarında CCl₄ uygulamasının akciğer dokusunda TNF- α ve NO salınımını artırdığını göstermişlerdir.

Unsal ve ark. (93) yayımladıkları çalışmalarında CCl₄ ün beyin, böbrek, karaciğer ve testis üzerindeki mekanizma ve tesirlerini tartışmışlardır. Yapılan muhtelif karaciğer merkezli çalışmalarla CCl₄'ün proinflatuar sitokin sentezleyerek Kupffer hücrelerini aktif hale getirdiğini, TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF-21 gibi proteinlerin ekspresyonlarının da artış gösterdiği bildirilmiştir (93,299–302).

CCl₄, IL-1, IL-2 ve TNF- α gibi sitokinlerin yapımını arttırmakla kalmayıp proapoptotik Bax'ı indükleyip ve anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerini bloklayarak apoptozu ateşleyebilen apoptozun kritik enzimleri olarak bilinen Kaspaz 9 ve Kaspaz 3'ün faaliyetini güçlendirir (93,110,303–309).

IL-1 β , IL-2, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin akut böbrek tahribatında inflamasyon patolojik süreciyle bağlantılıdır (93,303,309,310).

Beyin dokusuna uygulanan CCl₄'ün TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve TGF-1 β seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir (93,311,312).

Miao ve ark. (313) yine CCl₄ uygulamasının ardından TNF- α ve IL-6'nın ekspresyonunun arttığını gözlemlemişlerdir.

Bizde çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar vasıtasıyla TNF- α , IL-1 β , Bax ve Kaspaz 9 ekspresyonlarında artış gözlemledik ve verilemiz literatürle uyumlu bulundu.

DFO uzun yıllardır FDA tarafınca tasdik edilmiş bir şelasyon ajanı olarak kullanıma sunulmuştur. Lakin teröpatik açıdan nitelikleri son yıllarda keşfedilmiştir. DFO demir şelasyonu yeteneğine ek olarak antioksidan yeteneklerde sergilemiştir ve bu durum DFO'yu inflamasyon geri bildiriminde barınan oksidatif stresin gelecek vaat eden bir düzenleyici eleman kılmaktadır. Ek olarak iskemik yaralanmalarda, yaraların iyileştirilmesinde, kemik rejenerasyon süreçlerinde ve daha birçok alanda oldukça büyüleyici tıbbi tatbik spektrumu ihtiva eder (141).

Örneğin prematüre doğan bebeklerde oldukça sık izlenen bronkopulmoner displazi (BPD) ciddi bir durumdur. Prematüre doğumda HIF-1 α 'nın ekspresyonu azalır alveoler ve anjiyogenik süreçler bloklanır ve pulmoner anlamda gelişim bozulur (314–317). DFO'nun HIF-1 α 'yı BPD'li sıçanlarda akciğer dokusunun gelişimini desteklediği gösterilmiştir (317,318).

DFO demir ortamda bulunmamasına rağmen ROT'larla tepkimeye girerek ile DfNO radikalini biçimlendirebileceği keşfedilmiştir (141,153).

Hoe ve ark. (319) ve aynı zamanda Wilson (320) yaptıkları çalışmalarda DFO'nun OH⁻ radikali ile hızlıca tepkimeye girebileceğini göstermişlerdir.

Ek olarak Sinaceur ve ark. (321) yaptığı çalışmada DFO'nun süperoksit ile de tepkime verebileceği gösterilmiştir.

Uzun yıllarca yapılan çalışmalarla birlikte DFO'nun alkoksil, peroksil radikalleri de dahil olmak üzere radikalleri süpürebileceği gözlenmiştir (322,323).

Wang ve ark. (324) gerçekleştirdikleri retinal iskemi reperfüzyon hasarı çalışmasında DFO'nun, ROT ve MDA içeriğini azaltma, GSH içeriğini, SLC7A11 ve GPx4 ekspresyonunu artırma yoluyla dokulardaki oksidatif stresi de azaltarak doku tahribatına mâni olduğunu kanıtlamışlardır.

Zeinivand ve ark. (325) tip 1 diyabetin neden olduğu bilişsel işlev bozukluğunun iyileştirilmesi çalışmasında DFO uygulanan grupta MDA seviyelerinin daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir.

Üstün ve ark. (326) deneysel kafa travması modelinde travma sonrası azalan SOD ve GPx değerlerinin beyin dokusuna uygulanan DFO sonrasında SOD düzeylerini tamamıyla GPx düzeylerini ise kısmen azalmasının bloklandığını tespit etmişlerdir.

Aalikhani ve ark. (327) aşırı demir yüklü fareler ile yaptıkları beyin dokusu çalışmasında DFO'nun CAT düzeylerini arttığını tespit etmişlerdir.

Bizde çalışmamızda DFO ile tedavi edilen grupta MDA seviyesinin azaldığını, GPx seviyelerinin arttığını tespit ettik. CCl₄ grubundaki ortalama CAT değeri CCl₄+DFO grubundan düşük olsa da olasılıkla CCl₄+DFO grubundaki değerlerin dağılım genişliğinin fazla olması nedeniyle iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Liu ve ark. (328) akciğer iskemi reperfüzyon hasarı çalışmasında QRT-PCR analizleri ile, DFO'nun IL-6, TNF- α , IL-1 β ve kaspaz 3 düzeylerini önemli ölçüde blokladığı, ek olarak IL-6 ve TNF-a'nın ELISA yöntemiyle, DFO'nun inflamasyonu baskılayabildiğini yeniden doğrulayarak tespit etmişlerdir.

Song ve ark. (329) gerçekleştirdiği çalışmada western blot analizleri yardımıyla DFO'nun Bax ekspresyonunu azalttığını gözlemlemişlerdir.

Bizde çalışmamızda TNF- α , IL-1 β , Bax ve Kaspaz 9 düzeylerinin DFO ile tedavi edilen grupta azaldığını gözlemledik.

Bulgularımız CCl₄ aracılı akciğer hasarında inflamasyon ve apoptozun belirleyici olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte Lee ve ark. (330) erastin ve TRAIL kombinasyonunun mitokondriyal membran potansiyelini etkin olarak bozarak kaspazların aktive edilmesini desteklediğini ve bu değişikliklerin de olasılıkla Bax'ın oligomerizasyonunun artması ve mitokondride birikmesine bağlı olabileceği kanaatine varmışlardır. Literatürdeki bu bulgu çalışmamızın sonuçları ile birleştirildiğinde Bax proteini ile ferroptoz arasında bir ilişki olduğu ve CCl₄ aracılı akciğer hasarında apoptotik yolaklar ile beraber ferroptozun da bir hücrel ölüm şekli olarak rol oynayabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bu durum, daha sonra yapılacak CCl₄-Akciğer çalışmalarında doku GPx4 düzeylerinin saptanması ve Prusya mavisi boyaması ile dokuda demir birikiminin gösterilmesi yolu ile açığa kavuşturulabilir.

6.SONUÇLAR

1. CCl₄ modeli genel olarak hepatoksite çalışmalarında kullanılsa da akciğer tahribatı açısından verimli bir model olabileceği kanaatine vardık.
2. CCl₄ kaynaklı toksisiteyi 4 şekilde değerlendirdik.
 - ✓ Dokunun genel yapısını ve patolojik halini karşılaştırmak için rutin boyamalar kullanarak,
 - ✓ Antioksidan parametreler için biyokimyasal analizlerden faydalanarak,
 - ✓ İmmünohistokimyasal boyamalarla çeşitli sitokinlerin düzeylerini belirleyerek,
 - ✓ Son olarak istatistiksel analizlerle çalışmamızı taçlandırdık.
3. Sıklıkla H&E boyamasından faydalanarak hem akciğerin genel yapı ve özelliklerini hemde histolojik skora kriterlerimizi değerlendirdik. İnteralveolar septum kalınlığı, hemoraji, alveolar makrofajlar, vakuolizasyon, epitel dökülmesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından en zengin grup CCl₄ grubu olarak belirlendi. Kontrol ve DFO grupları normal morfoloji sergilerken tedavi grubunda sınırlı alanlar haricinde bu iki gruba benzer normal morfolojide bir görüntü sergilediğini gözlemledik.
4. Biyokimyasal analizlerde MDA, CAT ve GPx düzeylerini inceledik. MDA seviyesi en yüksek CCl₄ grubunda izlenirken, tedavi grubunda da beklenildiği üzere azalma gösterdi. GPx düzeyleri en az CCl₄ grubunda izlenirken, tedavi grubunda GPx düzeyi artış gösterdi. CAT düzeyleri yine CCl₄ grubunda en az izlendi. Lakin tedavi grubu CCl₄ grubuna kıyasla anlamlı olarak artmadı, DFO ve kontrol gruplarına kıyasla anlamlı olarak farklı olarak izlendi.
5. İnflamatuvar ve apoptotik süreçleri belirlemek için yapılan immünohistokimyasal boyamalarda TNF- α , IL-1 β , Kaspaz 9 ve Bax proteinleri açısından değerlendirmeler yapıldı. En yüksek ekspresyon düzeylerinin CCl₄ grubunda olduğu ve tedavi grubunda ise bu düzeylerin azaldığı tespit edildi.
6. Netice olarak verilerimiz ve literatürün ışığında CCl₄'ün oksidatif strese neden olarak akciğer tahribatını artırdığı, buna karşın, DFO'nun antioksidan, anti-inflamatuvar ve antiapoptotik özellikleri vasıtasıyla oksidatif stres kaynaklı

inflamasyon ve apoptoz durumuna karşı koruduğunu ve onarıcı tesir sergilediğini gözlemledik.

7. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde DFO'nun sadece bir şelasyon ajanı olarak değil umut vaat edebilecek antioksidan özellikler sergilemesi açısından da ileri çalışmalarda potansiyel bir aday olabileceği düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Unsal V, Cicek M, Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. Rev Environ Health 36(2):279–95, 2021.
2. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Basım, s.37-74, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji (Çev.Ed: Çevikbaş U) s.545–550, Nobel Tıp Kitapevleri, 1994.
4. Noyan T, Kömüroğlu U, Bayram İ, Şekeroğlu MR. Comparison of the effects of melatonin and pentoxifylline on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. Cell Biol Toxicol 22(6):381–91. 2006.
5. Ahmad B, Khan MR, Shah NA. Amelioration of carbon tetrachloride-induced pulmonary toxicity with *Oxalis corniculata*. Toxicol Ind Health 31(12):1243–51, 2015.
6. Kurt A, Tumkaya L, Yuce S, Turut H, Cure MC, Sehitoglu I, Kalkan Y, Pusuroglu G, Cure E. The protective effect of infliximab against carbon tetrachloride-induced acute lung injury. Iran J Basic Med Sci 19(6):685–91. 2016.
7. Pääkkö P, Anttila S, Sormunen R, Ala-Kokko L, Peura R, Ferrans VJ, Ryhänen L. Biochemical and morphological characterization of carbon tetrachloride-induced lung fibrosis in rats. Arch Toxicol 70(9):540–52. 1996.
8. Holden P, Nair LS. Deferoxamine: An Angiogenic and Antioxidant Molecule for Tissue Regeneration. Tissue Eng Part B Rev. 25(6):461–70.
9. Aktümsek A. Anatomi Ve Fizyoloji - İnsan Biyolojisi. 12. Basım, s.265–273, Nobel Akademik Yayıncılık, 2020.
10. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. 2. Basım, s.179, İstanbul Tıp Kitabevi, 2016.
11. Netter F. Respiratory System. In: The Netter Collection of Medical Illustrations . 1990.
12. Sinnatamby CS. Last's Anatomy: Regional and Applied. pp. 219–224 Churchill Livingstone, 2006.
13. Kılıç C. Akciğerlerin Anatomisi. Journal of Clinical and Analytical Medicine s. 1–3, 2016.

14. Gray H, Standring S, Ellis H, Collins P, Berkovitz BKB, Wigley C. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. pp. 951–1079, Elsevier Churchill Livingstone, 2005.
15. National Cancer Institute (NIH) Seer Training Modules. *Bronchi, Bronchial Tree,&Lungs*.<https://training.seer.cancer.gov/anatomy/respiratory/passages/bronchi.html>.
16. Dere Anatomi Atlası ve Ders Kitabı (Çev. Ed: Yücel AH, Durgun B, Oğuz Ö, Bozkır MG, Kızıllanat ED, Boyan N, Göker P) s.1111, Akademisyen Kitabevi, 2018.
17. Standring S, editor. Gray's Anatomy. 41st edition. pp.1584 Elsevier, 2016.
18. Göğüs Hastalıkları (Mirici A, Babaoğlu E, Mutlu P,) s.A1–24. Göğüs Hastalıkları. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği, 2019.
19. Walker D(2024). *The lungs*. <https://teachmeanatomy.info/thorax/organs/lungs>.
20. Kılıç C. Akciğerlerin Anatomisi. Journal of Clinical and Analytical Medicine s.2, 2016.
21. Aktümsek A. Anatomi Ve Fizyoloji - İnsan Biyolojisi. 12. Basım, s.265–270, 2020.
22. Persaud TVN, Moore KL, G. Torchia M. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (Çev. Ed: Dalçık H, Yıldırım M), Nobel Tıp Kitabevi, 2009.
23. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. (Çev Ed. Başaklar AC) s.267-275 Palme Yayıncılık, 2005.
24. Ross MH, Pawlina W. Histoloji Konu Anlatımı Ve Atlas 6. Baskıdan Çeviri (Çev. Ed: Baykal B) S. 676–687, Palme Yayıncılık, 2013.
25. Kurt H, Başaran A, Aral E. Sıçanlarda karbon tetraklorit'in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 25:167–73. 2005.
26. Rikans LE, Hornbrook KR, Cai Y. Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female Fischer 344 rats. Mech Ageing Dev 76(2–3):89–99. 1994.

27. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Türk Biyokimya Dergisi 31(2):51–6. 2006.
28. Buyukuslu N, Yigitbasi T. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity. Journal of Marmara University Institute of Health Sciences 5(3):197-203 2015.
29. Preedy VR, Adachi J, Asano M, Koll M, Mantle D, Niemela O, Parkkila S, Paice AG, Peters T, Rajendram R, Seitz H, Ueno Y, Worrall S. Free radicals in alcoholic myopathy: indices of damage and preventive studies. Free Radic Biol Med 32(8):683–7. 2002.
30. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd ed. pp. 22-85, Oxford, Clarendon Press, 1989.
31. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. Vol. 224. pp.164-175, Chemico-Biological Interaction, Elsevier Ireland Ltd, 2014.
32. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası. s.659, Palme yayıncılık, 2002.
33. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochemical Journal 219(1):1–14. 1984.
34. Fausto N. Liver regeneration. J Hepatol 32:19–31, 2000.
35. Wardman P, Candeias LP. Fenton Chemistry: An Introduction. Radiat Res 145(5):523. 1996.
36. Çakatay U, Kayalı R. Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 37(4):162–7. 2014.
37. Fenton HJH. LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron. J Chem Soc, Trans 65(0):899–910. 1894.
38. Gomberg M. The Discovery Of Organic Free Radicals By Moses Gomberg, 2000.
39. Hide A. The History Of Free Radicals And Moses Gomberg's Contributions.
40. Binger CAL, Faulkner JM, Moore RL. OXYGEN POISONING IN MAMMALS. Journal of Experimental Medicine 45(5):849–64. 1927.
41. Haber F, Weiss J. Über die Katalyse des Hydroperoxydes. Naturwissenschaften 20(51):948–50. 1932.

42. Haber F, Willstätter R. Unpaarigkeit und Radikalketten im Reaktionsmechanismus organischer und enzymatischer Vorgänge. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* 64(11):2844–56, 1931.
43. Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free Radicals in Biological Materials. *Nature* 174(4432):689–91, 1954.
44. Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 52:794–804, 2004.
45. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science* 119(3097):623–6, 1954.
46. McCord JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase: AN ENZYMIC FUNCTION FOR ERYTHROCUPREIN (HEMOCUPREIN). *Journal of Biological Chemistry* 244(22):6049–55, 1969.
47. HARMAN D. The Biologic Clock: The Mitochondria? *J Am Geriatr Soc* 27;20(4):145–7, 1972.
48. Richter C. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS Lett* 5;241(1–2):1–5, 1988.
49. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327(6122):524–6, 1987.
50. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 84(24):9265–9, 1987.
51. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87(4):1620–4, 1990.
52. Lyman S V., Hurst JK. Rapid reaction between peroxynitrite ion and carbon dioxide: Implications for biological activity. *J Am Chem Soc* 117(34):8867–8, 1995.
53. *Free Radicals in Chemistry, Biology and Medicine*. Ed: Yoshikawa T, Toyokuni S, Yamamoto Y, Naito Y. OICA International, London, 2000.

54. Wentworth P Jr, McDunn JE, Wentworth AD, Takeuchi C, Nieva J, Jones T, Bautista C, Ruedi JM, Gutierrez A, Janda KD, Babior BM, Eschenmoser A, Lerner RA. Evidence for Antibody-Catalyzed Ozone Formation in Bacterial Killing and Inflammation. *Science* (1979) 298(5601):2195–9, 2002.
55. Nordberg J, Arnér ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* 31(11):1287–312, 2001.
56. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sag Bil Enst Derg* 50–59, 2016.
57. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39(1):44–84, 2007.
58. Weijl NI, Cleton FJ, Osanto S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treat Rev* 23(4):209–40, 1997.
59. Winterbourn CC, Gutteridge JMC, Halliwell B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. *J Free Radic Biol Med* 1(1):43–9, 1985.
60. Kehrer JP. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Crit Rev Toxicol* 23(1):21–48, 1993.
61. Wickens AP. Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol* 128(3):379–91, 2001.
62. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med* 43(5):334–44, 1990.
63. Masaki N, Yamada S, Ogata I, Ohta Y, Fujiwara K. Enhancement of carbon tetrachloride-induced liver injury by glucagon and insulin treatment. *Research in Experimental Medicine* 188(1):27–33, 1988.
64. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* (2):137–50, 2011.
65. Azeh Engwa G, Nwalo Nweke F, Ngwechi Nkeh-Chungag B. Free Radicals, Oxidative Stress-Related Diseases And Antioxidant Supplementation. Vol. 28, s. 114 2022.

66. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* 13:757–72, 2018.
67. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 324(1):1–18, 1997.
68. Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, Hensley K, Yatin S, Allen K, Aksenov M, Aksenova M, Carney J. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 854(1):448–62, 1998.
69. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radic Res* 33:99–108, 2000.
70. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free radical biology & medicine* 32(11), 1102–1115, 2002.
71. Hofer T, Badouard C, Bajak E, Ravanat JL, Mattsson Å, Cotgreave IA. Hydrogen peroxide causes greater oxidation in cellular RNA than in DNA. *Biol Chem* 386(4), 2005.
72. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U. Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(11):4405–9, 2014.
73. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 25:6(3), 2015.
74. Kalam S, Gul MZ, Singh R, Ankati S. Free Radicals: Implications in Etiology of Chronic Diseases and Their Amelioration through Nutraceuticals. *Pharmacologia* 6(1):11–20, 2015.
75. Marnett LJ. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424(1–2):83–95, 1999.
76. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47(5):412–26, 1982.

77. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49(3):481–93, 1993.
78. Makowski L, Chaib M, Rathmell JC. Immunometabolism: From basic mechanisms to translation. *Immunol Rev* 295(1):5–14, 2020.
79. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, Kumar SS. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev* 2016:1–15, 2016.
80. Wang YX, editor. Lung Inflammation in Health and Disease. pp.187–199 Springer International Publishing; 2021.
81. Azad N, Rojanasakul Y, Vallyathan V. Inflammation and Lung Cancer: Roles of Reactive Oxygen/Nitrogen Species. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 11(1):1–15, 2008.
82. Lukan N. Immunological Mechanisms and Clinical Aspects in Pulmonary- Renal Syndrome: A Review. In: *Updates in the Diagnosis and Treatment of Vasculitis*. InTech; 2013.
83. Newman JH, Sheller JR. Arachidonic Acid Metabolites in the Healthy Diseased Lung. *Am J Med Sci* 288(2):75–80, 1984.
84. Sağlık Bilimleri Alanında Güncel Araştırmalar. (Ed: Goncagül G, Günaydın E,) s. 73–105 Duvar Yayınları, İzmir, 2020.
85. Moldoveanu B, Otmishi P, Jani P, Walker J, Sarmiento X, Guardiola J, Saad M, Yu J. Inflammatory mechanisms in the lung. *J Inflamm Res* 2009;2:1–11.
86. Malek M, Hassanshahi J, Fartootzadeh R, Azizi F, Shahidani S. Nephrogenic acute respiratory distress syndrome: A narrative review on pathophysiology and treatment. *Chinese Journal of Traumatology* (1):4–10, 2018.
87. Cohen AB, Rossi M. Neutrophils in normal lungs. *Am Rev Respir Dis* 127(2): S3-9, 1983.
88. McBrien CN, Menzies-Gow A. The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma. *Front Med (Lausanne)* 30;4, 2017.
89. Komi DEA, Mortaz E, Amani S, Tiotiu A, Folkerts G, Adcock IM. The Role of Mast Cells in IgE-Independent Lung Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 58(3):377–87, 2020.

90. Chen K, Kolls JK. T Cell–Mediated Host Immune Defenses in the Lung. *Annu Rev Immunol* 31(1):605–33, 2013.
91. Borthwick LA. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung. *Semin Immunopathol* 38(4):517–34, 2016.
92. Culley FJ. Natural killer cells in infection and inflammation of the lung. *Immunology* 128(2):151–63, 2009.
93. Unsal V, Cicek M, Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Rev Environ Health* 36(2):279–95, 2021.
94. K. D. Thrall Mevra. Comparative Metabolism Of Carbon Tetrachloride In Rats, Mice, And Hamsters Using Gas Uptake And Pbpk Modeling. *J Toxicol Environ Health A* 60(8):531–48, 2000.
95. Xue L, Li X, Zhu X, Zhang J, Zhou S, Tang W, et al. Carbon tetrachloride exposure induces ovarian damage through oxidative stress and inflammatory mediated ovarian fibrosis. *Ecotoxicol Environ Saf* 242:113859, 2022.
96. Toxicological Profile for Carbon Tetrachloride. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2005.
97. Es.Haghi M, Dehghan G, Banihabib N, Zare S, Mikaili P, Panahi F. Protective effects of Cornus mas fruit extract on carbon tetrachloride induced nephrotoxicity in rats. *Indian J Nephrol* 24(5):291, 2014.
98. Weber LWD, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and Mechanism of Action of Haloalkanes: Carbon Tetrachloride as a Toxicological Model. *Crit Rev Toxicol* 33(2):105–36, 2003.
99. Srinivasan M, Rukkumani R, Ram Sudheer A, Menon VP. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 19(4):491–6, 2005.
100. Makni M, Chtourou Y, Garoui E, Boudawara T, Fetoui H. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and DNA damage in rats. *Hum Exp Toxicol* (8):844–52, 2012.
101. Ahmad B, Khan MR, Shah NA. Amelioration of carbon tetrachloride-induced pulmonary toxicity with *Oxalis corniculata*. *Toxicol Ind Health* 31(12):1243–51, 2015.

102. McGregor D. Carbon tetrachloride: Genetic effects and other modes of action. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 366(3):181–95, 1996.
103. Ganie SA, Haq E, Hamid A, Qurishi Y, Mahmood Z, Zargar BA, Masood A, Zargar MA. Carbon tetrachloride induced kidney and lung tissue damages and antioxidant activities of the aqueous rhizome extract of *Podophyllum hexandrum*. *BMC Complement Altern Med* 11(1):17, 2011.
104. Makni M, Chtourou Y, Barkallah M, Fetoui H. Protective effect of vanillin against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats. *Toxicol Ind Health* 28(7):655–62, 2012.
105. Khan MR, Rizvi W, Khan GN, Khan RA, Shaheen S. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats: Protective role of *Digera muricata*. *J Ethnopharmacol* 122(1):91–9, 2009.
106. Khan MR, Siddique F. Antioxidant effects of *Citharexylum spinosum* in CCl₄ induced nephrotoxicity in rat. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(4):349–55, 2012.
107. Khan MR, Ahmed D. Protective effects of *Digera muricata* (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food and Chemical Toxicology* 47(6):1393–9, 2009.
108. Srilaxmi P, Sareddy GR, kishor PBK, Setty OH, Babu PP. Protective efficacy of natansnin, a dibenzoyl glycoside from *Salvinia natans* against CCl₄ induced oxidative stress and cellular degeneration in rat liver. *BMC Pharmacol* 10(1):13, 2010.
109. Ahmad FF, Cowan DL, Sun AY. Detection of free radical formation in various tissues after acute carbon tetrachloride administration in gerbil. *Life Sci* 41(22):2469–75, 1987.
110. Ozturk F, Ucar M, Ozturk IC, Vardi N, Batcioglu K. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats. *Urology* 62(2):353–6, 2003.
111. Recknagel RO. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: status quo and future prospects. *Trends Pharmacol Sci* 4:129–31, 1983.
112. McCay PB, Lai EK, Poyer JL, DuBose CM, Janzen EG. Oxygen- and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. Observation of lipid radicals in vivo and in vitro. *J Biol Chem* 259(4):2135–43, 1984.

- 113.Rechnagel RO, Glende EA, Plaa GL. Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity: An Example of Lethal Cleavage. *CRC Crit Rev Toxicol* 2(3):263–97, 1973.
- 114.McGill MR, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1865(5):1031–9, 2019.
- 115.Slater TF. Free Radicals as Reactive Intermediates in Tissue Injury. pp. 575–89, 1982.
- 116.Packer JE, Slater TF, Willson RL. Reactions of the carbon tetrachloride-related peroxy free radical ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$) with amino acids : Pulse radiolysis evidence. *Life Sci* 23(26):2617–20, 1978.
- 117.Boyd MR, Statham CN, Longo NS. The pulmonary clara cell as a target for toxic chemicals requiring metabolic activation; studies with carbon tetrachloride. *J Pharmacol Exp Ther* 212(1):109–14, 1980.
- 118.Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi* 22:5–13, 2009.
- 119.Misra N, Gupta AK. Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings. *J Plant Physiol* 163(1):11–8, 2006.
- 120.Kuo MC, Kao CH. Antioxidant enzyme activities are upregulated in response to cadmium in sensitive, but not in tolerant rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 45:291–9, 2004.
- 121.Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1(1):65–65, 2016.
- 122.Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 4(2):89–96, 2008.
- 123.Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. pp. 1–37, 2011.
- 124.Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y, De B. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res* 3:91–100, 2010.
- 125.Aydemir B, Karadağ SE. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal* 2(2):56–60, 2009.

- 126.Sadıqov ST. Canlılarda moleküler düzenleme mekanizmaları. Erciyes Üniversitesi Yayınları, 2001.
- 127.Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 6(3), 2015.
- 128.Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Savran EŞ, Yılmaz B. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü - Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 26(3):362–9, 2019.
- 129.Sanyal J, Bandyopadhyay SK, Banerjee TK, Mukherjee SC, Chakraborty DP, Ray BC, Rao VR. Plasma levels of lipid peroxides in patients with Parkinson’s disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 13(2):129–32, 2009.
- 130.Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 33(3):337–49, 2002.
- 131.Takada Y, Hachiya M, Park SH, Osawa Y, Ozawa T, Akashi M. Role of reactive oxygen species in cells overexpressing manganese superoxide dismutase: mechanism for induction of radioresistance. *Mol Cancer Res* 1(2):137–46, 2002.
- 132.Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med* 35(3):236–56, 2003.
- 133.Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, van Zanden J, van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 10(4):141–52, 2001.
- 134.Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, et al. A review of the evidence supporting melatonin’s role as an antioxidant. *J Pineal Res* 18(1):1–11, 1995.
- 135.Karabal E, Yücel M, Öktem HA. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science* 164(6):925–33, 2003.
- 136.Cheung CCC, Zheng GJ, Li AMY, Richardson BJ, Lam PKS. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology* 52(3–4):189–203, 2001.

- 137.Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27(4):969–78, 1988.
- 138.Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54(4):287–93, 2018.
- 139.Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev* 82(1):47–95, 2002.
- 140.Flora SJS, Pachauri V. Chelation in Metal Intoxication. *Int J Environ Res Public Health* 7(7):2745–88, 2010.
- 141.Holden P, Nair LS. Deferoxamine: An Angiogenic and Antioxidant Molecule for Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev* 25(6):461–70, 2019.
- 142.Richardson DR, Ponka P. The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* 1331(1):1–40, 1997.
- 143.Andrews NC. Disorders of Iron Metabolism. *New England Journal of Medicine* 341(26):1986–95, 1999.
- 144.Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 22(1–2):1–87, 2001.
- 145.Richardson DR. Therapeutic Potential of Iron Chelators in Cancer Therapy. In p. 231–49. 2002.
- 146.Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 117(3):285–97, 2004.
- 147.Aisen P. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int J Biochem Cell Biol* 33(10):940–59, 2001.
- 148.Amsri A, Srichairatanakool S, Teerawutgulrag A, Youngchim S, Pongpom M. Genetic Engineering of *Talaromyces marneffe* to Enhance Siderophore Production and Preliminary Testing for Medical Application Potential. *Journal of Fungi* 8(11):1183, 2022.

149. Moon JH, Jeong JK, Park SY. Deferoxamine inhibits TRAIL-mediated apoptosis via regulation of autophagy in human colon cancer cells. *Oncol Rep* 33(3):1171–6, 2015.
150. Toyokuni S. Iron-induced carcinogenesis: The role of redox regulation. *Free Radic Biol Med* 20(4):553–66, 1996.
151. Nelson R. Dietary iron and colorectal cancer risk. *Free Radic Biol Med* 12(2):161–8, 1992.
152. Gutteridge JMC, Richmond R, Halliwell B. Inhibition of the iron-catalysed formation of hydroxyl radicals from superoxide and of lipid peroxidation by desferrioxamine. *Biochemical Journal* 184(2):469–72, 1979.
153. Davies MJ, Donkor R, Dunster CA, Gee CA, Jonas S, Willson RL. Desferrioxamine (Desferal) and superoxide free radicals. Formation of an enzyme-damaging nitroxide. *Biochemical Journal* 246(3):725–9, 1987.
154. Basaran UN, Ayvaz S, Aksu B, Karaca T, Cemek M, Karaboga I, Inan M, Aksu F, Pul M. Desferrioxamine Reduces Oxidative Stress in the Lung Contusion. *The Scientific World Journal* 2013(1), 2013.
155. Bergeron RJ, Wiegand J, McManis JS, Bussenius J, Smith RE, Weimar WR. Methoxylation of Desazadesferrithiocin Analogues: Enhanced Iron Clearing Efficiency. *J Med Chem* 46(8):1470–7, 2003.
156. Barnham KJ, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov* 3(3):205–14, 2004.
157. Hybertson BM, Connelly KG, Buser RT, Repine JE. Ferritin and Desferrioxamine Attenuate Xanthine Oxidase-Dependent Leak in Isolated Perfused Rat Lungs. *Inflammation* 26(4):153–9, 2002.
158. Duscher D, Neofytou E, Wong VW, Maan ZN, Rennert RC, Inayathullah M, Januszyk M, Rodrigues M, Malkovskiy AV, Whitmore AJ, Walmsley GG, Galvez MG, Whittam AJ, Brownlee M, Rajadas J, Gurtner GC. Transdermal deferoxamine prevents pressure-induced diabetic ulcers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(1):94–9, 2015.
159. Nurtjahja-Tjendraputra E, Fu D, Phang JM, Richardson DR. Iron chelation regulates cyclin D1 expression via the proteasome: a link to iron deficiency-mediated growth suppression. *Blood* 109(9):4045–54, 2007.

160. Fu D, Richardson DR. Iron chelation and regulation of the cell cycle: 2 mechanisms of posttranscriptional regulation of the universal cyclin-dependent kinase inhibitor p21CIP1/WAF1 by iron depletion. *Blood* 110(2):752–61, 2007.
161. Choi CW, Lee J, Lee HJ, Park HS, Chun YS, Kim B Il. Deferoxamine Improves Alveolar and Pulmonary Vascular Development by Upregulating Hypoxia-inducible Factor-1 α in a Rat Model of Bronchopulmonary Dysplasia. *J Korean Med Sci* 30(9):1295, 2015.
162. Dongiovanni P, Valenti L, Ludovica Fracanzani A, Gatti S, Cairo G, Fargion S. Iron Depletion by Deferoxamine Up-Regulates Glucose Uptake and Insulin Signaling in Hepatoma Cells and in Rat Liver. *Am J Pathol* 172(3):738–47, 2008.
163. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *aktd.* 20(3):145–58, 2011.
164. Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. p. 73–120. 2021.
165. FADEEL B, ORRENIUS S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Intern Med* 258(6):479–517, 2005.
166. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ* 322(7301):1536–8, 2001.
167. Hengartner MO, Ellis R, Horvitz R. *Caenorhabditis elegans* gene ced-9 protects cells from programmed cell death. *Nature* 356(6369):494–9, 1992.
168. Kashyap D, Sharma A, Sak K, Tuli HS, Buttar HS, Bishayee A. Fisetin: A bioactive phytochemical with potential for cancer prevention and pharmacotherapy. *Life Sci* 194:75–87, 2018.
169. Kashyap D, Garg VK, Tuli HS, Yerer MB, Sak K, Sharma AK, Kumar M, Aggarwal V, Sandhu SS. Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential. *Biomolecules* 9(5), 2019.
170. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol* 35(4):495–516, 2007.
171. Aggarwal V, Kashyap D, Sak K, Tuli HS, Jain A, Chaudhary A, Garg VK, Sethi G, Yerer MB. Molecular Mechanisms of Action of Tocotrienols in Cancer: Recent Trends and Advancements. *Int J Mol Sci* 20(3):656, 2019.

172. Ford W. Biological mechanisms of male infertility. *The Lancet*. 357(9264):1223–4, 2001.
173. Marti A, Ritter PM, Jäger R, Lazar H, Baltzer A, Schenkel J, Declercq W, Vandenabeele P, Jaggi R. Mouse mammary gland involution is associated with cytochrome c release and caspase activation. *Mech Dev* 104(1–2):89–98, 2001.
174. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell Death in Development. *Cell* 96(2):245–54, 1999.
175. Yadav P, Jaswal V, Sharma A, Kashyap D, Tuli HS, Garg VK, Das SK, Srinivas R. Celastrol As a Pentacyclic Triterpenoid With Chemopreventive Properties. *Pharm Pat Anal*. 7(4):155–67, 2018.
176. Kashyap D, Tuli HS, Yerer MB, Sharma A, Sak K, Srivastava S, Pandey A, Garg, VK, Sethi G, Bishayee A. Natural product-based nanoformulations for cancer therapy: Opportunities and challenges. *Semin Cancer Biol*. 69:5–23, 2021.
177. Kashyap D, Sharma A, Tuli HS, Sak K, Mukherjee T, Bishayee A. Molecular targets of celastrol in cancer: Recent trends and advancements. *Crit Rev Oncol Hematol* 128:70–81, 2018.
178. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of Apoptosis in disease. *Aging* 4(5):330–49, 2012.
179. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and Functions of Cell Death. *Annu Rev Cell Biol*. 7(1):663–98, 1991.
180. Bellamy COC, Malcolmson RDG, Harrison DJ, Wyllie AH. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Semin Cancer Biol*. 6(1):3–16, 1995.
181. Shamas-Din A, Kale J, Leber B, Andrews DW. Mechanisms of Action of Bcl-2 Family Proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5(4): a008714–a008714, 2013.
182. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2(8):594–604, 2002
183. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 19(2):73–8, 2008.
184. Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, Alnemri ES, Andrews DW, Baehrecke EH, Bazan NG, Blagosklonny MV, Blomgren K, Borner C, Bredesen DE, Brenner C, Castedo M, Cidlowski JA, Ciechanover A, Cohen GM, De Laurenzi V, De Maria

- R, Deshmukh M, Dynlacht BD, El-Deiry WS, Flavell RA, Fulda S, Garrido C, Golstein P, Gougeon ML, Green DR, Gronemeyer H, Hajnóczky G, Hardwick JM, Hengartner MO, Ichijo H, Jäätelä M, Kepp O, Kimchi A, Klionsky DJ, Knight RA, Kornbluth S, Kumar S, Levine B, Lipton SA, Lugli E, Madeo F, Malomi W, Marine JC, Martin SJ, Medema JP, Mehlen P, Melino G, Moll UM, Morselli E, Nagata S, Nicholson DW, Nicotera P, Nuñez G, Oren M, Penninger J, Pervaiz S, Peter ME, Piacentini M, Prehn JH, Puthalakath H, Rabinovich GA, Rizzuto R, Rodrigues CM, Rubinsztein DC, Rudel T, Scorrano L, Simon HU, Steller H, Tschoep J, Tsujimoto Y, Vandenabeele P, Vitale I, Voutsden KH, Youle RJ, Yuan J, Zhivotovsky B, Kroemer G. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ* 16(8):1093–107, 2009.
- 185.Kashyap D, Tuli HS, Sak K, Garg VK, Goel N, Punia S, et al. Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression. *Curr Pharmacol Rep* 5(2):79–86, 2019.
- 186.Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, van den Heuvel FA, Koornstra JJ, Wesseling J, et al. Tissue Distribution of the Death Ligand TRAIL and Its Receptors. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 52(6):821–31, 2004.
- 187.Wang C, Youle RJ. The role of mitochondria in apoptosis*. *Annu Rev Genet* 43:95–118, 2009.
- 188.Zhou X, Jiang W, Liu Z, Liu S, Liang X. Virus Infection and Death Receptor-Mediated Apoptosis. *Viruses* 9(11):316, 2017.
- 189.Guicciardi ME, Gores GJ. Life and death by death receptors. *The FASEB Journal* 23(6):1625–37, 2009.
- 190.Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci* 26(1):61–6, 2001.
- 191.Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal* 15(11):983–92, 2003.
- 192.Bu ZQ, Yu HY, Wang J, He X, Cui YR, Feng JC, et al. Emerging Role of Ferroptosis in the Pathogenesis of Ischemic Stroke: A New Therapeutic Target? *ASN Neuro* 13:175909142110375, 2021.
- 193.Angeli JPF, Shah R, Pratt DA, Conrad M. Ferroptosis Inhibition: Mechanisms and Opportunities. *Trends Pharmacol Sci* 38(5):489–98, 2017.
- 194.Hou W, Xie Y, Song X, Sun X, Lotze MT, Zeh HJ, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin. *Autophagy* 12(8):1425–8, 2016.

195. Yu H, Guo P, Xie X, Wang Y, Chen G. Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumourous diseases. *J Cell Mol Med* 21(4):648–57, 2017.
196. İskin AE, Budak F. Enfeksiyon Hastalıklarında Ferroptozun Rolü. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 49(3):425–38, 2023.
197. Conrad M, Kagan VE, Bayir H, Pagnussat GC, Head B, Traber MG, Stockwell BR. Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species. *Genes Dev* 32(9–10):602–19, 2018.
198. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B, Stockwell BR. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell* 149(5):1060–72, 2012.
199. Ju J, Song Y nan, Wang K. Mechanism of Ferroptosis: A Potential Target for Cardiovascular Diseases Treatment. *Aging Dis* 12(1):261, 2021.
200. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 482(3):419–25, 2017.
201. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Kroemer G. Ferroptosis in p53-dependent oncosuppression and organismal homeostasis. *Cell Death Differ* 22(8):1237–8, 2015.
202. Jennis M, Kung CP, Basu S, Budina-Kolomets A, Leu JI, Khaku S, Scott JP, Cai KQ, Campbell MR, Porter DK, Wang X, Bell DA, Li X, Garlick DS, Liu Q, Hollstein M, George DL, Murphy ME. An African-specific polymorphism in the TP53 gene impairs p53 tumor suppressor function in a mouse model. *Genes Dev* 30(8):918–30, 2016.
203. Jiang L, Hickman JH, Wang SJ, Gu W. Dynamic roles of p53-mediated metabolic activities in ROS-induced stress responses. *Cell Cycle* 14(18):2881–5, 2015.
204. Wang SJ, Li D, Ou Y, Jiang L, Chen Y, Zhao Y, et al. Acetylation Is Crucial for p53-Mediated Ferroptosis and Tumor Suppression. *Cell Rep* 17(2):366–73, 2016.
205. Hangauer MJ, Viswanathan VS, Ryan MJ, Bole D, Eaton JK, Matov A, Galeas J, Dhruv HD, Berens ME, Schreiber SL, McCormick F, McManus MT. Drug-tolerant persister cancer cells are vulnerable to GPX4 inhibition. *Nature* 551(7679):247–50, 2017.

206. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of Ferroptotic Cancer Cell Death by GPX4. *Cell* 156(1–2):317–31, 2014.
207. Gao M, Yi J, Zhu J, Minikes AM, Monian P, Thompson CB, Jiang X. Role of Mitochondria in Ferroptosis. *Mol Cell* 73(2):354–363.e3, 2019.
208. Gao M, Monian P, Pan Q, Zhang W, Xiang J, Jiang X. Ferroptosis is an autophagic cell death process. *Cell Res* 26(9):1021–32, 2016.
209. Yao Y, Shi Y, Gao Z, Sun Y, Yao F, Ma L. Ferroptosis at the crossroads of tumor-host interactions, metastasis, and therapy response. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 323(1):C95–103, 2022.
210. Kagan VE, Mao G, Qu F, Angeli JPF, Doll S, Croix CS. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol* 13(1):81–90, 2017.
211. Conrad M, Pratt DA. The chemical basis of ferroptosis. *Nat Chem Biol* 15(12):1137–47, 2019.
212. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22(4):266–82, 2021.
213. Li D, Li Y. The interaction between ferroptosis and lipid metabolism in cancer. *Signal Transduct Target Ther* 5(1):108, 2020.
214. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol* 16(12):1180–91, 2014.
215. Winterbourn CC, Hampton MB. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic Biol Med* 45(5):549–61, 2008.
216. Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, Patel M, Shchepinov MS, Stockwell BR. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(34), 2016.
217. Cao JY, Dixon SJ. Mechanisms of ferroptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences* (11–12):2195–209, 2016.
218. Zhang Y, Shi J, Liu X, Feng L, Gong Z, Koppula P, Sirohi K, Li X, Wei Y, Lee H, Zhuang L, Chen G, Xiao ZD, Hung MC, Chen J, Huang P, Li W, Gan B. BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumour suppression. *Nat Cell Biol* 20(10):1181–92, 2018.

219. De Domenico I, McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(1):72–81, 2008.
220. Mancias JD, Wang X, Gygi SP, Harper JW, Kimmelman AC. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy. *Nature* 509(7498):105–9, 2014.
221. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, Andrews NC. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 1(3):191–200, 2005.
222. Geng N, Shi BJ, Li SL, Zhong ZY, Li YC, Xua WL, Zhou H, Cai JH. Knockdown of ferroportin accelerates erastin-induced ferroptosis in neuroblastoma cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 22(12):3826–36, 2018.
223. Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, Magtanong L, Ford B, Tang PH, Roberts MA, Tong B, Maimone TJ, Zoncu R, Bassik MC, Nomura DK, Dixon SJ, Olzmann JA. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature* 575(7784):688–92, 2019.
224. Doll S, Freitas FP, Shah R, Aldrovandi M, da Silva MC, Ingold I, Goya Grocin A, Xavier da Silva TN, Panzilius E, Scheel CH, Mourão A, Buday K, Sato M, Wanninger J, Vignane T, Mohana V, Rehberg M, Flatley A, Schepers A, Kurz A, White D, Sauer M, Sattler M, Tate EW, Schmitz W, Schulze A, O'Donnell V, Proneth B, Popowicz GM, Pratt DA, Angeli JPF, Conrad M. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature* 575(7784):693–8, 2019.
225. Sapmaz-Metin M, Topcu-Tarladacalisir Y, Uz YH, Inan M, Omurlu IK, Cerkezayabekir A, Kizilay G, Akpolat M. Vitamin E modulates apoptosis and c-jun N-terminal kinase activation in ovarian torsion–detorsion injury. *Exp Mol Pathol* 95(2):213–9, 2013.
226. Habashy NH, Kodous AS, Abu-Serie MM. Targeting ROS/NF- κ B signaling pathway by the seedless black *Vitis vinifera* polyphenols in CCl₄-intoxicated kidney, lung, brain, and spleen in rats. *Sci Rep* 11(1):16575, 2021.
227. Abu-Serie MM, Habashy NH. *Vitis vinifera* polyphenols from seedless black fruit act synergistically to suppress hepatotoxicity by targeting necroptosis and pro-fibrotic mediators. *Sci Rep* 10(1):2452, 2020.
228. Amin A, Mahmoud-Ghoneim D. Texture analysis of liver fibrosis microscopic images: a study on the effect of biomarkers. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 43(3):193–203, 2011.

229. Bisht S, Khan MA, Bekhit M, Bai H, Cornish T, Mizuma M, Rudek MA, Zhao M, Maitra A, Ray B, Lahiri D, Maitra A, Anders RA. A polymeric nanoparticle formulation of curcumin (NanoCurcTM) ameliorates CCl₄-induced hepatic injury and fibrosis through reduction of pro-inflammatory cytokines and stellate cell activation. *Laboratory Investigation* 91(9):1383–95, 2011.
230. Bargagli E, Olivieri C, Bennett D, Prasse A, Muller-Quernheim J, Rottoli P. Oxidative stress in the pathogenesis of diffuse lung diseases: A review. *Respir Med* 103(9):1245–56, 2009.
231. Weber LWD, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and Mechanism of Action of Haloalkanes: Carbon Tetrachloride as a Toxicological Model. *Crit Rev Toxicol* 33(2):105–36, 2003.
232. Fridovich I, Freeman B. Antioxidant Defenses in the Lung. *Annu Rev Physiol* 48(1):693–702, 1986.
233. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev* 2017:1–13, 2017.
234. Rogers LK, Cismowski MJ. Oxidative stress in the lung – The essential paradox. *Curr Opin Toxicol* 7:37–43, 2018.
235. Khan RA, Alkreathy HM, Saboorshah A, Ahmed M, Khan S. Protective effects of *Trifolium alexandrinum* L. against lung injury induced by environmental toxin CCl₄ in experimental rats. *Food Nutr Res* 60(1):30433, 2016.
236. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68(6):394–424, 2018.
237. Mathers CD, Loncar D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 3(11):e442, 2006.
238. Aslan A, Hussein YT, Gok O, Beyaz S, Erman O, Baspinar S. Ellagic acid ameliorates lung damage in rats via modulating antioxidant activities, inhibitory effects on inflammatory mediators and apoptosis-inducing activities. *Environmental Science and Pollution Research* 27(7):7526–37, 2020.
239. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 12(4):274–7, 1996.

240. Crystal RG. Oxidants and respiratory tract epithelial injury: Pathogenesis and strategies for therapeutic intervention. *Am J Med* 91(3):S39–44, 1991.
241. Clark JM, Lambertsen CJ. Pulmonary oxygen toxicity: a review. *Pharmacol Rev* 23(2):37–133, 1971.
242. Fisher AB, Forman HJ, Glass M. Mechanisms of pulmonary oxygen toxicity. *Lung* 162(1):255–9, 1984.
243. Jackson RM. Molecular, pharmacologic, and clinical aspects of oxygen-induced lung injury. *Clin Chest Med* 11(1):73–86, 1990.
244. Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, Ford ES, Redd SC. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance--United States, 1971-2000. *MMWR Surveill Summ* 51(6):1–16, 2002.
245. Ohta Y, Nishida K, Sasaki E, Kongo M, Ishiguro I. Attenuation of disrupted hepatic active oxygen metabolism with the recovery of acute liver injury in rats intoxicated with carbon tetrachloride. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 95(2):191–207, 1997.
246. Díaz Gómez MI, de Castro CR, D'Acosta N, de Fenos OM, de Ferreyra EC, Castro JA. Species differences in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: The role of CCl₄ activation and of lipid peroxidation. *Toxicol Appl Pharmacol* 34(1):102–14, 1975.
247. Gnanaprakash K, Madhusudhana CC, Ramkanth DS, Muthumanickam A, Tiruvengadarajan VS, Parameswari A, et al. Aqueous Extract of *Flacourtia indica* Prevents Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rat. *International Journal of Biological and Life Sciences* 6:51–5, 2010.
248. Abdel-Wahhab KGED, El-Shamy KA, El-Beih NAEZ, Morcy FA, Mannaa FAE. Protective effect of a natural herb (*Rosmarinus officinalis*) against hepatotoxicity in male albino rats. *Comunicata Scientiae* 2(1):9–17, 2011.
249. Etim OE, Akpan EJ, Usuh IF. Hepatotoxicity of carbon tetrachloride: protective effect of *Gongronema latifolium*. *Pak J Pharm Sci* 21(3):268–74, 2008.
250. Zuinen R, Yamaji K, Aoki M, Chikuma T, Hojo H. Early induced, high-level interleukin-6 expression in the rat peritoneal cavity into which a hepatotoxicant carbon tetrachloride was administered. *Toxicol Lett* 170(1):42–8, 2007.
251. Balderas-Renteria I, Camacho-Corona MDR, Carranza-Rosales P, Lozano-Garza HG, Castillo-Nava D, Alvarez-Mendoza FJ, Tamez-Cantú EM. Hepatoprotective

- effect of *Leucophyllum frutescens* on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. *Ann Hepatol* 6(4):251–4, 2007.
252. Maksimchik YuZ, Lapshina EA, Sudnikovich EYu, Zabrodskaya S V., Zavodnik IB. Protective effects of N-acetyl-L-cysteine against acute carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. *Cell Biochem Funct* 26(1):11–8, 2008.
 253. Sen A, Sahin B, Agus H, Bayav M, Sevim H, Semiz A. Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity by *Urtica urens* in Rats. *J.appl.biol.sci* 1(3):29–32, 2007.
 254. Bayram İ, Özbek H, Uğraş S, Tuncer İ, Reçber D. Askorbik asit ve alfa-tokoferol'ün karbon tetraklorürle oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi modelinde karaciğeri koruyucu etkisi. *Van Tıp Dergisi* 11(2):32–8, 2004.
 255. İlhan N, Seçkin D. Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCl₄- induced hepatotoxicity. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 19:175–9, 2005.
 256. Khorshid HRK, Azonov JA, Novitsky YA, Farzamfar B, Shahhosseiny MH. Hepatoprotective effects of setarud against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Indian J Gastroenterol* 27(3):110–2, 2008.
 257. Rieth S, Manibusan M, et al. Toxicological Review Of Carbon Tetrachloride, . Washington, 3–260 p. 2010.
 258. Taslidere E, Esrefoglu M, Elbe H, Cetin A, Ates B. Protective effects of melatonin and quercetin on experimental lung injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Exp Lung Res* 40(2):59–65, 2014.
 259. Liu Q, Li J, Cheng R, Chen Y, Lee K, Hu Y, et al. Nitrosative Stress Plays an Important Role in Wnt Pathway Activation in Diabetic Retinopathy. *Antioxid Redox Signal* 18(10):1141–53, 2013.
 260. Gu L, Deng W sheng, Liu Y, Jiang C hui, Sun L ci, Sun X fei, Xu Q, Zhou H. Ellagic acid protects Lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute hepatic injury in mice. *Int Immunopharmacol* 22(2):341–5, 2014.
 261. Gul M, Aliosmanoglu I, Uslukaya O, Firat U, Yüksel H, Gümüş M, Ulger BV. The Protective Effect of Ellagic Acid on Lung Damage Caused by Experimental Obstructive Jaundice Model. *Acta Chir Belg* 113(4):285–9, 2013.
 262. Lee JY, Kim WK, Bae KH, Lee SC, Lee EW. Lipid Metabolism and Ferroptosis. *Biology (Basel)* 10(3):184, 2021.

- 263.Sun Y, Ren Y, Song L yun, Wang Y ying, Li T gang, Wu Y li, Li L, Yang ZS. Targeting iron-metabolism:a potential therapeutic strategy for pulmonary fibrosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 172:116270, 2024.
- 264.Aragno M, Tamagno E, Poli G, Boccuzzi G, Brignardello E, Danni O. Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Lipid Peroxidation in Liver Microsomes from Dehydroepiandrosterone-Pretreated Rats. *Free Radic Res* 21(6):427–35, 1994.
- 265.Hagihara M, Nishigaki I, Maseki M, Yagi K. Age-Dependent Changes in Lipid Peroxide Levels in the Lipoprotein Fractions of Human Serum. *J Gerontol* 39(3):269–72, 1984.
- 266.Kurata M, Suzuki M, Agar NS. Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 106(3):477–87, 1993.
- 267.Jeon T Il, Hwang SG, Park NG, Jung YR, Shin SI, Choi SD, et al. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Toxicology* 187(1):67–73, 2003.
- 268.Wilson MR, Goddard ME, O’Dea KP, Choudhury S, Takata M. Differential roles of p55 and p75 tumor necrosis factor receptors on stretch-induced pulmonary edema in mice. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 293(1):L60–8, 2007.
- 269.Weinberger B, Laskin JD, Sunil VR, Sinko PJ, Heck DE, Laskin DL. Sulfur mustard-induced pulmonary injury: Therapeutic approaches to mitigating toxicity. *Pulm Pharmacol Ther* 24(1):92–9, 2011.
- 270.Pendino KJ, Meidhof TM, Heck DE, Laskin JD, Laskin DL. Inhibition of macrophages with gadolinium chloride abrogates ozone-induced pulmonary injury and inflammatory mediator production. *Am J Respir Cell Mol Biol* 13(2):125–32, 1995.
- 271.Fakhrzadeh L, Laskin JD, Laskin DL. Ozone-induced production of nitric oxide and TNF- α and tissue injury are dependent on NF- κ B p50. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 287(2):L279–85, 2004.
- 272.Churg A, Zhou S, Preobrazhenska O, Tai H, Wang R, Wright JL. Expression of Profibrotic Mediators in Small Airways versus Parenchyma after Cigarette Smoke Exposure. *Am J Respir Cell Mol Biol* 40(3):268–76, 2009.

- 273.Yıldırım AB, Karabulut D. Karbon Tetraklorürün Neden Olduğu Akciğer Hasarında L-Karnitinin Antiapoptotik ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerindeki Rolü. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 17(2):189–94, 2020.
- 274.Malaviya R, Laskin JD, Laskin DL. Anti-TNF α therapy in inflammatory lung diseases. Pharmacol Ther 180:90–8, 2017.
- 275.Ogeturk M, Çolakoğlu N, Kuş Ma, Kuş I, Sarsılmaz M. Karbon tetraklorür ile oluşturulan deneysel akciğer hasarında kafeik asit fenetil esterinin koruyucu etkinliği. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi 23(2):57–61, 2009.
- 276.Kurt A, Tumkaya L, Yuce S, Turut H, Cure MC, Sehitoglu I, Kalkan Y, Pusuroglu G, Cure E. The protective effect of infliximab against carbon tetrachloride-induced acute lung injury. Iran J Basic Med Sci 19(6):685–91, 2016.
- 277.Tousson E, Hafez E, Zaki S, Gad A. P53, Bcl-2 and CD68 expression in response to amethopterin-induced lung injury and ameliorating role of l-carnitine. Biomedicine & Pharmacotherapy 68(5):631–9, 2014.
- 278.Kaya O, Koca YS, Barut İ, Baspinar S, Sabuncuoglu MZ. L-carnitine reduces acute lung injury in experimental biliary obstruction. Saudi Med J 36(9):1046–52, 2015.
- 279.Kawasaki M, Kuwano K, Hagimoto N, Matsuba T, Kunitake R, Tanaka T, Maeyama T, Hara N. Protection from Lethal Apoptosis in Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice by a Caspase Inhibitor. Am J Pathol 157(2):597–603, 2000.
- 280.Kerr JFR, Winterford CM, Harmon B V. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer Therapy. Cancer 73(8):2013–26, 1994.
- 281.Yalcin A, Yumrutas O, Kuloglu T, Elibol E, Parlar A, Yilmaz İ, Pehlivan M, Dogukan M, Uckardes F, Aydin H, Turk A, Uludag O, Sahin İ, Ugur K, Aydin S. Hepatoprotective properties for Salvia cryptantha extract on carbon tetrachloride-induced liver injury. Cell Mol Biol 63(12):56, 2017.
- 282.Mizuguchi S, Takemura S, Minamiyama Y, Kodai S, Tsukioka T, Inoue K. S-allyl cysteine attenuated CCl₄-induced oxidative stress and pulmonary fibrosis in rats. BioFactors 26(1):81–92, 2006.
- 283.Pääkkö P, Ala-Kokko L, Ryhänen L. A light microscopic and biochemical study of carbon tetrachloride-induced pulmonary fibrosis in rats: the preventive effect of malotilate. Eur J Clin Invest 17(4):340–6, 1987.

284. Furukawa T, Yasumoto K, Inokuchi K. Pulmonary Interstitial Edema in Experimental Cirrhosis of the Liver in Rats. *European Surgical Research* 16(6):366–71, 1984.
285. Raby KL, Michaeloudes C, Tonkin J, Chung KF, Bhavsar PK. Mechanisms of airway epithelial injury and abnormal repair in asthma and COPD. *Front Immunol* 14:1201658, 2023.
286. Alagha K, Bourdin A, Vernisse C, Garulli C, Tummino C, Charriot J, Vachier I, Suehs C, Chanez P, Gras D. Goblet cell hyperplasia as a feature of neutrophilic asthma. *Clinical & Experimental Allergy* 49(6):781–8, 2019.
287. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 4(8):118, 2010.
288. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. Protective effect of *Sonchus asper* extracts against experimentally induced lung injuries in rats: A novel study. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(7–8):725–31, 2012.
289. Khan RA. Protective effect of *Launaea procumbens* (L.) on lungs against CCl₄-induced pulmonary damages in rat. *BMC Complement Altern Med* 12:133, 2012.
290. Lin F, Chen W, Zhou J, Zhu J, Yao Q, Feng B. Mesenchymal stem cells protect against ferroptosis via exosome-mediated stabilization of SLC7A11 in acute liver injury. *Cell Death Dis* 13(3):271, 2022.
291. Bi Y, Liu S, Qin X, Abudureyimu M, Wang L, Zou R, Ajoolabady A, Zhang W, Peng H, Ren J, Zhang Y. FUNDC1 interacts with GPx4 to govern hepatic ferroptosis and fibrotic injury through a mitophagy-dependent manner. *J Adv Res* 55:45–60, 2024.
292. Han Z, Batudeligen, Chen H, Narisu, Anda, Xu Y, Xue L. Luteolin attenuates CCl₄-induced hepatic injury by inhibiting ferroptosis via SLC7A11. *BMC Complement Med Ther* 24(1):193, 2024.
293. Zhao W, Lei M, Li J, Zhang H, Zhang H, Han Y, Ba Z, Zhang M, Li D, Liu C. Yes-associated protein inhibition ameliorates liver fibrosis and acute and chronic liver failure by decreasing ferroptosis and necroptosis. *Heliyon* 9(4):e15075, 2023.
294. Gouwy M, Struyf S, Proost P, Van Damme J. Synergy in cytokine and chemokine networks amplifies the inflammatory response. *Cytokine Growth Factor Rev* 16(6):561–80, 2005.

295. Galluzzi L, Kroemer G. Necroptosis Turns TNF Lethal. *Immunity* 35(6):849–51, 2011.
296. Laskin DL, Sunil VR, Gardner CR, Laskin JD. Macrophages and Tissue Injury: Agents of Defense or Destruction? *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 51(1):267–88, 2011.
297. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. Protective effect of *Sonchus asper* extracts against experimentally induced lung injuries in rats: A novel study. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(7–8):725–31, 2012.
298. Mukhopadhyay S, Hoidal JR, Mukherjee TK. Role of TNF α in pulmonary pathophysiology. *Respir Res* 7(1):125, 2006.
299. Sun J, Wu Y, Long C, He P, Gu J, Yang L, Liang Y, Wang Y. Anthocyanins isolated from blueberry ameliorates CCl₄ induced liver fibrosis by modulation of oxidative stress, inflammation and stellate cell activation in mice. *Food and Chemical Toxicology* 120:491–9, 2018.
300. Hafez MM, Al-Harbi NO, Al-Hoshani AR, Al-Hosaini KA, Al Shrari SD, Al Rejaie SS, Sayed-Ahmed MM, Al-Shabanah OA. Hepato-protective effect of rutin via IL-6/STAT3 pathway in CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Biol Res* 48(1):30, 2015.
301. Huang X, Wang L, Meng M, Zhang S, Pham TTH, Jiang L, Chen L, Li Y, Zhou X, Qin L, Wu X, Zou C, Huang R. Extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) roots ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 121:109516, 2020.
302. Li X, Wang L, Chen C. Effects of exogenous thymosin β 4 on carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis. *Sci Rep* 7(1):5872, 2017.
303. Ramesh G, Reeves WB. Inflammatory cytokines in acute renal failure. *Kidney Int* 66:S56–61, 2004.
304. Honda T, Hirakawa Y, Nangaku M. The role of oxidative stress and hypoxia in renal disease. *Kidney Res Clin Pract* 38(4):414–26, 2019.
305. MacFarlane M, Williams AC. Apoptosis and disease: a life or death decision. *EMBO Rep* 5(7):674–8, 2004.
306. Adewole S, Salako A, Doherty O, Naicker T. Effect of melatonin on carbon tetrachloride- induced kidney injury in wistar rats. *African Journal of Biomedical Research* 10(2), 2010.

307. Brentnall M, Rodriguez-Menocal L, De Guevara RL, Cepero E, Boise LH. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC Cell Biol* 14(1):32, 2013.
308. Elsayy H, Badr GM, Sedky A, Abdallah BM, Alzahrani AM, Abdel-Moneim AM. Rutin ameliorates carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatorenal toxicity and hypogonadism in male rats. *PeerJ* 7:e7011, 2019.
309. Safhi MM. Nephroprotective Effect of Zingerone against CCl₄ -Induced Renal Toxicity in Swiss Albino Mice: Molecular Mechanism. *Oxid Med Cell Longev* 2018:1–7, 2018.
310. Manna P, Sinha M, Sil PC. Aqueous extract of *Terminalia arjuna* prevents carbon tetrachloride induced hepatic and renal disorders. *BMC Complement Altern Med* 6(1):33, 2006.
311. Ismail AFM, Salem AAM, Eassawy MMT. Modulation of gamma-irradiation and carbon tetrachloride induced oxidative stress in the brain of female rats by flaxseed oil. *J Photochem Photobiol B* 161:91–9, 2016.
312. Ismail AFM, Moawed FSM, Mohamed MA. Protective mechanism of grape seed oil on carbon tetrachloride-induced brain damage in γ -irradiated rats. *J Photochem Photobiol B* 153:317–23, 2015.
313. Miao W, Huang R, Huang X, Gao F, Leng X, Li Q. Physicochemical Properties and In Vivo Hepatoprotective Effect of Polysaccharides from Grape Pomace. *Antioxidants* 12(2):394, 2023.
314. Asikainen TM, Ahmad A, Schneider BK, Ho WB, Arend M, Brenner M, Günzler V, White CW. Stimulation of HIF-1 α , HIF-2 α , and VEGF by prolyl 4-hydroxylase inhibition in human lung endothelial and epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 38(8):1002–13, 2005.
315. Chakraborty D, Rumi MAK, Soares M. NK cells, hypoxia and trophoblast cell differentiation. *Cell Cycle* 11(13):2427–30, 2012.
316. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, Gassmann M, Lye SJ, Kuliszewski M, Post M. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGF β 3. *Journal of Clinical Investigation* 105(5):577–87, 2000.
317. Shen H, Ma Y, Qiao Y, Zhang C, Chen J, Zhang R. Application of Deferoxamine in Tissue Regeneration Attributed to Promoted Angiogenesis. *Molecules* 29(9), 2024.

318. Choi CW, Lee J, Lee HJ, Park HS, Chun YS, Kim B Il. Deferoxamine Improves Alveolar and Pulmonary Vascular Development by Upregulating Hypoxia-inducible Factor-1 α in a Rat Model of Bronchopulmonary Dysplasia. *J Korean Med Sci* 30(9):1295, 2015.
319. Hoe S, Rowley DA, Halliwell B. Reactions of ferrioxamine and desferrioxamine with the hydroxyl radical. *Chem Biol Interact* 41(1):75–81, 1982.
320. Willson RL. Free Radical Lipid Peroxidation and Cancer. London: Academic Press, 275–303 p. 1982.
321. Sinaceur J, Ribiere C, Abu-Murad C, Nordmann J, Nordmann R. Reduction in the rate of ethanol elimination in vivo by desferrioxamine and diethylenetriaminepentaacetic acid: Suggestion for involvement of hydroxyl radicals in ethanol oxidation. *Biochem Pharmacol* 32(15):2371–3, 1983.
322. Parvar M, Mehrzad J, Chaichi MJ, Hosseinkhani S, Golchoubian H. Quenching effect of deferoxamine on free radical-mediated photon production in luminol and ortho-phenanthroline-dependent chemiluminescence. *Chinese Chemical Letters* 25(4):630–4, 2014.
323. Hartley A, Davies M, Rice-Evans C. Desferrioxamine as a lipid chain-breaking antioxidant in sickle erythrocyte membranes. *FEBS Lett* 264(1):145–8, 1990.
324. Wang X, Li M, Diao K, Wang Y, Chen H, Zhao Z, Li Y, Jia X, Wang H, Zheng F, Xia Z, Han L, Zhang M. Deferoxamine attenuates visual impairment in retinal ischemia–reperfusion via inhibiting ferroptosis. *Sci Rep* 13(1):20145, 2023.
325. Zeinivand M, Nahavandi A, Zare M. Deferoxamine regulates neuroinflammation and oxidative stress in rats with diabetes-induced cognitive dysfunction. *Inflammopharmacology* 28(2):575–83, 2020.
326. Erkan ÜM, Ateş D, Öztin Öğün C, Sümer F, Gürbilek M. Effects of Deferoxamine on Tissue Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Levels in Experimental Head Trauma. *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 51(1):22–5, 2001.
327. Aalikhani M, Safdari Y, Jahanshahi M, Alikhani M, Khalili M. Comparison Between Hesperidin, Coumarin, and Deferoxamine Iron Chelation and Antioxidant Activity Against Excessive Iron in the Iron Overloaded Mice. *Front Neurosci* 15, 2022.

- 328.Liu X, Pan B, Wang X, Xu J, Wang X, Song Z, Zhang E, Wang F, Wang W. Ischemia/reperfusion-activated ferroptosis in the early stage triggers excessive inflammation to aggregate lung injury in rats. *Front Med (Lausanne)* 10, 2023.
- 329.Song WJ, Yun JH, Jeong MS, Kim KN, Shin T, Kim HC, Wie MB. Inhibitors of Lipoxygenase and Cyclooxygenase-2 Attenuate Trimethyltin-Induced Neurotoxicity through Regulating Oxidative Stress and Pro-Inflammatory Cytokines in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Brain Sci* 11(9):1116, 2021.
- 330.Lee YS, Kalimuthu K, Park YS, Luo X, Choudry MHA, Bartlett DL, Lee YJ. BAX-dependent mitochondrial pathway mediates the crosstalk between ferroptosis and apoptosis. *Apoptosis* 25(9–10):625–31, 2020.



8.EKLER

Ek 1: Türkçe Etik Kurul Onayı



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



TOPLANTI TARİHİ : 03/11/2022
TOPLANTI NO : 2022/07

- 3- Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2022-18-03/11 Protokol no'lu "Karbon Tetraklorüre Bağlı Oluşan Akciğer Hasarında Desferal'in Koruyucu Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

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

Ek 2: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 30.11.2022-242663

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Tarih : 25.11.2022
Sayı : 2022/34

ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

TOPLANTIYA KATILANLAR

Doç. Dr. Zehra SAFİ ÖZ (Enstitü Müdürü)
Dr. Öğr. Üyesi Fıruzan KÖKTÜRK (Ens.Müd.Yrd.)
Prof. Dr. Baran Can SAĞLAM (Üye)
Prof. Dr. Meltem KÜRTÜNCÜ (Üye)
Doç. Dr. Seda CENGİZ (Üye)

TOPLANTIYA KATILMAYANLAR

Doç.Dr.Tülay KUZLU AYYILDIZ (Ens.Müd.Yrd.)(Görevli)

Enstitü Yönetim Kurulu çoğunluğu sağlanarak Enstitü Müdürü Doç. Dr. Zehra SAFİ ÖZ başkanlığında 25.11.2022 tarihinde saat 10:00'da aşağıdaki gündem maddelerini görüşmek üzere toplandı.

MADDE 08

**Hatice Nur
AKILLI**
Tez Konusunun
Kabulü

Enstitümüz Histoloji ve Embriyoloji Enstitü Anabilim Dalı Başkanlığının 15.11.2022 tarih, 2512 sayılı "Yüksek Lisans Tez Başvuru Bildirim Formu" (Form:F10) okundu.

Histoloji ve Embriyoloji Enstitü Anabilim Dalı Başkanlığı'nın ve ZBEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun teklifleri doğrultusunda, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı 215283112002 numaralı öğrencisi Hatice Nur AKILLI'nın tez konusunun, "Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği"nin 8. maddesinin 1. fıkrası gereğince "**Karbon Tetraklorüre Bağlı Oluşan Akciğer Hasarında Desferal'in Koruyucu Etkisi**" olarak kabul edilmesine oy birliği ile karar verildi.



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

9. ÖZGEÇMİŞ

2016 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Genetik lisans bölümünü kazandım. 4 sene süren eğitimimin sonunda 2020 yılında mezun oldum. 2021 yılının güz yarıyılında başladığım Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'nde Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki yüksek lisans eğitimime hala devam etmekteyim.

