

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKUT SÜREKLİ HIPOKSİ ŞİDDETİNE BAĞLI  
G-PROTEİN RESEPTÖR AKTİVASYONUNUN SIÇAN  
NTS VE FRENİK MOTOR NÖRONLARINDA  
İNCELENMESİ**

**Hazırlayan  
Büşra TAHTASAKAL**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ekim 2022  
KAYSERİ**



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKUT SÜREKLİ HIPOKSİ ŞİDDETİNE BAĞLI**  
**G-PROTEİN RESEPTÖR AKTİVASYONUNUN SIÇAN**  
**NTS VE FRENİK MOTOR NÖRONLARINDA**  
**İNCELENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Hazırlayan**  
**Büşra TAHTASAKAL**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN**

**Bu tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**  
**Tarafından TYL-2021-11226 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ekim 2022**  
**KAYSERİ**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

**Adı-Soyadı** : **Büşra TAHTASAKAL**

**İmza** :

## **YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI**

**“Akut Sürekli Hipoksi Şiddetine Bağlı G-Protein Reseptör Aktivasyonunun Sıçan NTS ve Frenik Motor Nöronlarında İncelenmesi”** adlı **Yüksek Lisans Tezi** Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tezi Hazırlayan**

**Büşra TAHTASAKAL**

**Danışman**

**Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN**

**Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

**Prof. Dr. Nurcan DURSUN**

## KABUL ONAY SAYFASI

**Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN** danışmanlığında **Büşra TAHTASAKAL** tarafından hazırlanan “**Akut Sürekli Hipoksi Şiddetine Bağlı G-Protein Reseptör Aktivasyonunun Sıçan NTS ve Frenik Motor Nöronlarında İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Anabilim Dalı **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

21/10/2022

### JÜRİ

### İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Burak TAN .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi. Ferhat PEKTAŞ .....

### ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..../...../2022

**Prof. Dr. Bilal AKYÜZ**  
**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Akademik hayatımda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her konuda yardımcı olan sayın danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN'a;

Benim her koşulda yanımda olan hayat arkadaşım, sevgili eşim Fatih TAHTASAKAL'a ve canım kızım Asel'e;

Destekleriyle her zaman yanımda olan, beni en güzel şekilde yetiştiren, her zaman başaracağıma inanan başta annem Demet GENÇMAZLUM ve babam Ahmet GENÇMAZLUM olmak üzere bütün sevgili kocaman aileme;

Akademik hayata başlamama sebep olan canım ablam Hediye YORULMAZ'a,

Laboratuvarında çalışmayı ve bilgi tartışmayı eğlenceli hale getiren sevgili ekip arkadaşlarıma;

Tez çalışmamda kapısını her zaman açık tutan Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi kurumuna ve sayın müdürümüz Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL'a;

Tez çalışmamda malzeme konusunda desteğini esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

En içten duygularla teşekkür ederim.

Büşra TAHTASAKAL

KAYSERİ, Ekim 2022

# AKUT SÜREKLİ HIPOKSİ ŞİDDETİNE BAĞLI G-PROTEİN RESEPTÖR AKTİVASYONUNUN SIÇAN NTS VE FRENİK MOTOR NÖRONLARINDA İNCELENMESİ

Büşra TAHTASAKAL

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ekim 2022

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN

## ÖZET

Hipoksik ventilatuar yanıt (HVR), hipoksik maruziyetin modeline, süresine ve yoğunluğuna bağlı olarak değişen birkaç farklı mekanizma arasındaki karmaşık bir etkileşimdir. HVR'deki değişime neden olabilecek faktörlerden birinin de G-protein bağlı reseptörler olabileceği düşünülmektedir. Gq ve Gs olarak ayrılan sırasıyla serotonin ve adenosin bağımlı bu iki hücre içi reseptörün aktive olması hücre içi sinyal yolağında da farklı proteinlerin sentezlenmesine yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı farklı hipoksik şiddetlerde akut sürekli hipoksiye maruz kalındıktan sonra oluşan hipoksik ventilatuar yanıtın adenosin molekülüne bağımlılığını araştırmaktır. Şiddetli ve orta şiddetli hipoksi uygulanan sıçanlarda, akut sürekli hipoksi sonrasında hipoksik şiddete bağlı olarak değişen HVR'deki artışın Gs yolağına bağımlı olacağı hipotez olarak sunulmuştur. Çalışma kapsamında iki ana grup oluşturulmuş ve her grup dört alt gruba ayrılarak toplamda 80 adet, yetişkin erkek, 2 aylık Sprague Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Deniz seviyesine göre normoksik (%21), orta şiddetli akut sürekli hipoksi grubu (%13), şiddetli akut sürekli hipoksi grubu (%10) O<sub>2</sub> inspirasyonuna maruz bırakılmıştır. BDNF, pAkt ve pERK hücre içi sinyal kaskadında yer alan proteinlerin NTS ve pMN üzerinde immunofloresan yöntem ile lokalizasyon ve miktar tayini yapılmıştır. Çekilen görüntülerde nöronlardaki floresan yoğunluğu kullanılmak suretiyle Image J (FIJI; software v. 2.0.0) programında analiz edilmiştir. İki farklı hipoksik şiddete maruz bırakılan sıçanlarda adenosin agonisti enjekte edilen gruplarda ventilasyonda anlamlı bir artış gözlenmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda HVR'deki artışın Gs yolağıyla ilişkili olduğunu gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Akut Hipoksik Ventilatuar Yanıt; Akut Sürekli Hipoksi; Frenik Motor Nöron; G-protein Bağlı Reseptör; Nükleus Traktus Solitarius (NTS).

**INVESTIGATION OF G-PROTEIN COUPLED RECEPTOR ACTIVATION  
DEPENDS ON SEVERITY OF ACUTE SUSTAINED HYPOXIA ON NTS  
AND PHRENIC MOTOR NEURONS IN RATS**

**Büşra TAHTASAKAL**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences**

**Department of Medical Physiology**

**Master Thesis, December 2022**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kemal Erdem BAŞARAN**

**ABSTRACT**

The hypoxic ventilatory response (HVR) is a complex interaction between several different mechanisms that can change depending on the pattern, duration and intensity of hypoxic exposure. It is thought that one of the factors that can cause the change in HVR may be G-protein coupled receptors. Activation of these two intracellular receptors which depend on serotonin and adenosine, respectively, which are separated as Gq and Gs, leads to the synthesis of different proteins in the intracellular signaling pathway. The purpose of this study is to investigate the dependence of the hypoxic ventilatory response on the adenosine molecule after exposure to acute sustained hypoxia of different hypoxic intensities. It has been hypothesized that the increase in HVR, which varies depending on hypoxic severity after acute sustained hypoxia, will be dependent on the Gs pathway in rats subjected to severe and moderate hypoxia. Within the scope of the study, two main groups were formed and each group was divided into four subgroups and a total of 80 adult male, 2-month-old Spraque Dawley rats were used. The normoxic at sea level (21%), moderate acute continuous hypoxia group (13%), and severe acute sustained hypoxia group (10%) were exposed to O<sub>2</sub> inspiration. Localization and quantification of proteins involved in the intracellular signal cascade of BDNF, pAkt and pERK were performed on NTS and pMN by immunofluorescence method. Captured images were analyzed in Image J (FIJI; software v. 2.0.0) using the fluorescence intensity of neurons. A significant increase in ventilation was observed in the adenosine agonist injected groups in rats exposed to two different hypoxic intensities image analyzes were performed by immune fluorescence method.

**Key Words:** Acute Hypoxic Ventilatory Response; Acute Sustained Hypoxia; G-Protein Coupled Receptor; NTS; Phrenic Motor Neuron.

# İÇİNDEKİLER

**Sayfa No:**

İÇ KAPAK .....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI .....	ii
KABUL ONAY SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	ix
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Akut Sürekli Hipokside Zaman Alanları .....	5
2.1.1. Akut Hipoksik Ventilatuvar Cevap .....	5
2.1.2. Kısa-Süre Potansiyalizasyonu .....	9
2.1.3. Kısa Süreli Depresyon .....	11
2.1.4. Hipoksik Ventilatuvar Düşüş .....	13
2.2. Gq ve Gs protein Reseptör Sinyal Yolakları.....	16
2.3. Adenozin ve Adenozin Reseptör Tipleri .....	19
2.4. Adenozin Antagonisti (MSX-3) ve Agonisti (CGS21680).....	24
3. GEREÇLER VE YÖNTEM.....	25
4. BULGULAR .....	35
4.1. Akut Hipoksik Ventilatuvar Cevap .....	35
4.1.1. Orta Şiddetli Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevap .....	35
4.1.2. Şiddetli Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevap .....	36
4.1.3. Hipoksik Şiddete Bağımlı Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevapların Karşılaştırması .....	37
4.2. NTS'nin IF görüntüleri .....	39
4.3. NTS'nin IF Merge Görüntüleri .....	43
4.4. NTS İçin İstatistik Bulgular .....	47

4.5. Frenik Motor Nöronun IF Görüntüleri .....	49
4.6. Frenik Motor Nöronun IF Merge Görüntüleri .....	51
4.7. Frenik Motor Nöron İçin İstatistik Bulguları .....	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	59
6.KAYNAKLAR .....	64
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>5-HT</b>	: Serotonin
<b>AIH</b>	: Akut aralıklı hipoksi
<b>ALS</b>	: Amyotrofik lateral skleroz
<b>AMS</b>	: Akut dağ hastalığı
<b>AR</b>	: Adenozin Reseptörleri
<b>ASH</b>	: Akut sürekli hipoksi
<b>ATP</b>	: Adenozin-trifosfat
<b>BDNF</b>	: Beyinden salgılanan nörotrofik faktör
<b>CGS21680</b>	: A2A adenozin reseptörü agonisti
<b>CNS</b>	: Santral sinir sistemi
<b>DA</b>	: Dopamin
<b>DAPI</b>	: 4,6-diamidine-2'-phenylindole
<b>DMSO</b>	: Dimethyl sulfoxide
<b>Epo</b>	: Eritropoietin
<b>fR</b>	: Solunum frekansı
<b>GABA</b>	: $\gamma$ -amino bütirik asit
<b>HACE</b>	: Yüksek irtifa serebral ödem
<b>HAPE</b>	: Yüksek irtifa pulmoner ödem
<b>HSD</b>	: Hipoksik solunum depresyonu
<b>HVD</b>	: Hipoksik ventilatuar düşüş
<b>HVR</b>	: Hipoksik ventilatuar cevabı
<b>i.p</b>	: İntraperitonel
<b>i.pl</b>	: İntrapleural
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>MS</b>	: Multiple skleroz
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi
<b>MSX-3</b>	: Esterdisodyum tuzu
<b>NMDAR</b>	: Glutamaterjik N-metil-d-aspartat reseptör
<b>NTS</b>	: Nükleus traktus solitarius
<b>pAKT</b>	: Protein kinaz B
<b>PaO<sub>2</sub></b>	: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı

<b>PBS</b>	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
<b>pERK</b>	: Hücre dışı düzenleyici kinaz
<b>PKA</b>	: Protein kinaz A
<b>PKC</b>	: Protein kinaz C
<b>pLTF</b>	: Frenik uzun süreli fasilitasyon
<b>pMN</b>	: Frenik motor nöron
<b>SP</b>	: Karotis cisim
<b>STD</b>	: Kısa Süreli Depresyon
<b>STP</b>	: Kısa-Süre Potansiyalizasyonu
<b>V</b>	: Ventilasyon
<b>VLM</b>	: Ventrolateral medulla
<b>vLTF</b>	: Ventilatuvar uzun süreli fasilitasyon
<b>V<sub>T</sub></b>	: Tidal volüm
<b>WBP</b>	: Bütün vücut pletismograf

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No:

<b>Tablo 3.1.</b>	Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Deney Grubu .....	25
<b>Tablo 3.2.</b>	Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Deney Grubu .....	26
<b>Şekil 2.1.</b>	HVR'nin zaman alanları.....	7
<b>Şekil 2.2.</b>	Akut HVR'nin moleküler mekanizmaları. ....	8
<b>Şekil 2.3.</b>	STP'nin moleküler mekanizmaları .....	10
<b>Şekil 2.4.</b>	STD'nin moleküler mekanizmaları.....	13
<b>Şekil 2.5.</b>	Hipoksi Tetikli Plastisitenin Hücresel ve Sinaptik Mekanizmaları .....	17
<b>Şekil 2.6.</b>	Adenozin reseptörlerinin dört alt tipi ve bunların hücre içi sinyalleri ..	22
<b>Şekil 2.7.</b>	A1, A2A, A2B ve A3 adenozin reseptörleriyle (AR'ler) etkileşim yoluyla adenozinin fizyolojik rolü .....	23
<b>Şekil 3.1.</b>	Ventilasyon ölçümlerinin yapılacağı bütün vücut pletismografi (WBP) sistemi. ....	29
<b>Şekil 3.2.</b>	Ventilasyon ölçümlerinin anlık kayıt görüntüsü. ....	29
<b>Şekil 3.3.</b>	Doku preparatları bir mantar parçasına otutturularak doku yapıştırıcı O.C.T. Compound ile dondurulma işlemi. ....	30
<b>Şekil 3.4.</b>	Donduruculu karyostat kullanılarak -20°C derecede 20 µm kalınlığında transvers kesitler alınma işlemi.....	31
<b>Şekil 3.5.</b>	Yıkama öncesinde primer slayt üzerindeki doku kesiti görüntüsü. ....	33
<b>Şekil 3.6.</b>	Spektral dekonvolüsyon floresan mikroskopu kullanılarak 10x ve 20x büyütme ile kesit üzerinde NTS ve frenik motor nöron görüntüleme işlemi. ....	34
<b>Şekil 4.1.</b>	Orta şiddetli akut sürekli hipoksi (mASH) grubuna ait alt grupların WBP tekrarlayan ölçümleri .....	36
<b>Şekil 4.2.</b>	Şiddetli akut sürekli hipoksi (sASH) grubuna ait alt grupların WBP tekrarlayan ölçümleri. ....	37
<b>Şekil 4.3.</b>	Akut sürekli hipoksi gruplarının akut hipoksik şiddete bağımlı WBP tekrarlayan ölçümlerinin karşılaştırması .....	38
<b>Şekil 4.4.</b>	mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS görüntüleri ....	39
<b>Şekil 4.5.</b>	mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS görüntüleri.....	40

<b>Şekil 4.6.</b>	sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS görüntüleri .....	41
<b>Şekil 4.7.</b>	sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS görüntüleri .....	42
<b>Şekil 4.8.</b>	mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri.....	43
<b>Şekil 4.9.</b>	mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri.....	44
<b>Şekil 4.10.</b>	sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri.....	45
<b>Şekil 4.11.</b>	sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri.....	46
<b>Şekil 4.12.</b>	NTS İçin İstatistik Bulguları .....	47
Şekil tablosu ögesi bulunamadı.		
<b>Şekil 4.21.</b>	..... Frenik Motor Nöron (pMN) İçin İstatistik Bulguları .....	57

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hipoksik ventilasyon yanıt (HVR), hipoksik maruziyetin modeli, süresine ve yoğunluğuna bağlı olarak değişen birkaç farklı mekanizma arasındaki karmaşık bir etkileşimdir. Bu etkileşimler, ventilasyonun azaltılmasını veya artmasını etkiler ve büyük oranda farklı fizyolojik yanıtlarla sonuçlanır. Farklı hipoksik uyarılar, indüklenen zamana bağlı olan mekanizmaları oldukça farklı hale getirir (Pamenter ve Powell, 2016). Bu nedenle HVR' nin farklı zaman alanlarını etkin hale getirir (Pamenter ve Powell, 2016). Ayrıca uyarılara bağlı olarak, karşıt, ilave veya sinerjik etkilere sahip birden çok mekanizma ele alınabilir. Mekanizmalar, etkileşimleri ve nihai bir fizyolojik solunum fenotipi ile sonuçlanan birkaç temel yolun aktivasyonunu veya inhibisyonunu içerir. Sonuç olarak, hipoksik maruz kalma sürelerinde veya aralıklarında küçük değişiklikler, uyarana verilen fizyolojik yanıtı büyük ölçüde değiştirebilir. Fizyolojik sonuç, solunum devrelerinin kimyasal sinapslarının gücünü değiştiren uzun vadeli etkileri ya da sinaptik aktiviteyi geçici olarak değiştiren kısa vadeli etkileri kapsayabilir. Böylece HVR'nin belli zaman alanı, sonrasındaki ventilasyon sonuçlarını etkileyebilmektedir (Pamenter ve Powell, 2016). Akut hipoksi, solunumsal motor aktiviteyi asemptomatik olarak arttırır. Uzun süreli akut (orta dereceli) hipoksi, arteriyel oksijen basıncının 40-50 Torr olduğu 20 veya 30 dakikalık hipoksi çeşitidir. Uzun süreli akut hipoksiye ilişkin ilk araştırmalar yeni doğmuş hayvanlarda test edilmiştir. Deneklerin yaşamın ilk zamanlarında uzun süreli akut hipoksiye solunumsal cevabın bifazik karakterli olduğu saptanmış, daha sonra bifazik cevabın erişkinlerde de görüldüğü gösterilmiştir. İlk 5 dakikanın sonrasında ventilasyon artışı yavaş yavaş azalmaya başlar. Bunun sonucunda dakika ventilasyon yeni bir sabit durum oluşturur. Bu zaman alanını akut hipoksik solunum depresyonu (HSD) olarak isimlendirilmiştir. Depresyon durumunda iken ventilasyon,

hipoksi öncesindeki normoksik değerle kıyaslandığında bu değere yakın veya bu değerden düşük olduğu gözlenir. Genellikle soluk hacmindeki azalmaya bağlı olarak hipoksik solunum depresyonu oluşur. Hipoksiye akut yanıt, bir hipoksik uyarının başlangıcını takiben ventilasyon aktivitesinin ani bir artmasıdır. Genelde, başlangıca göre; solunum frekansındaki ( $fR$ ) ve tidal volümdeki ( $V_T$ ) artışları içerir (Powell ve ark., 1998).

Günümüze kadar incelenen birçok hayvan, parsiyel arteriyel oksijen basıncının ( $PaO_2$ ) azaltmanın bir fonksiyonu olarak ventilasyonda böyle bir hiperbolik bir artma göstermiştir (Pamenter ve Powell, 2016). Ayrıca,  $V_T$ 'ye karşı  $fR$ 'deki esas farklılıklar türler arasında büyük oranda değişkenlik gösterir (Pamenter ve Powell, 2016). Akut HVR, herhangi bir hipoksik stimülasyon süresince devam etmekle beraber hipoksinin sona erdirilmesiyle ortadan kalkar. Yani karotis gövdesinde arteriyel oksijen saturasyonu ( $PaO_2$ ) 'nda bir değişikliğin tespit edilmesinin ardından bir nefeste başlar ve biter (Pamenter ve Powell, 2016). Bir diğer deyişle, akut HVR plastisite sergilemez (Pamenter ve Powell, 2016). Akut HVR' yi ölçmek için yapılan pek çok deney muhtemel kısa süre potansiyalizasyonu (STP) veya hipoksik ventilasyon düşüşünün (HVD) bileşenlerini barındırmaktadır (Pamenter ve Powell, 2016). Bunun nedeni, bu erken zaman alanlarının tipik olarak hipoksi başladıktan sonraki birkaç dakika içinde ortaya çıkması ve maruz kalmanın ilk birkaç dakikasında ventilasyon yanıtlarının doğru kayıtlara dönüşmesi için  $O_2$  gerilimlerini yeterince hızlı bir şekilde değiştirmenin deneysel olarak zor olmasıdır. Akut HVR periferik arteriyel kemoreseptörlerden gelen duyuşal girdiye klasik refleks bir tepkidir. Karotis cisimleri, insanlarda ve çoğu hayvanda akut HVR için en önemli arteriyel kemoreseptördür. Bunların yeterli ve fizyolojik uyarını  $PaO_2$ 'dir (Pamenter ve Powell, 2016). Karotis cisim afferentleri, glossofaringeal sinirin bir dalı olan karotis sinüs sinirinde dolaşırlar ve merkezi sinir sistemindeki birincil sinapsları, glutamatın birincil uyarıcı nörotransmitter olduğu nükleus tractus solitarii (soliter yolun çekirdeği; NTS)'dedir (Powell ve ark., 1998).

Serotonin (5-HT), kısa süreli hipoksi sırasında meydana gelen ve saniyelerden dakikalara kadar süren  $fR$ 'de geçici bir aşımını takiben  $fR$ 'de bir azalma kısa süreli depresyon (STD) oluşumunu ortaya çıkarmak için 5-HT<sub>2A/C</sub> reseptörlerinin

antagonizması STD' yi artırdığından ve 5-HT1A reseptörlerinin antagonizmasının STD'ye dahil olduğu görülmektedir. 5-HT2AR'den bağımsız olarak adenosin 2A (A2AR) ve serotonin 7 (5-HT7R)) reseptörleri aktivasyonu başka sinyal yolağı belirtilmiştir. Metabotropik reseptör çifti Gs protein bağlantılı olan A2AR ve 5-HT7R' leri kapsadığı için bu yolağı "S yolağı" ismi verilmiştir. Bu çalışmamızda, akut sürekli hipoksiye (ASH) maruz bırakılan sıçanlarda hipoksik şiddete bağı olarak değişen HVR' deki artışın Gs yolağına bağımlı olacağı hipotez olarak sunulmuştur. Akut sürekli hipoksi sırasında oluşan ventilasyon yanıtlar, yetişkin hayvanlarda hipoksemi 5 ila 30 dakika sürdürüldüğünde akut HVR seviyesinde ventilasyondaki azalmayı (HVD) içerir (Pamenter ve Powell, 2016).

Bu projenin genel amacı; farklı hipoksik şiddetlerde akut sürekli hipoksiye maruz kalındıktan sonra solunumdan sorumlu olan reflekslerin moleküler ve hücresel sinyal mekanizmalarının karşılaştırılması ve oluşan farklı hipoksik ventilatuar yanıtın (HVR) benzerlikleri ve farklılıklarını ortaya çıkarmaktır. Üzerinde çalışılacak olan bu sinyal yolağı daha önce anestezi altında, akut aralıklı hipoksiye (AIH) maruzbırakılan sıçanlarda, orta derecede ve şiddetli hipoksi seviyelerde frenik sinir aktivitesi yanıtı ölçülmüş ve frenik uzun süreli fasilitasyon (pLTF) oluşumunu göstermek için çalışılmıştır. Bundan farklı olarak bu araştırmada uygulanan hipoksi protokolü ve deney modeli; yüksek irtifa serebral ödem (HACE), akut dağ hastalığı (AMS), yüksek irtifa pulmoner ödem (HAPE) gibi bazı hastalıkları, solunan havada bulunan gaz fraksiyon değişimlerinin taklit edilmesi açısından klinik anlamda da önemli olmaktadır. Ayrıca bazı nörolojik hastalıklarda (amyotrofik lateral skleroz; ALS, multiple skleroz; MS gibi) veya spinal kord yaralanması / zedelenmesinde görülen motor sinir fonksiyon kayıplarına neden olan sebeplerin araştırılmasına da katkı sağlayacaktır.

Buna bağı olarak bu çalışmanın iki alt spesifik amacı vardır.

1. Farklı şiddetlerde akut sürekli hipoksiye maruz bırakılmış, anestezi edilmemiş ve serbest hareket eden sıçanlarda frenik sinir sinapları üzerinde çalışılan moleküler sinyal mekanizmasında bulunan yolağın farklılık ve benzerliğini göstermektedir.

2. Medulla üzerindeki nükleus traktus solitarius (NTS) ve spinal kord C3-C5 aralığında bulunan kesitler (frenik sinir) üzerinde G-protein bağı reseptör aktivasyonu ile başlatılan beyinden salgılanan nörotrofik faktör (BDNF), hücre dışı düzenleyici kinaz (pERK) ve protein kinaz B (pAKT) lokalizasyonu ve miktarındaki değişimleri karşılaştırmaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Akut Sürekli Hipokside Zaman Alanları

#### 2.1.1. Akut Hipoksik Ventilatuvar Cevap

Hipoksiye akut cevap, bir hipoksik uyarının başlangıcını takiben ventilatuvar aktivitedeki ani bir artıştır. Genel olarak bazale göre  $fR$  ve  $V_T$ 'deki artmaları kapsamaktadır (Powell ve ark., 1998).

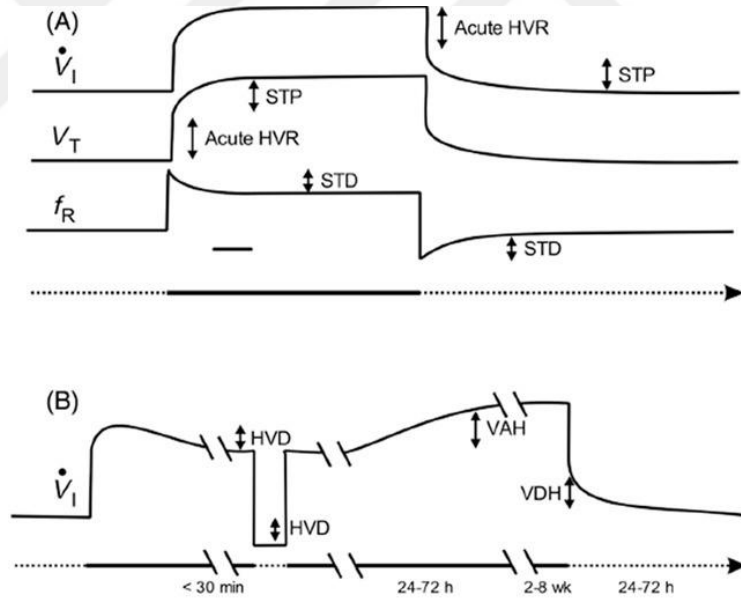
Ventilasyon cevapları hipoksiye ne kadar maruz kaldığına göre değişmektedir (Yu ve ark., 2022). Şimdiye kadar araştırma yapılan kadar neredeyse tüm hayvanlarda, azalan  $PaO_2$ 'nin bir işlevi olarak ventilasyonda hiperbolik bir artma izlenmiştir. Ancak  $V_T$  ve  $fR$ 'deki esas değişmeler türler arasında farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Powell ve ark., 1998). Akut Hipoksik Ventilasyon Tepkisi, solunumun ani artması olarak kendini gösterir (Mitchell ve ark., 2001). Akut HVR, herhangi bir hipoksik stimülasyon boyunca devam eder ve hipoksinin giderilmesinden hemen sonra sona erer, yani karotis gövdesinde  $PaO_2$ 'de bir değişiklik tespit edildikten sonra bir nefes içinde başlar ve biter (Powell ve ark., 1998). Bu sebeple akut HVR'de plastisite gözlenmediği söylenebilir. Standart pletismografi yaklaşımları uygulandığı takdirde, hayvan chamberındaki hipoksik gaz karışımıyla normoksik gaz karışımlarını temizlemek için birkaç dakika gerekebilir. Araştırmacılar, kararlı durumdaki ilk solunum ölçümlerini akut yanıt olarak isimlendirilebilir (Powell ve ark., 1998). Hipoksiye verilen akut solunumsal yanıtın nörobiyolojik mekanizmaları hakkında bildiklerimizin çoğu karotis cisim çalışmalarına dayanmaktadır (Powell, 2007). Karotis cisim (SP) birincil hipoksik kemosensör organdır (Balbir ve ark., 2006). Aynı zamanda cisimlerin yeterli ve

fizyolojik uyarını  $PaO_2$ 'dir. Karotis cismin gelişmiş hipoksik duyarlılığı, hipoksiye uğrayan yeni doğmuş sıçan yavrularında arttırılmış HVR' ye yansıdığı gözlemlenmiştir (Kumar, 2014). Karotis cisimlerinin afferentleri glossofaringeal sinirin bir dalı olan karotis sinüs siniri boyunca ilerler ve CNS'deki birincil sinapsları, glutamatın primer eksitator nörotransmitter olduğu, nukleus traktus solitariustadır (NTS). Bu yolaktaki glutamerjik sinyalizasyonun kanıtı özellikle ilgi çekicidir. Hem hipoksik bir uyarana yanıt olarak glutamat salınımı hem de akut HVR, karotis cisimi denervasyonu ile ortadan kaldırılır (Pamenter ve Powell, 2016). Ayrıca, glutamaterjik N-metil-d-aspartat reseptör (NMDAR) antagonistlerinin NTS mikroenjeksiyonu veya sistemik enjeksiyonu, çeşitli türlerde akut HVR'yi zayıflatır ve NTS'ye mikroenjeksiyonu yapılan NMDAR ve non-NMDAR blokörlerinin kokteyli karotis cisim kemoreseptör stimülasyonuna karşı oluşan ventilatuar ve kardiyak cevapları tamamıyla bloke eder. Bu veriler, akut HVR'yi düzenleyen yolaktaki karotis cisim ve NTS arasında artmış eksitatuvar glutamerjik sinyalizasyonun merkezi bir role sahip olduğunu kuvvetli bir şekilde destekler.

Glutamatın aracılık ettiği baştan sona eksitatuvar yanıtlara ek olarak, akut hipoksiye karşı verilen sinaptik yanıtlara, afferent girdideki değişikliklere verilen ventilasyon yanıtının, uyarının meydana geldiği solunum döngüsünün fazına bağlı olarak değişeceği fark edilmiştir (Pamenter ve Powell, 2016). Böyle bir geçitlemenin, kısa bir hipoksik epizod sırasında glutamat salınımının aracılık ettiği eksitatuvar sinaptik girdilere karşı çıkan inhibe edici nörotransmisyon mekanizmalarının aktivitesini temsil ettiği varsayılmaktadır. Aslında, birkaç inhibitör nörotransmitter karotis cisim (SP) afferentlerinden veya diğer ara sinaptik girdilerden salınır ve HVR'nin farklı zaman alanlarında rol almaktadır (Pamenter ve Powell, 2016). SP için nörokinin 1 reseptörleri NTS'deki respiratuar nöronlarda mevcuttur ve SP'nin mikroiyontoforetik uygulaması NTS'deki respiratuar nöronları uyarır. Bunun yanında SP'nin intraserebroventriküler enjeksiyonları  $V_T$ 'de artış gösterir. Anestezi altındaki ratlarda ventilasyonu stimüle eder. Aynı şekilde dopamin (DA) refleksinin hem karotis cisim hem santral sinir sistemi (CNS) devrelerine dahil olarak HVR'de ikili role sahiptir (Pamenter ve Powell, 2016). Karotis cismindeki DA reseptörlerinin antagonizması, nöral aktiviteyi ve ventilasyonu uyarır ve akut HVR'yi artırır (Pamenter ve Powell, 2016).

Son olarak, daha yeni çalışmalar, akut HVR'ye aracılık etmede NTS'de purinerjik reseptörler üzerinde etkili olan adenosin-trifosfat (ATP) 'ın önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bunu destekler nitelikte, purinerjik reseptörleri, NTS ve ventrolateral medulla (VLM) dahil olmak üzere solunum motor kontrolünde yer alan medüller bölgelerde karotis cismi afferent nöronlarıyla birlikte lokalize olur.

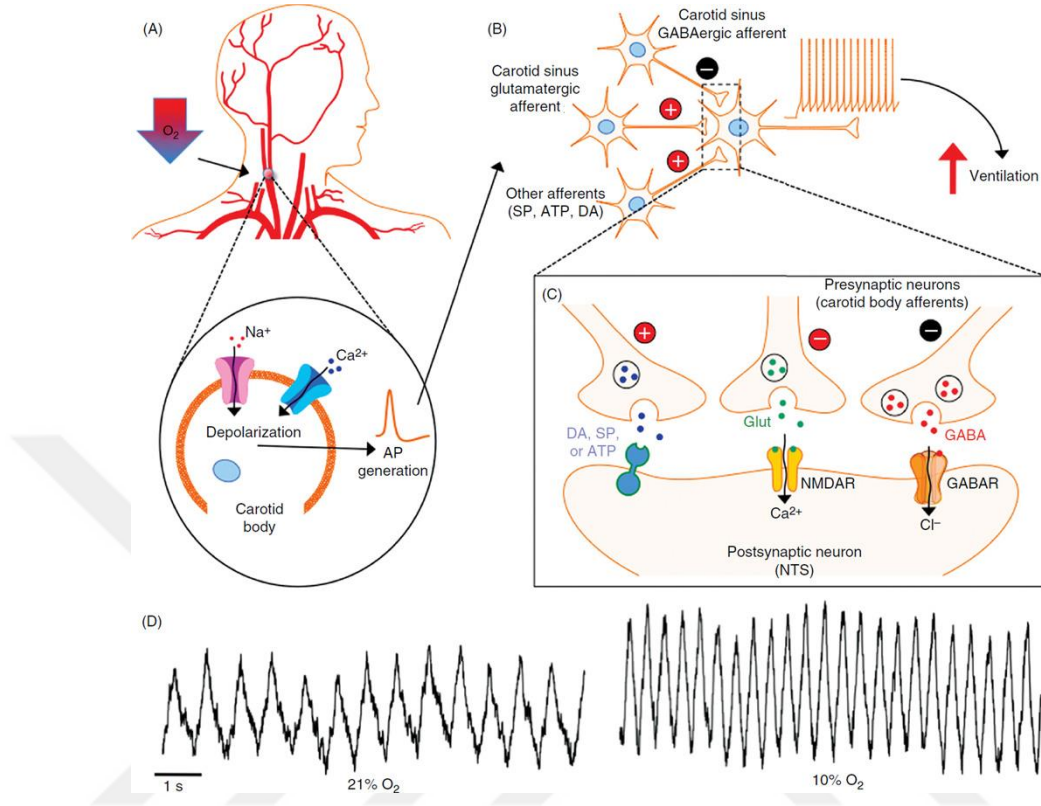
Özetleyecek olursak, deneyler akut HVR'nin birden fazla faktöre bağlı olduğunu göstermektedir. Kemosensitif glomus hücreleri ve glossofaringeal sinir uçları üzerine etkileyen birden fazla nörotransmitterin ve nöromodülörün dahil olduğu karotis sinüs sinirindeki afferent trafiğin net seviyesine, ATP tarafından nöromodulasyona tabi olan NTS'deki karotis sinüs sinirinden çıkan primer sinapstaki eksitatuvar glutamerjik nörotransmisyonu, diğer solunum merkezlerinden gelen bilgilerin ve CNS'deki girdilerin entegrasyonuna ve ventilasyon ve üst hava yolu kaslarına giden motor yolların aktivasyonuna bağlıdır.



**Şekil 2.1.** HVR'nin zaman alanları (Pamenter ve Powell, 2016).

Şekil 2.1'de gösterilen HVR'nin zaman alanları sırasında zamanın fonksiyonlarından ventilasyondaki (V), tidal volümdeki ( $V_T$ ) ve solunum frekansındaki ( $f_R$ ) değişiklikler gösterilmiştir (Pamenter ve Powell, 2016). (A) Akut HVR'yi kısa (saniye ila dakika) hipoksik maruziyetler sırasında STP ve STD takip eder. (B)

Sürekli (dakikalar ila günler arası) hipoksik maruziyetler sırasında ve sonrasında solunum tepkileri HVD, VAH ve VDH'yi içerir (Pamenter ve Powell, 2016).



**Şekil 2.2.** Akut HVR'nin moleküler mekanizmaları (Pamenter ve Powell, 2016).

Şekil 2.2'de gösterilen akut HVR'nin moleküler mekanizmaları, saniyeler ile dakikalar arasındaki akut hipoksi, hipoksik uyarın sırasında ventilasyonun artmasına neden olur. (A) Kısa süreli hipoksidede azalmış PaO<sub>2</sub>, periferik kemoreseptörlerle (karotis cisimleri) algılanır. Hipoksi aracılı uyarıcı iyon (Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>+2</sup>) akışı karotis cisimlerinin depolarizasyonunu indükler, bu da daha sonra karotis sinüs siniri boyunca yayılan aksiyon potansiyellerinin oluşumuna yol açar (Pamenter ve Powell, 2016). (B) Uyarıcı glutamaterjik karotis cisim afferent nöronları, SP ve inhibitör GABAerjik nöronlar ile birlikte NTS'de sinaps yapar. Bu karşıt sinyallerin toplamı net uyarıcı ise, solunum motor nöronlarıyla iletişim kuran ve frenik sinirin uyarılması yoluyla ventilasyonu artıran NTS nöronlarında aksiyon potansiyelleri üretilir. (C) Karotis sinüs siniri afferent nöronları ve NTS arasındaki sinapta, SP, glutamat ve GABA'nın sinaptik öncesi salınımı, NTS postsinaptik ikinci sıra nöronların uyarılabilirliği üzerinde karşıt etkilere neden olur ve aşağı akış solunumunu artıran

uyarıcı sinyal yayılımını indükler (Powell ve ark., 1998). (D) Bu artan dürtü, ventilasyonda bir artış olarak kendini gösterir.

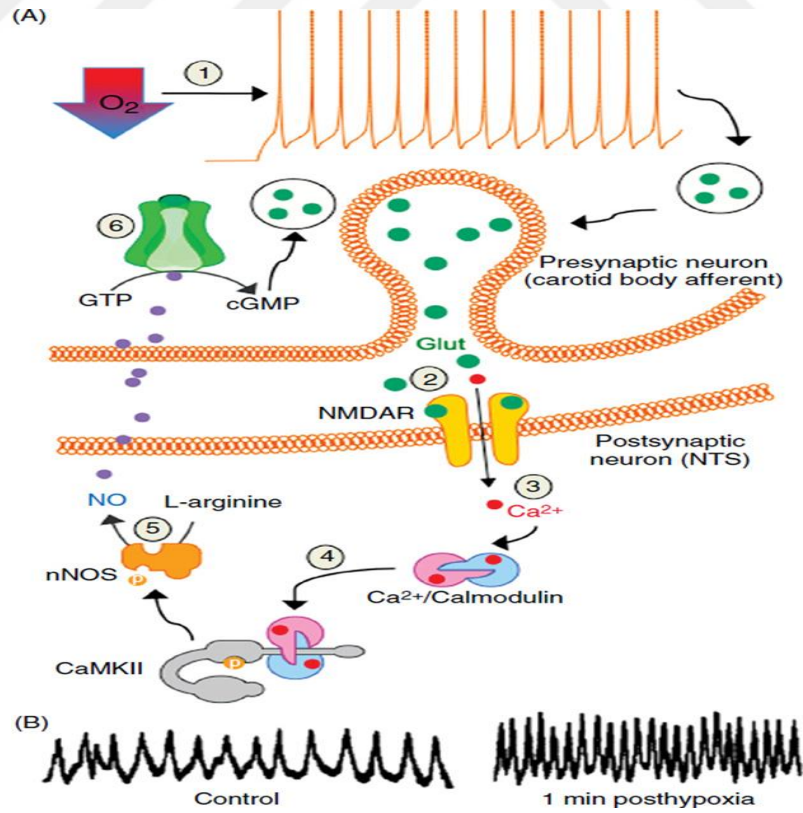
### 2.1.2. Kısa-Süre Potansiyalizasyonu

Birkaç saniyeden altmış saniyeye kadar olan hipoksi maruziyetiyle, akut HVR'nin eşlik ettiği değişikliklerin ötesinde ventilasyonu arttıran ikincil bir solunum artışı bulunmaktadır. Bahsi geçen ikincil yanıt, STP olarak isimlendirilir (Pamenter ve Powell, 2016). Benzer şekilde, hipoksik bir uyarının sona ermesi üzerine, ventilasyon yavaşça başlangıç seviyelerine dönmeden önce 1 ila 2 dakika yüksek kalır. Hipoksik uyarının dengelenmesini izleyen bu ventilatuar güçlendirme dönemi, STP'nin başka bir tezahürüdür. Bunlar, aynı mekanizmanın "açık ve kapalı" yönlerini temsil edebilir (Powell ve ark., 1998). Bugüne kadar STP denerve kedilerde, köpeklerde, tavşanlarda ve sıçanlarda uyanık, uyuyan ve egzersiz yapan insanlarda ve uyanık ördekler, keçiler ve farelerde gösterilmiştir. STP'nin fizyolojik belirtileri ( $f_R$  ve  $V_T$ 'deki göreceli değişiklikler) türler arasında farklılık gösterse de, STP'nin artmış  $V_T$  veya frenik sinir genliğinde en belirgin olma eğilimi vardır. Ayrıca, kullanılan deneysel paradigmaya bağlı olarak, türler arasında ve içinde STP'nin zaman sürecinde bazı değişkenlikler vardır. Örneğin, STP, anestezi uygulanmış preparatlara göre uyanırken artan bir şekilde daha uzundur ve yine deserebre hayvanlara göre ve ayrıca hipoksik uyarıların şiddeti arttıkça uzar.

STP, birkaç saniyeden fazla süren hipoksi için karotis sinüs sinirinin sürekli uyarılmasıyla ortaya çıkar, bu da karotis cisim afferentlerinden glutamat salınımının sürdürülmesiyle sonuçlanır. Hipoksi sırasındaki STP, muhtemelen sinapsta glutamat birikiminin etkisini temsil ederken, reoksijenasyon sırasında STP, STP'nin erken formu sırasında meydana gelen akut HVR aracılı glutamaterjik potansiyalizasyonun taban hattına yavaş dönüşünü temsil eder. Hipoksi sırasında ara sinyal nöronlarında biriken  $Ca^{+2}$ 'un temizlenmesindeki gecikmeler nedeniyle gerçekleşebilir. Bu olayların her ikisi de muhtemelen karotis cisim afferentleri ve NTS nöronları arasındaki sinapslar ve motor nöronlarının ventilasyon havuzlarında, NTS'ye uzak sinapslar dahil olmak üzere HVR nöral devrelerindeki tüm glutamaterjik sinapslarda meydana gelir. Genel nöronal uyarılabilirliğe uyarıcı ve inhibe edici uyarıların bir dengesi aracılık ettiğinden, ikincil kontrol mekanizmaları, NTS'nin aşağı akışındaki

bazı motor nöronlar üzerinde inhibe edici etkileri indükleyebilir ki, bu da postsinaptik nöronlarda yükselmiş  $Ca^{2+}$  aracılığıyla arttırılmış STP uyarılabilirliğini geçersiz kılar.

STP'nin fizyolojik rolünün, solunum kontrol sisteminin refleks aktivasyonunun çok hızlı ilerlemesini önleyen, solunum kontrolünde yumuşatıcı bir etki şeklinde olduğu daha önce öne sürülmüştü. Bu nedenle STP, solunum sistemi üzerinde stabilize edici bir etki olarak işlev görür (Pamenter ve Powell, 2016). Bununla birlikte, STP'nin glutamat reseptörü/NO aracılı yolu, hipoksiye ventilatuar yanıtı stabil bir şekilde düzenlemek için seçilmiş bir adaptasyonu temsil etmekten ziyade uzamış stimülasyon sırasında oluşan sinaptik potansiyalizasyonun temel mekanizmalarının kaçınılmaz birer yan etkileridir. Hepsi birlikte ele alındığında, bu veriler, değişen oksijen bulunabilirliği seviyelerine karşı respiratuar cevabı stabilize etmek için mekanizmalar mevcut ise bunların muhtemelen glutamaterjik aktivasyonun eksitatuar etkilerini dengeleyen HVR nöral devresinin çeşitli seviyelerine yapılan inhibitör girdilerce oluşturulduğunu öne sürmektedir.



Şekil 2.3. STP'nin moleküler mekanizmaları (Pamenter ve Powell, 2016).

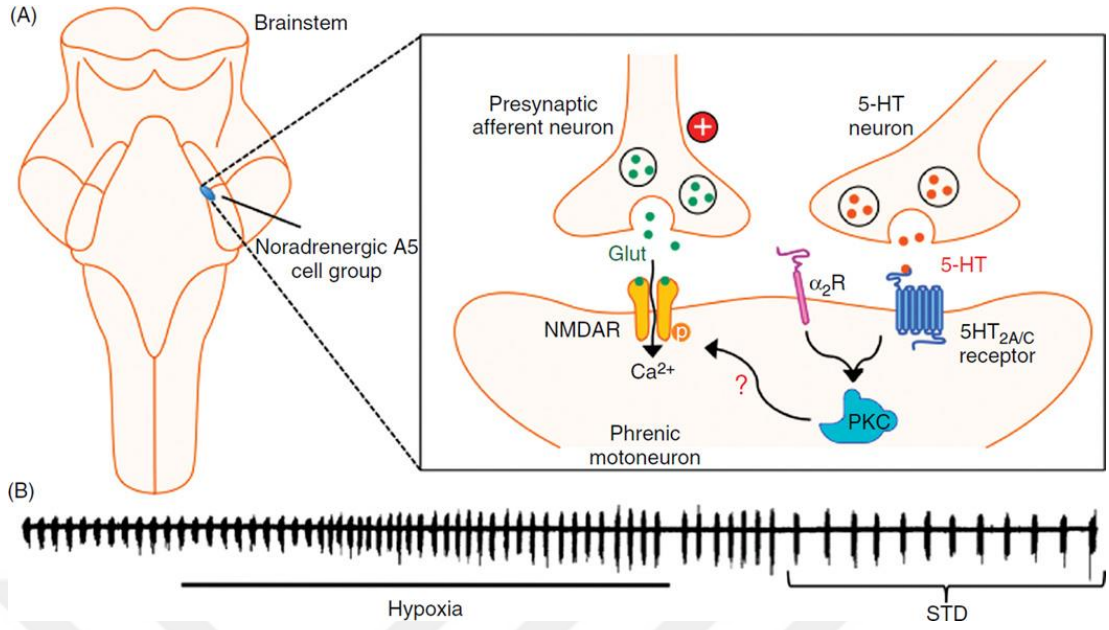
Şekil 2.3'te gösterilmiş olan STP'nin moleküler mekanizmalarına göre birkaç dakikalık akut hipoksi, solunum dürtüsünü artırır ve normoksik (başlangıç) ventilasyon, uyarıdan birkaç dakika sonra yüksek kalır. (A) Kısa süreli hipoksi esnasında karotis sinüs sinir aktivitesi artar. Bu da postsinaptik NTS nöronlarında NMDAR'ları etkileyen karotis cisim afferent nöronlarından sürekli glutamat salınımına yol açar. Postsinaptik glutamat reseptörlerinin ilerleyen aktivasyonu, kalmodulin ile bağlanan ve CaMKII'yi aktive eden birikim sayesinde hücre içi  $Ca^{2+}$  artışına neden olur. CaMKII daha sonra membranla ayrılmış nNOS'leri değiştirir, NO üretimini uyarır, bu da sinaptik yarı boyunca hızla etkisiz hale gelir ve guanil siklaz aracılı cGMP üretimini uyarır. cGMP daha sonra presinaptik glut salınımını artırır ve böylece aşağı akış solunum yolunu (yani STP'yi) artıran uyarıcı sinyal yayılımını artırır. (B) STP, solunum sıklığında bir artış olarak belirtilmektedir (Pamenter ve Powell, 2016).

### **2.1.3. Kısa Süreli Depresyon**

HVR'nin STD'si, kısa süreli hipoksi sırasında meydana gelen ve saniyelerden dakikalara kadar süren fR'de geçici bir aşımı takiben fR'de bir azalma olarak ortaya çıkar; aynı zamanda, hipoksik bir epizodun hemen ardından fR'de geçici bir azalmadan sonra normal fR seviyelerine dönüş olarak da görülür. STD'nin bu ikinci "kapalı" fazı ayrıca posthipoksik frekans düşüşü olarak da adlandırılır ve kısmen ekspirasyon süresindeki bir artışın aracılık ettiği düşünülmektedir. Akut HVR ve STP, karotis cismi ile ventilatuar motor nöronlar arasındaki nöral devrelerdeki çoklu sinapslarda geçerli olan gelişmiş sinaptik iletim ve erken sinaptik plastisitenin temel korunmuş prensiplerinin fizyolojik tezahürlerini temsil ederken, STD hem karotis cisminin hem de NTS'nin aşağı akışında oldukça spesifik bir moleküler sinyal yolunun aracılık ettiği, HVR'nin bir zaman alanı gibi görünmektedir. Ayrıca, bugüne kadar incelenen tüm türlerde ve deneysel preparatlarda akut HVR ve STP gözlemlenirken, STD oluşumu, belirli bir türdeki deneysel preparatlar, türler arasında değişiklik gösterir.

STD ilk başlarda anestezi altındaki ratlarda karotid sinüs sinir stimülasyonu ya da hipoksi sırasında veya sonrasında frenik sinir aktivitesinin azalması olarak belirtilmiştir. Genel olarak STD'nin "açık" ve "kapalı" mekanizmalarının aynı olduğu

varsayılsa da, "açık" mekanizmasına yönelik araştırmalar anlamlı sonuçlar çıkarmak için çok az sayıdadır. Bununla birlikte, "kapalı" mekanizmayı inceleyen araştırmalar, STD'nin büyük olasılıkla HVR için olan CNS devrelerinde etkilendiğini göstermiştir. Çünkü uyanık, karotis cisimi-denerve sıçanlarda devam etmektedir. Spesifik olarak, ventrolateral pons bölgesi STD için kritiktir çünkü burada olan lezyonlar anestezi uygulanmış ratlarda STD'yi ortadan kaldırırken bu bölgeye eksitatuvar sinaptik girdilerin (yani glutamaterjik) agonizmi STD'yi taklit eder. Sıçanlarda 5-HT<sub>2A</sub> reseptörlerinin antagonizması STD'yi artırdığı için ve farelerde STD oluşumunu ortaya çıkarmak için 5-HT<sub>1A</sub> reseptörlerinin antagonizması gerektiğinden, serotoninin (5-HT) STD'ye dahil olduğu görünmektedir. Başlangıçta STD'nin sadece anestezi uygulanmış ratlarda oluştuğuna inanılıyordu çünkü anestezi uygulanmış kedi veya keçilerde veya uyuyan insanlarda tespit edilmemiştir. Ayrıca, araştırmacılar o zamandan beri ilgili mekanizmayı bilinçli ratlarda, farelerde ve ayrıca uyanık insanlarda araştırdılar (Pamenter ve Powell, 2016). STD'nin büyüklüğünün ratların türleri arasında ve aynı zamanda alt türler içinde farklılık gösterebileceği gözlemiyle gösterildiği üzere HVR'nin bu zaman alanı genetik farklılıklara duyarlıdır (Pamenter ve Powell, 2016). Bu respiratuvar plastisite formunun, karotis cisiminden ve NTS'den bağımsız olarak ortaya çıktığı da dikkate değerdir. STD'nin büyüklüğü, hipoksik maruziyet veya karotis sinüs sinirinin uyarılma geçmişine bağlıdır ve frenik sinir aktivitesi bazal seviyeye geri döndüğünde bile daha önce uyarılmış preparatlar, daha sonraki uyarılara, saf preparatlara göre daha az güçlü yanıt verir. Bu nedenle STD, metaplastisite sergiler; burada stimülasyon geçmişi (karotis cisimlerinde hipoksi veya karotis sinüs sinirinin elektriksel uyarımı), sonraki uyarılara karşı oluşan gelecek yanıtları modüle eder. STD'nin özelliklerinin çoğu benzersizdir. Diğer zaman alanlarından farklı olarak; STD tamamen CNS'nin tek bir spesifik bölgesi (yani ventrolateral pons) içinde düzenlenmiş gibi görünmektedir. Ventilasyonun bir kısmını etkilemektedir. HVR'de metaplastisitenin ilk oluşumu olduğu söylenebilir (Pamenter ve Powell, 2016). STD çalışmasında cevaplanması gereken çok sayıda soru vardır. Örneğin, bu zaman alanının "açık" evresi, özellikle altında yatan hücresel ve moleküler mekanizmalar yeterince anlaşılamamıştır.



**Şekil 2.4.** STD'nin moleküler mekanizmaları (Pamenter ve Powell, 2016).

Şekil 2.4'te gösterilen STD'nin moleküler mekanizmaları saniyeler ile dakikalar arasındaki akut hipoksi, tam olarak bilinmeyen bir şekilde solunum sıklığında kısa süreli bir azalmaya neden olabilir. (A) Akut hipoksi, serotonin (5-HT) tip 2A ve 2C reseptörlerinin ve/veya  $\alpha_2$ -adrenoreseptörlerinin aktivasyonunu uyarır. 5-HT<sub>2A/C</sub> ya da  $\alpha_2$ -adrenoreseptörlerinin aktivasyonu, henüz anlaşılmamış bir şekilde glutamaterjik NMDAR'ları modüle eder (Pamenter ve Powell, 2016). Bu da NMDAR aktivasyonunu azaltır. (B) Fizyolojik olarak, bu yolun aktivasyonu frenik sinir aktivitesinin azalmasına ve ventilasyonun azalmasına (solunum frekansının azalması nedeniyle) yol açar (Powell ve ark., 1998).

#### 2.1.4. Hipoksik Ventilatuvar Düşüş

HVD, yetişkin hayvanlarda hipoksemi 5 ila 30 dakika sürdürüldüğünde akut HVR ve/veya STP seviyesinden düşülen ventilasyonda bir azalmadır (Pamenter ve Powell, 2016). Literatürde HVD, HVR'nin ventilatuvar "yuvarlanması" veya hipoksik ventilatuvar "depresyon" olarak anılmıştır. HVD, hipoksemi yetişkin hayvanlarda en az 3 ila 5 dakika devam ettiğinde ortaya çıkar (Pamenter ve Powell, 2016). İnsanlarda yüksek rakımdaki sürekli hipoksi sırasında 8 haftaya kadar devam edebilir. HVD'nin incelenmesi oldukça güçtür. Zor olmasının sebebi ise deneysel preparatlarda ve tüm hayvanlarda izlenmemesidir. Hipoksik uyaranlara, yaş, cinsiyet,

anesteziye bağı olarak HVD uyarılma durumu değişir (Pamenter ve Powell, 2016). Başlangıçta, bazı hayvanlarda HVD sadece anestezi altında gözlendiğinden, bu tepkinin heterojenliğinin esas olarak herhangi bir türdeki uyarılma durumuna bağı olduğuna inanılıyordu; ancak birçok türde HVD hem anestezi altındaki/uykudaki hem de uyanık hayvanlarda gözlenir ve bu tanımın sorgulanmasına neden olmaktadır. Örneğın, uyanık insanlarda, uyanık veya anestezi uygulanmış kedilerde, uyanık ratlarda, anestezi uygulanmış sıçanlarda ve anestezi uygulanmış tavşanlarda frenik sinir aktivitesinde bir azalma olarak HVD gözlenmiş, ancak uyanık köpeklerde görülmemiştir. Belki daha kafa karıştırıcısı, uyanık keçilerde bazı gruplar HVD tespit ederken diğerleri tespit etmemiştir (Aaron ve Powell, 1993). HVD oluşumu bildirmeyen, uyanık sıçanlar üzerinde yapılan incelemeler (Aaron ve Powell, 1993). HVD'nin kısa süreli seyri ile açıklanabilir (Pamenter ve Powell, 2016). Öyle ki, kararlı durum HVR ölçümlerinin yapıldığı zamana kadar ventilasyon zaten daha düşük bir seviyede stabilize olmuş olabilir.

HVD, akut HVR'ye eşlik eden poikilokapniden bağımsız olarak ortaya çıkar. HVD, izokapnik hipoksida gözlemlenmektedir. Fakat uyanık insanlarda HVD'nin %10-%20'sinin, CNS'deki kemosenitif bölgelerde parsiyel karbondioksit basıncını düşüren hipoksi ile serebral kan akışındaki artışlardan kaynaklanabileceğı tahmin edilmektedir (Pamenter ve Powell 2016). HVD'nin sona erme süresi genellikle başlangıcından daha uzundur. Örneğın, insanlarda HVD, hipoksinin 25 dakikası içinde ortaya çıkar, ancak ilk hipoksik uyarının kaldırılmasından sonra 60 dakika devam eder (Pamenter ve Powell, 2016). İlginç bir şekilde, HVD'yi takip eden iyileşme süresi, oksijenle zenginleştirilmiş gaz karışımlarının solunmasıyla kısaltılabilir. Bugüne kadar HVD, HVR'nin bu yaklaşımla doğrudan değiştirilebilen tanımlanmış tek zaman alanıdır. Bununla birlikte, yüksek rakımdaki insanlarda 2 gün ila 8 haftalık hipoksi sırasında HVD değişmez. HVD bazı preparatlarda fR'yi düşürür ki bu HVD'deki cinsiyet, yaş, uyarılma durumu ve hipoksik stimulyasyon değişkenliğini gösterir. Başlangıçta, HVD'nin, refleks arkında arteriyel kemoreseptörlere distal bir yerde ventilatuar kemorefleks cevabının depresyonundan kaynaklandığı düşünülüyordu. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, ventilasyonun hipoksiden sonra normokside, sürekli hipoksi sırasında baskılanmış olduğı kadar baskılanmadığını gösterdi. Aslında, HVR'nin iki izokapnik hipoksi seviyesi

arasındaki eğimi (örneğin, sırasıyla  $SaO_2 = \%90$  ve  $\%80$ ), sürekli hipokside azalmaz. Bu sonuçlar, HVD'nin ventilatuar kemorefleksinin  $O_2$  duyarlılığındaki değişikliklerden bağımsız olup olmadığını test eden birkaç deney yapılmasına yol açtı. Bununla birlikte, insanlarda solunumsal  $O_2$  duyarlılığında bir düşüş olduğuna dair kanıtlar da vardır. Bu düşüş hipoksik maruziyetin ölçülen ilk birkaç dakikasından veya merkezi kemoreflekslere karşı periferik kemoreflekslere verilen gelişmiş ventilatör yanıt modellerinden tahmin edilmektedir.  $O_2$  duyarlılığındaki bir değişiklik, zaman alanının ana nedeni olmasa bile HVD'de arteriyel ventilasyon kemorefleksinin bir rolünü destekleyen çeşitli gözlemlere dikkat çekti. Arteriyel kemoreseptörlerden bağımsız olan HVD mekanizması net değildir. Ancak hipoksinin beyin kan akışını artırma ve merkezi kemosensitif bölgelerde parsiyel karbondioksit basıncını azaltma etkisine katkıda bulunabilir. Sistemik adenozin reseptör antagonistleri, karotis cismi denerve kedilerde ve köpeklerde HVD'yi bloke eder (Pamenter ve Powell, 2016). Hem adenozin hem de opioid reseptörleri, fizyolojik HVD'yi indüklemek için NTS'deki nöronlarda veya CNS solunum kontrol devrelerinde başka yerlerde hücrel süreçleri modüle edebilen inhibe edici G-proteinlerine hücre içi olarak bağlanır. Son olarak; karotis cismi denerve ve uyanık ratlarda interkolliküler seviyedeki veya altındaki beyin transeksiyonlarında gösterildiği gibi yüksek beyin merkezlerinin, ventilasyonu arteriyel kemoreseptörlerden bağımsız olarak baskılayabildiği bilinmektedir (Pamenter ve Powell, 2016).

Arteriyel kemoreseptör girdisine bağlı olan HVD'nin nörokimyasal mekanizmasının, karotis cismi aferentleri ile medüller nöronlar arasında veya diğer CNS solunum devreleri arasında inhibe edici nörotransmisyon olduğu varsayılmaktadır. Adenozin salınımı hipoksi ile artar ve merkezi olarak ventilasyonu önler. HVD'nin başlangıçta hipoksi sırasında enerji tasarrufu sağlayan bir mekanizma olduğu öne sürüldüğünü de belirtmek gerekir ve azalmış nöral aktivite ve mekanik aktivitenin (örneğin nefes alma) uzun vadede kış uykusunda veya hipoksiye toleranslı türlerde hipoksik veya hipotermik epizodlar boyunca enerjiyi koruduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, HVD, enerji korunumunun kritik olmadığı normoksik iyileşme dönemine kadar sürer. Böylece, HVD'nin, uzun süren hipoksik uyarıdan dolayı glutamat salınımını artar. Akabinde sinaptik tonu bazal seviyelere indirmek amacıyla hareket eden

sinaptik temizleme mekanizmalarındaki fizyolojik yan etkisi olması daha muhtemel olduğu düşünülmektedir (Pamenter ve Powell, 2016). Sinaptik glutamat birikiminin NTS'de sinaptik GABA birikimine yol açması daha muhtemeldir. Bu durum da santral sinir sisteminde ventilasyonda kısa süreli sistemsel azalışlara sebep olan hücre bazlı cevapları aktive eder. Böyle bir tedavi, karotis cismi aferent sinyalini ortadan kaldırır ve glutamat salınımını en aza indirir. Bu, birikmiş sinaptik glutamatın GABA'ya dönüştürülerek daha hızlı uzaklaştırılmasına izin verecek ve böylece HVD'yi kısaltacaktır.

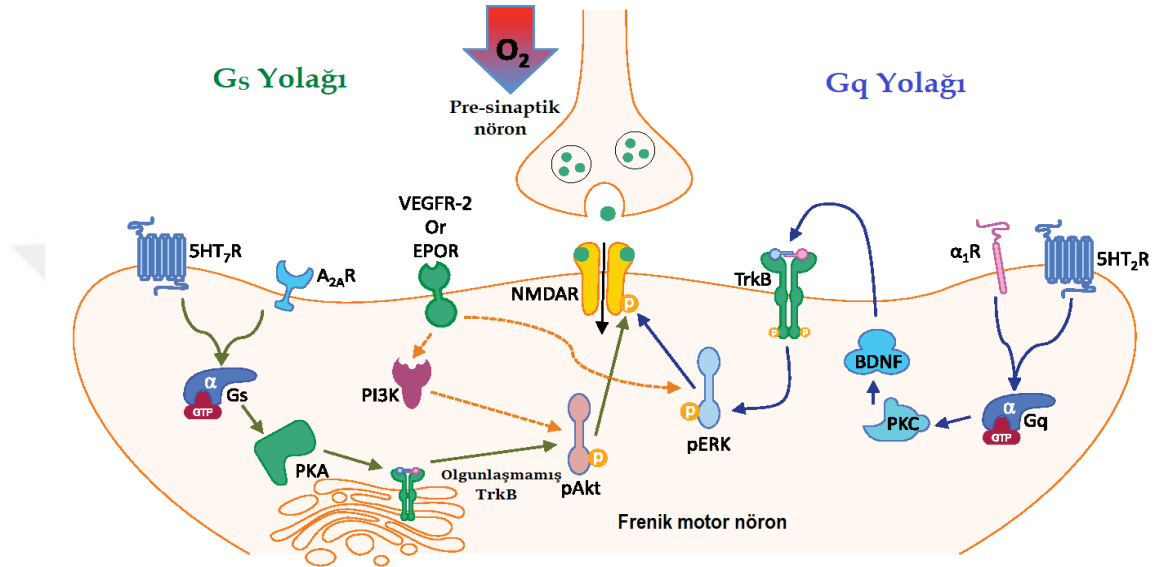
Özetle, HVD, HVR'nin birkaç dakikalık hipoksiye maruz kalmayla ortaya çıkan ve hipoksinin azalmasından sonra da devam eden önemli bir zaman alanıdır.

## **2.2. Gq ve Gs protein Reseptör Sinyal Yolakları**

G protein sinyali, ligandları veya katyonları, heterotrimerik G proteinlerini ve akış aşağı efektörleri ve düzenleyicileri algılayan G proteinine bağlı reseptörlerden (GPCR'ler) oluşur (Mengrui, Lianfu ve Guochun, 2010). GPCR'ler düzenleyicidir ve hücre fonksiyonunun her tarafında bulunmaktadır (Mobbs ve ark., 2021). Entegre hücre ve organ yanıtının üretilmesi için harici sinyallerin allosterik kanalları olarak görev yapar. Aktive edilmiş GPCR'lerin birincil dönüştürücüleri, farklı G $\alpha$  ve G $\beta\gamma$  alt birimlerinden oluşan heterotrimerik G proteinleridir (Mobbs ve ark., 2021). G proteinleri,  $\alpha$  alt birimlerine göre 04 aileye ayrılır. Bu aileleri de Gi, Gs, G12/13 ve Gq olmak üzere sınıflandırmak mümkündür (Afzal, 2021).

G proteinlerinin ana işlevi, yedi transmembran reseptöründen oluşan bir aile olan G proteinine bağlı reseptörlerden (GPCR'ler) gelen sinyalleri iletmektir (Zhang ve Shi, 2016). G-protein-bağlı reseptörler, fizyolojik tepkileri düzenlemek için hücre fonksiyonlarının kaskadları aracılığıyla sinyalleri iletir (Hoare ve Hughes, 2004). GPCR sinyali görme, tat alma, koku alma, sempatik/parasempatik sinir fonksiyonları, metabolizma ve bağışıklık düzenlemesinde rol oynar (Miyano ve ark., 2014). Son yıllarda, çalışmalar GPCR'lerin G proteinlerinin Gq/11 alt ailesinin bir üyesi olan Gq ile etkileşime girdiğini göstermiştir (Zhang ve Shi, 2016). Başlatıcı nörotransmitter reseptörüne kanonik olarak bağlanan G proteini, özellikle G q (Q yolu) ve Gs (S yolu) ile birleştirilmiş reseptörler için adlandırılır (Nichols ve

Mitchell, 2021). Epizodik spinal 5-HT reseptör uyarımı, hipoksi olmadan frenik motor nöronu etkilemek için yeterlidir. Gq-protein-bağlı 5-HT<sub>2</sub> reseptörü tarafından başlatıldığından bu mekanizma “Q” yolu olarak adlandırılmaktadır. PMF'ye giden başka bir yola "S" yolu adı verilir, çünkü Gs protein-bağlı metabotropik adenosin (A<sub>2A</sub>) veya 5-HT<sub>7</sub> reseptörleri tarafından indüklenir (Nichols ve ark., 2012).



**Şekil 2.5.** Hipoksi Tetikli Plastisitenin Hüresel ve Sinaptik Mekanizmaları (Pamenter ve Powell, 2013).

Yeşil oklar ile gösterilen Gs yolu, Gs proteinlerine bağlı adenosin tip 2A reseptörlerinin (A<sub>2A</sub>) veya serotonin tip 7 reseptörlerinin (5-HT<sub>7</sub>R) aktivasyonu ile uyarılabilir (Pamenter ve Powell, 2013). Gs sinyali, fosfo-protein kinaz B'yi (pAkt) modüle etmek için olgunlaşmamış TrkB'yi uyarır ve protein kinaz A (PKA) aktive edilir. Glutamaterjik N-metil-d-aspartat reseptörleri (NMDAR'lar) indüklenir. Böylece sinaptik öncesi glutamat salınımına duyarlılık arttırılmış olur (Pamenter ve Powell, 2013). Gs ve Gq yolu etkileşimleri üzerindeki potansiyel etkileri gösterilmemiştir.  $\alpha$ 1-adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu, ERK'ler yerine protein kinaz B'nin (Akt) aracılık ettiği bir yol aracılığıyla 5-HT reseptörlerinden bağımsız olarak frenik LTF'yi indükleyebilir. İlginç bir şekilde, hem  $\alpha$ 1-adrenerjik reseptörler hem de 5-HT reseptörleri, fosfolipaz C'nin aktivitesiyle bağlantılı bir g-protein sınıfı olan Gq proteinlerine bağlanır, bu da bu iki tip reseptörün bir noktada birleşebileceğini düşündürür. Ortak yol ve LTF'nin ortak aktivatörleri olarak hizmet

eder. Bu iki mekanizmanın “Q” Yolu olarak adlandırılan bir yol oluşturduğu öne sürülmüştür. pLTF, indüksiyon için spinal serotonin reseptörü aktivasyonunu gerektirir. Fakat idame gerektirmez. Epizodik serotonin ve 5-HT2 reseptörü agonistleri PMF'yi AIH olmasaa bile ortaya çıkartabilir. Bu nedenle, AIH ile indüklenen pLTF, 5-HT2 reseptörleri Gq proteinlerine bağlandığından, ağırlıklı olarak Q yolundan ortaya çıkar. pLTF bakımı yeni protein sentezi, özellikle beyin kaynaklı nörotrofik faktörün yeni sentezini gerektirir. pLTF için TrkB'nin aktivasyonu hem gerekli hem de yeterlidir. 1) Motor nöronlarda BDNF, ERK fosforilasyonunda artışa neden olur. 2) Frenik motor çekirdeği ile ilişkili ventral servikal segmentlerde AIH, ERK fosforilasyonunda artışa sebep olur. 3) ERK'yi fosforile eden kinaz inhibisyonu pLTF'nin ortadan kaldırılması sağlanır. ERK'den gelen aşağı akış sinyali olayları çok net olmasa da, glutamat reseptör fosforilasyonu veya membran eklenmesi, frenik motor nöronlar içinde glutamaterjik iletimi artırabilir. Böylece pLTF'yi kurabilir (Dale-Nagle ve ark., 2010). PMF'ye yakınsak yolların mevcut çalışma modeli. "Q" yolu 5-HT2 veya A1 gibi Gq-bağlı metabotropik reseptörlerin aralıklı aktivitesiyle başlatılır. Protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonu, yeni BDNF sentezini aktive eder. BDNF, TrkB'yi ve sonrasında pERK'i aktive eder (Dale-Nagle ve ark., 2010).

Son zamanlarda, frenik LTF'yi indükleyebilen başka bir sinyal yolu rapor edilmiştir ve buna omurilik adozin tip 2A reseptörleri (A2AR) ve 5-HT7 Rs aracılık eder. Bir 2A Rs, adenilat siklaz- bağlı Gs proteinleri aracılığıyla sinyal verir ve buna göre bu yola “S” yolu adı verilir. Gs sinyalinin LTF'de daha genel bir rolü olduğu fikrine destek, Gs'yi de kullanan 5-HT7Rs'nin uzun süreli frenik motor kolaylaştırmayı indükleyebileceği gözleminden gelir. İlginç bir şekilde, S Yolu, BDNF sentezinden bağımsız olarak olgunlaşmamış TrkB'nin aktivasyonunu içerir ve bu yol, PI3K/Akt aktivasyonu yoluyla ilerler, ancak ERK'leri içermez (Pamenter ve Powell, 2013).

"S" yolu, protein kinaz A'ya (PKA) bağlı Gs-bağlı metabotropik reseptörler (örn. 5-HT7 ve A2A) tarafından ortaya çıkar. PKA, Akt aktivasyonu (pAkt) yoluyla hücre içinden oto-fosforile ve sinyal veren olgunlaşmamış bir TrkB izoformunun yeni sentezini indükleyebilir. Hem pERK hem de pAkt glutamat reseptörlerini fosforile ettiğini varsayılmaktadır. Böylece daha fazla sinaptik güç ve PMF'ye yol açar.

PMF'nin bir nedeni olarak motor nöron uyarılabilirliğindeki değişiklikleri, örneğin iyon kanallarının membrana sokulması yoluyla ekarte edemeyiz (Dale-Nagle ve ark., 2010). Gs proteinine bağlı metabotropik reseptörlerin aktivasyonu ile protein kinaz A(PKA) aktive edilir. 'S' yolu ile Gs protein-bağlı A2A ve 5-HT7 reseptörlerinin spinal aktivasyonu, PMF'yi ortaya çıkartabilir (Dale-Nagle ve ark., 2010). S ve Q yolları, aralıklı hipoksi esnasında eşzamanlı olarak başlatılabilir. Ama yalnızca bir yolu bloklamak frenik LTF'yi artırdığı için birbirlerini frenleme yatkındırlar (Pamenter ve Powell, 2016). Bu etkileşime örnek olarak, çapraz konuşma mekanizmasıyla etkileşime giren Gs ve Gq proteinleri gösterilebilir.

Hem duyuşal hem de motor sistemlere aracılık eden solunum, solunum dışı mekanizmaların önemli modölatörlerinin arasında Q ve S yolları da vardır. Buna örnek olarak Gs yolu, motor kontrol, ağrı ve ventilasyonda önemli roller oynayan inhibitör glisin reseptörlerinin duyarlılığı ile ilişkilendirilebilir. Q yolu ise, jüvenil sıçanların beyin sapında solunum kontrolünün merkezi model üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Pamenter ve Powell, 2013). Gq ve Gs protein- bağı reseptör yolları arasında 'çapraz konuşmayı' gösteren çok sayıda literatür vardır (Hoffman ve ark., 2010). S ve Q yolları birbirinden bağımsız değildir. Fakat güçlü çapraz konuşma inhibisyonu yolu ile etkileşime girer (Nichols ve Mitchell, 2021). Bu etkileşim, bu protein ailesinin, özellikle Gq proteininin alt biriminin fonksiyonel  $\alpha$  olarak kabul edilen  $G\alpha$  için bağışıklık düzenlemesi ve otoimmünitedeki hayati rolünü kolaylaştırır (Zhang ve Shi, 2016).

### **2.3. Adenozin ve Adenozin Reseptör Tipleri**

Adenin nükleozidinin kısaltması olan adenozin, kimyasal olarak 6-amino-9- $\beta$ -D-ribofuranosiladenin olarak bilinir ve adenin N-9'unun  $\beta$ -N9-glukozit bağı yoluyla D-riboz'un C-1'ine bağlanmasıyla oluşur (Liu ve ark., 2019). Adenozinin hücreşel fizyolojideki rolüne dair ilk kanıt, kalp ritmini ve hızını yavaşlatabilen bir adenin bileşiminin varlığının kardiyak dokulardan elde edilen ekstraktlarda keşfedildiği 1927 yılına kadar uzanır. 50 sene sonra bu tanı ile, supraventriküler taşikardi tedevasında ve hatta tanısında adenozin kullanımına başlanmıştır (Borea ve ark., 2018). Sonrasında biyokimya, fizyoloji, kimya, farmakoloji ve immünoloji gibi birçok alanlardan bilim adamları, adenozinin sağılık ve hastalıktaki birçok rolünü

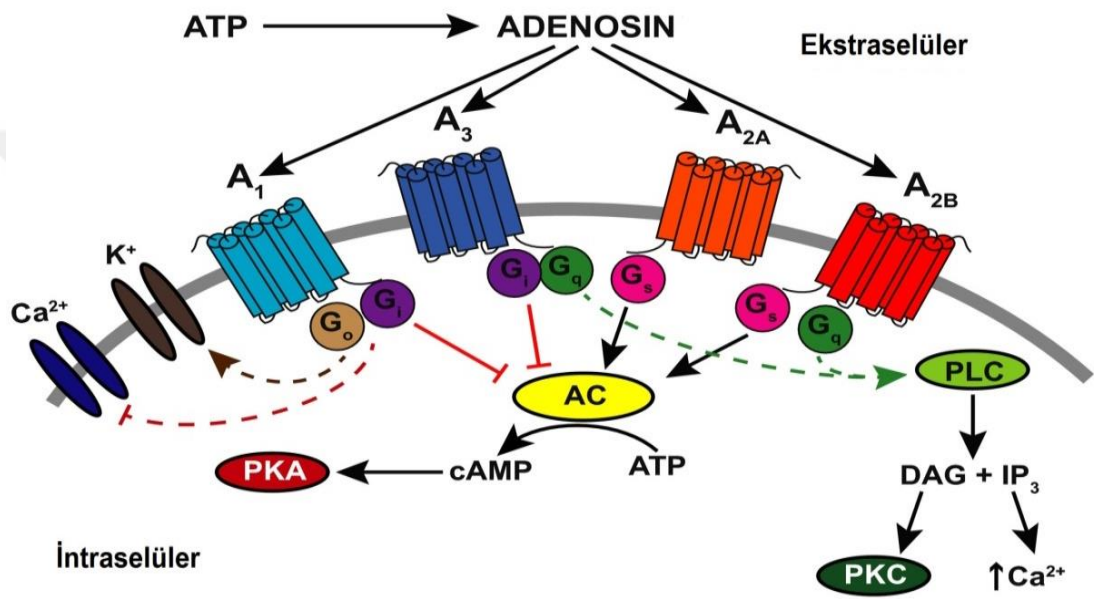
araştırmaya yönlendirmişlerdir. Bu sayede yeni bir çalışma alanı ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalarla beraber, adenzinin, vasküler fonksiyon, nöronal aktivite, trombosit agregasyonu ve kan hücresi regülasyonu gibi hücresele fizyolojinin tüm yönlerini etkileyen endojen molekül olduğunu keşfetilmiştir (Borea ve ark., 2018). İlk araştırmacılara, adenzin davranışı hormonların veya ikinci habercilerinine benziyordu. Fakat stres koşulları sırasındaki özel üretim mekanizması, aslında yeni bir tür hücre düzenleyicisi olduğunu gösterilmiştir. Buna "misilleme metaboliti" terimi verilmiştir (Borea ve ark., 2018).

Adenzin, beyin ve kalp de dahil olmak üzere vücuttaki dokularda hem hücre içi hem de hücre dışı olarak üretilebilir. Adenzin, santral sinir sisteminde (CNS) birçok bölgeye dağılmıştır. Adenzin, beyinde merkezi hem uyarıcı hem de engelleyici nörotransmitterdir ATP'nin yıkımı hipoksiye maruziyet, iskemi, doku hasarı ve diğer patolojik koşullarla artar (Liu ve ark., 2019). Adenzin, doğal olarak meydana gelen bir nükleosittir. Vücudun hem enerji üretimi hem de enerji kullanım sistemlerinin temel yapıtaşısıdır. Adenzin-trifosfatın (ATP) bozunmasıyla enerji tüketen işlemler esnasında adenzin oluşur. Adenzin, G-proteinine bağlı membran reseptörlerinin dört alt tipinin, A1, A2A, A2B ve A3, aktivasyonu yoluyla sayısız fizyolojik süreci düzenler. Periferik sinir sisteminde, ATP duysal ve otonomik gangliyonlarda kimyasal iletimde yer alırken, merkezi sinir sisteminde sinaptik terminallerden salınan ATP, hızlı uyarıcı postsinaptik akımları indükler. Adenzinin etkilerine temelde 4 GPCR ile etkileşim kurarak rol oynamaktadır (Borea ve ark., 2018). Bunlar A1,A2A,A2B ve A3 adenzin reseptörleri (AR'ler) olarak adlandırılır. Vücuttaki çoğu hücrede ve dokuda eksprese edilir (Borea ve ark., 2018). Dört G-protein-bağlı reseptör izoformu (A1, A2a, A2b ve A3) dahil olmak üzere adenzin reseptörleri, diğer dokuların yanı sıra sinir, kardiyovasküler ve solunum sistemlerinde yaygın olarak dağılmıştır (Kong ve ark., 2019). A1 reseptörü, diğerleri arasında en çok korunan adenzin çeşitidir. A1 reseptörünün aktivasyonu, adenilil siklaz aktivitesini inhibe eder, potasyum kanallarını aktive eder, geçici kalsiyum kanallarını bloke eder ve hücre içi kalsiyum ve fosfolipaz C'yi artırır. A1 reseptörü, nörotransmitter salınımını bloke eder. Ayrıca ateşleme hızını azaltarak nöronal aktiviteyi uyarır (Chen ve ark., 2013). A2a reseptörü ağırlıklı olarak inflamatuvar hücrelerde eksprese edilir (Kong ve ark., 2019). A2A reseptörünün yüksek seviyeleri

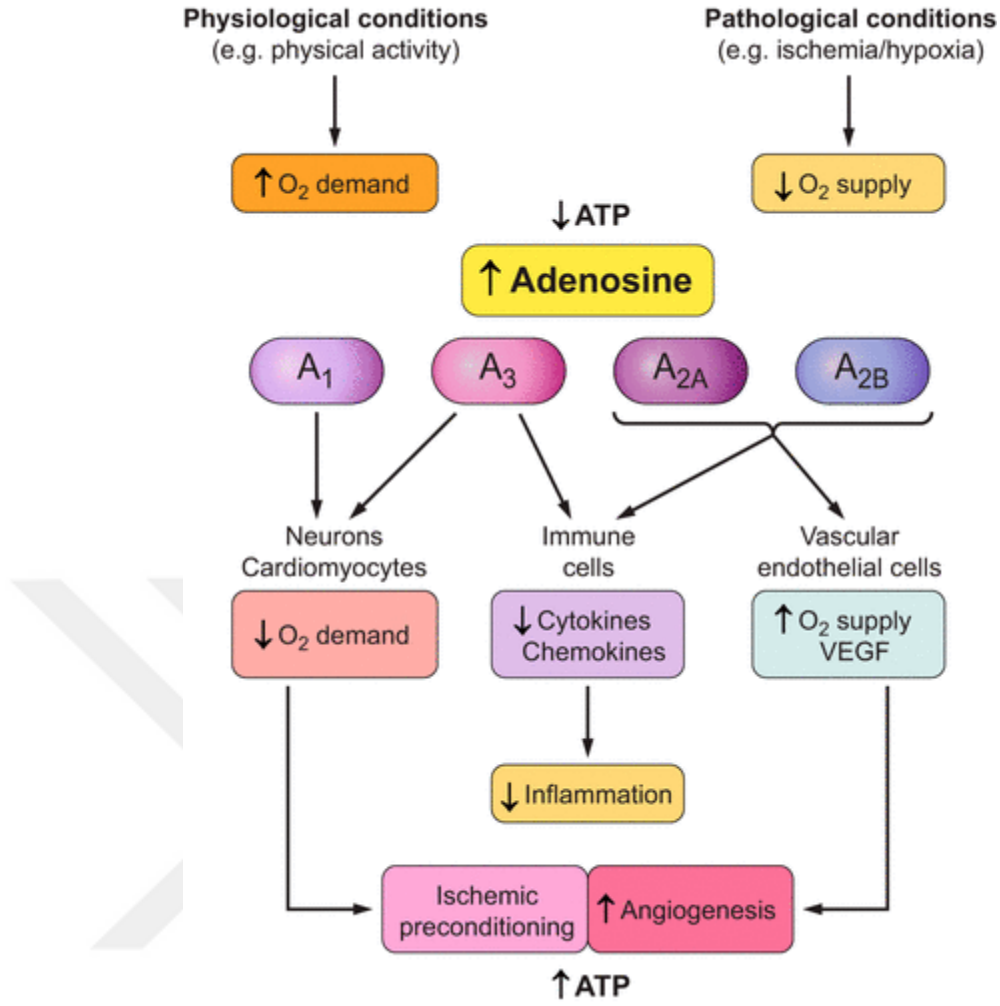
beynin striatumunda, dalaktaki başışıklık hücresinde, timusta, lökositlerde ve kan trombositlerinde bulunur ve orta seviyeler kalp, akciğer ve kan damarlarında bulunur. A2A reseptör aktivasyonu sayesinde periferik dokularda Gs protein'e bağlanarak protein kinaz A'yı (PKA) modüle edilir. Beyindeki bir A2A reseptörü, motor aktiviteyi, psikiyatrik davranışları, uyku-uyanıklık döngüsünü ve nöronal hücre ölümünü düzenlemek amacıyla birçok nörotransmitterle etkileşime girer. Periferik dokularda, A2A reseptörleri inflamasyon modülasyonunda, miyokardiyal oksijen tüketiminde, koroner kan akımında, anjiyogenezde ve kanser patogenezinin kontrolünde çok önemli bir role sahiptir (Chen ve ark., 2013). A2A adenosin reseptörleri, striatumda ve bazal gangliyonların diğer çekirdeklerinde eksprese edilir. Adenosin A2A reseptörleri, bazal gangliyon sisteminde oldukça zengindir. Ağırlıklı olarak enkefalin eksprese eden GABAerjik striatopallidal nöronlarda eksprese edilirler ve bu nedenle bazal gangliyon sisteminin dolaylı efferent yolunun işlevi ile oldukça ilgilidir. Bu GABAerjik enkefalinergik nöronlarda, A2A reseptörü, dopamin D2 reseptörü ile yapısal ve işlevsel olarak sıkı bir şekilde etkileşime girer. Hem reseptör heteromerleri oluşturarak hem de ortak hücre içi sinyalleşme basamaklarını hedefleyerek, A2A reseptörleri hareketin, motor öğrenmenin, motivasyonun ve ödülün bazal ganglion kontrolünün merkezinde yer alan karşılıklı antagonistik etkileşimler sergiler (Schiffmann ve ark., 2007). A2B reseptörleri yaygın olarak ifade edilir, ancak çoğunlukla düşük miktarda bulunur. A2B reseptörleri, kültürlenmiş hücrelerde A2A reseptörleri ile benzer bir afinitede mitojenle aktive olan protein kinaz aktivitesini uyarmasına rağmen, A2B reseptörü, mikromolar adenosin konsantrasyonları gerektiren dört adenosin reseptörü arasında en adenosine duyarlı reseptördür. Nadiren de olsa sırf fizyolojik koşullar altında elde edilir. Hipoksi, iskemi veya iltihaplanma gibi adenosin miktarının arttığı koşullar esnasında, genetik ve farmakolojik çalışmalarda A2B reseptör sinyalleşmesinin fonksiyonel rolleri belirtilmiştir. Bu roller iskemi toleransındaki artışı, hipoksiye doku adaptasyonunu, akut inflamasyonun azalmasını içerir (Chen ve ark., 2013).

Adenosin türleri arasında A3 reseptörünün farmakolojisi ve dağılımında, dolayısıyla işlevinde, önemli farklılıklar vardır. Farelerde, mast hücre degranülasyonu ile A3 reseptör sinyali bağlantılıdır. Fakat insanlarda bu durum farklı olabilir. Çoğu hücre ve dokuda düşük A3 reseptörü ekspresyonu seviyesine rağmen, ekspresyonu

romatoid artrit, Crohn hastalığı ve kolon kanseri hastalarından alınan kan hücrelerinde yukarı doğru düzenlenmiştir. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, nükleer faktör-B sinyallemesinin ve fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)-PKB-AKT sinyal yollarının yukarı regülasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Gerçekten de, klinik öncesi çalışmalar, A3 reseptör agonistleri anti-inflamatuar, antikanser ve sitoprotektif etkilerini göstermiştir (Chen ve ark., 2013).



Şekil 2.6. Adenosin reseptörlerinin dört alt tipi ve bunların hücre içi sinyalleri (Van Calker ve ark., 2019).



**Şekil 2.7.** A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> ve A<sub>3</sub> adenosin reseptörleriyle (AR'ler) etkileşim yoluyla adenosinin fizyolojik rolü.

Adenosin, ATP tüketimine bağlı olarak hipoksi, iskemi veya fiziksel aktiviteyi takiben yüksek oranda artan endojenle her yerde bulunan bir araçtır. AR'lerin aktivasyonu tarafından tetiklenen farklı mekanizmalar ile vücut gözetimi ve koruması sağlar. Bu da oksijen talebinin ve iltihaplanmanın azalmasına, artan oksijen arzı ve anjiyogenezin yanı sıra iskemik ön koşullandırmaya neden olur (Borea ve ark., 2018). Adenosin, sinapsların aktivitesini pre, post ve non-sinaptik olmak üzere değişik seviyelerde etkilemektedir (Vaz ve ark., 2015). Adenosin aynı zamanda beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi sinaptik aktivitede yer alan farklı modülatörlerin hareketlerini kontrol eden bir metamodülatördür (Vaz ve ark., 2015). BDNF, nöronal hayatta kalmayı, farklılaşmayı ve sinaptik plastisiteyi etkileyen bir nörotrofindir. Önemli miktarda veri, BDNF ile adenosin A<sub>2A</sub> reseptörleri (A<sub>2A</sub>R)

arasında bir karışma için moleküler ve işlevsel kanıtlar sağlamıştır (Vaz ve ark., 2015). Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B (AKT) kaskadları önemli sinyal yollarıdır. Bunlar hücrenin hayatta kalmasına ve kardiyoproteksiyona aracılık eder (Chen ve ark., 2013).

#### **2.4. Adenozin Antagonisti (MSX-3) ve Agonisti (CGS21680)**

Adenozin A<sub>2A</sub> kullanılan antagonist MSX-3'tür ((*E*)-fosforik asit mono-[3-[8-[2-(3-metoksifenil)vinil]-7-metil-2,6-diokso-1-prop-2-inil-1,2,6,7-tetrahidropurin-3-yl] propil] ester disodyum tuzu) (Worden ve ark., 2009). Sıçan serebral korteksindeki adenozin A<sub>2A</sub> reseptör agonisti 2-p-(2-karboksietil)fenetil-amino-5'-N-etilkarboksamidoadenozin yani CGS 21680 dir (Kirk ve Richardson, 1995). A<sub>2A</sub>'nın aktivasyonu CGS 21680 bileşiğinin reseptörlerinin, iskemik sıçan serebral korteksinden uyarıcı verici salınımını arttırdığı rapor edildi. Bu, bazı koşullar altında endojen adenozinin uyarıcı A<sub>2A</sub> reseptörlerini aktive edebileceğini düşündürdü. Buna göre, A<sub>2A</sub> reseptör antagonistleri, global iskeminin neden olduğu serebral hasarı frenledi. Fokal iskeminin ardından kortikal enfarktüs hacmini indirdi. CGS 21680 A<sub>2A</sub> reseptör agonisti olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda serebral korteks gibi A<sub>2A</sub> reseptörlerinin az bulunduğu beyin bölgelerinde, CGS 21680 spesifik olmayan bölgelere tutunur. CGS 21680'in ağırlıklı olarak A<sub>2A</sub> reseptörlerini karakterize etmek ve A<sub>2A</sub> reseptör aracılı etkileri tanımlamak için kullanılır (Lopes ve ark., 2004).

### 3. GEREÇVE YÖNTEM

Bu çalışma için kullanılan dokularda; her bir grup (toplamda 2 grup; her grup 4 alt grup içermektedir) 10 adet olmak üzere toplamda 80 adet, yetişkin erkek, 2-3 aylık Spraque Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Bu çalışma için kullanılacak sıçanlar, Erciyes Üniversitesi'nde bulunan Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde yetiştirilmiştir. Standart sıçan kafeslerinin içinde (her kafeste 4 adet), standart oda sıcaklığında, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile kısıtlama yapılmadan beslenmiştir. Denekler üzerindeki testler ve ilaç enjeksiyonları gündüz yapılmış olup bütün vücut pletismografisi (WBP) ile ventilasyon (V) ve ventilasyon bileşenleri olan solunum frekansı (fR) ve tidal volüm (TV) ölçümleri sırasında besin ve su verilmemiştir. WBP ölçümü başlangıcında ve sonunda ağırlığı ölçülen sıçanlar, inhalasyon yoluyla %100 O<sub>2</sub> içerisinde %5 izofloran bulunan anestezi odasına konularak anestezi altına alınmış ve ölüm kardiyak ventriküler insizyon yoluyla açık göğüs anevrizması ile doğrulanmıştır.

#### **Deney Grupları ve İlaç ve Dozları:**

#### **Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi (mASH) Grubu:**

**Tablo 3.1.** Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Deney Grubu

Durum:	Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi (mASH)				
	mASH_CON	mASH_DMSO	mASH_CGS	mASH_MSX-3	
Tedavi	tedavi yok	DMSO	CGS21680	MSX-3	
O <sub>2</sub> yüzdesi	13%	13%	13%	13%	
Tedavi günleri	yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
WBP ölçümü	8. gün	8. gün	8. gün	8. gün	
N <sub>Grup_Toplam</sub>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>

Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi grubu 4 gruba bölünmüştür. Denekler için kullanılan ilaçlar, ilaç günleri, maruz bırakılan O<sub>2</sub> yüzdesi ve WBP ölçümünün yapıldığı günler yukarıdaki tabloda özetlenmiş ve aşağıda kısa açıklamaları yapılmıştır. Her alt grubun WBP ölçümü 7. gün sonunda “Hipoksik WBP Ölçüm Protokolü” ne göre yapılmıştır.

Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Kontrol (mASH\_CON): Normobarik odada 7gün süresince %13 O<sub>2</sub>'ye maruz kalan sıçanlara (n=10) ilaç uygulaması yapılmamıştır.

Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi DMSO (mASH\_DMSO): Normobarik odada 7 gün süresince %13 O<sub>2</sub>'ye maruz kalacak sıçanlar 2 gruba (n=10/2) ayrılıp, her gün CGS21680 dozu (n=5) ile MSX-3 (n=5) dozu eşdeğerinde serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır.

Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi CGS (mASH\_CGS): Normobarik odada 7gün süresince %13 O<sub>2</sub>'ye maruz kalan sıçanlara (n=10) her gün CGS21680 enjeksiyonu yapılmıştır.

Orta şiddetli Akut Sürekli Hipoksi MSX-3 (mASH\_MSX-3): Normobarik odada 7gün süresince %13 O<sub>2</sub>'ye maruz kalan sıçanlara (n=10) her gün MSX-3 enjeksiyonu yapılmıştır.

### **Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi (sASH) Grubu:**

**Tablo 3.2.** Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Deney Grubu

Durum:	Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi (sASH)				
	sASH_CON	sASH_DMSO	sASH_CGS	sASH_MSX-3	
Tedavi	tedavi yok	DMSO	CGS21680	MSX-3	
O <sub>2</sub> yüzdesi	10%	10%	10%	10%	
Tedavi günleri	yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
WBP ölçümü	8. gün	8. gün	8. gün	8. gün	
N <sub>Grup_Toplam</sub>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>40</b>

Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi grubu 4 gruba bölünmüştür. Denekler için kullanılan ilaçlar, ilaç günleri, maruz bırakılan O<sub>2</sub> yüzdesi ve WBP ölçümünün yapıldığı günler yukarıdaki tabloda özetlenmiş ve aşağıda kısa açıklamaları yapılmıştır. Her alt

grubun WBP ölçümü 7. gün sonunda “Hipoksik WBP Ölçüm Protokolü” ne göre yapılmıştır.

Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi Kontrol (sASH\_CON): Normobarik odada 7gün süresince %10 O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmış sıçanlara (n=10) ilaç uygulaması yapılmamıştır.

Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi DMSO (sASH\_DMSO): Normobarik odada 7gün süresince %10 O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmış sıçanlar 2 gruba (n=10/2) ayrılıp, her gün CGS21680 dozu (n=5) ile MSX-3 (n=5) dozu eşdeğerinde serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır.

Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi CGS (sASH\_CGS): Normobarik odada 7gün süresince %10 O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmış sıçanlara (n=10) her gün CGS21680 enjeksiyonu yapılmıştır.

Şiddetli Akut Sürekli Hipoksi MSX-3 (sASH\_MSX-3): Normobarik odada 7gün süresince %10 O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmış sıçanlara (n=10) her gün MSX-3 enjeksiyonu yapılmıştır.

### **İlaç Dozları**

Oluşturulan deney gruplarında belirtilen günlerde yapılan enjeksiyon dozları aşağıda açıklanmıştır.

1. DMSO: DMSO (DMSO; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) uygulanacak sıçanlarda ise i.p. 100 ml de 40 ml olarak dilüe edilmiş %40' lık DMSO 1 µL .kg-1 enjeksiyon yapılmıştır.
2. A2AR agonisti: CGS 21680 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA); 50µM dimethyl- sulfoxide içerisinde çözülmüş intraperitoneal (i.p.) 1 µL .kg-1 enjeksiyon yapılmıştır.
3. A2AR antagonisti: Ester disodium salt; MSX-3 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). 50µM DMSO içerisinde çözülmüş intraperitoneal (i.p.) 1 µL .kg-1 7 gün boyunca enjeksiyon yapılmıştır.

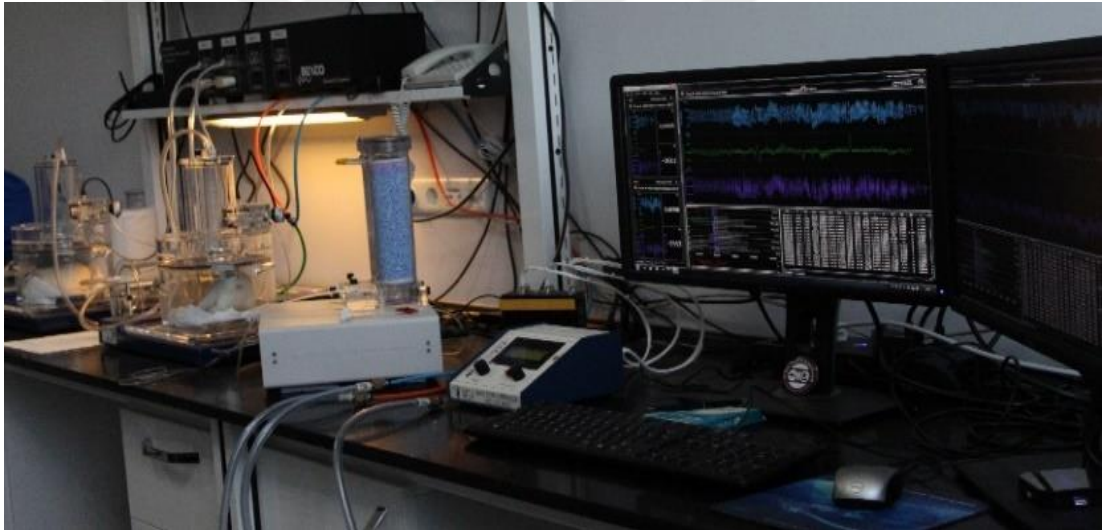
## Ventilasyon Parametrelerinin Ölçümleri

Hipoksi modellerinin oluşturulmasının ardından hipoksinin ventilasyona tepkisini ölçmek amacıyla barometrik bütün vücut pletismografı (WBP) (model PLY3213; Buxco Electronics, Wilmington, NC) kullanılmıştır. Denekleri WBP'e yerleştirmeden önce Drorbaugh ve Fenn denkleminde yer alan parametreler dakikadaki frekans (nefes/dak), ventilasyon ( $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) ve tidal volüm ( $\text{ml}/100\text{ g}$ ) değerlerinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Bu parametreler; pletismograf iç sıcaklığı, sıçanın vücut sıcaklığı ve vücut ağırlığı, çevresel ve normobarik odanın iç basıncıdır.

Normoksi ve de hipoksi koşullarına maruz bırakılan sıçanlar WBP odasına bırakılmıştır. Sonrasında ise basınçlı havanın 3 L/dk'lık akış ile normobarik odalara gitmesi sağlanmıştır. Kütle akış kontrolörü kullanılarak solunan havanın gaz kompozisyonunun kontrolü,  $\text{O}_2$  ve  $\text{CO}_2$  miktarlarının değişiminin ayarlanması ve  $\text{CO}_2$  birikiminin önüne geçilmesi sağlanmıştır. Sıçanların 30 dk boyunca aklimatizasyonu sağlandıktan sonra fizyolojik ölçümlere başlanmıştır. Solunum parametreleri tasarlanan zaman periyodları içerisinde düzenli olarak ölçülmüştür. Sıçanların sakin veya uyanık olduğu zamanlar analiz için değerlendirmeye alınmıştır. Verilerin kabul edilebilir olması için vücut hareketinin olmadığı ama gözlerin açık olduğu aynı zamanda bilgisayar monitöründe standart bir solunum mekanizmasının sürekli olarak gözleendiği bölümler değerlendirmeye alınmıştır. Veri optimizasyonunun sağlanması amacıyla sıçanların uyku halinde olduğu veya uyuduğu zamanlardaki veriler kullanılmamıştır.



**Şekil 3.1.** Ventilasyon ölçümlerinin yapılacağı bütün vücut pletismografi (WBP) sistemi.

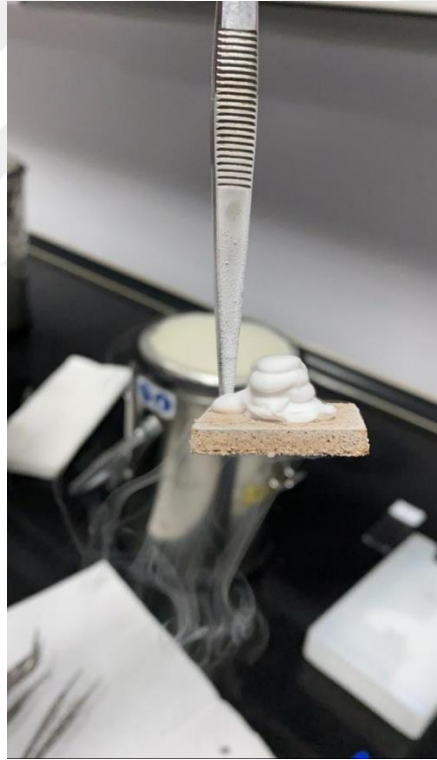


**Şekil 3.2.** Ventilasyon ölçümlerinin anlık kayıt görüntüsü.

### **Doku Perfüzyonu, Dokuların Çıkarılması ve Kesitlerinin Alınması**

WBP ölçümünün sonrasında deney gruplarındaki sıçanlar anestezi altına alınmıştır. Ağrı uyarımı parmak uçlarından verilmiştir. Tepki alınmaması üzerine anestezi hali doğrulanmıştır. Ötanazinin sonrasında intraperitoneal (i.p.) olarak 0.4 ml heparin (1000 ünite/ml) verilmiştir. Birkaç dakika beklenilmiştir. Vücuttaki tüm kan uzaklaştırılana kadar sıçanlar sol ventrikül/aortik kateterizasyon ile tuz tamponu (0.01 M, PBS tablet, Sigma Aldrich pH= 7.4) ile perfüze edilmiştir. Sonrasında ise %4' lük paraformaldehit tamponuyla perfüze edilmiştir. Perfüzyonun ardından NTS

bölge için beyin sapı medulla ve frenik motor nöron analizi için ise spinal kord (C3-C5) dokuları çıkartılmıştır. Çıkarılan bu dokular bir ya da iki gün +4°C derecede bulunan PBS içinde çözünmüş %2'lik paraformaldehit tamponu içine konulmuştur. Sonrasında PBS'te çözünmüş %30'luk sükröz çözeltisine dokular geçirilmiştir. Bu solüsyon içerisinde doku batana kadar +4°C'de 2 ya da 3 gün bekletilmiştir. Dokular teneke kutu içerisinde bulunan sıvı nitrojen kabına sarkıtılarak bir mantar parçasına otutturulmuştur. Doku yapıştırıcı O.C.T. Compound ile izopentan içerisinde dondurulma işlemi tamamlanmıştır. Dondurulan dokular -80 0°C derecede saklanmıştır. Tüm dokular hazır olduğunda transvers kesitleri almak için -20°C derecedeki donduruculu karyostat kullanılmıştır. Bu kesitler 20 µm kalınlığında alınmıştır. Tüm dokular daha sonra immüno Floresan boyama yöntemi çalışılmak için -20°C derecede muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.3.** Doku preparatları bir mantar parçasına otutturularak doku yapıştırıcı O.C.T. Compound ile dondurulma işlemi.



**Şekil 3.4.** Donduruculu karyostat kullanılarak  $-20^{\circ}\text{C}$  derecede  $20\ \mu\text{m}$  kalınlığında transvers kesitler alınma işlemi.

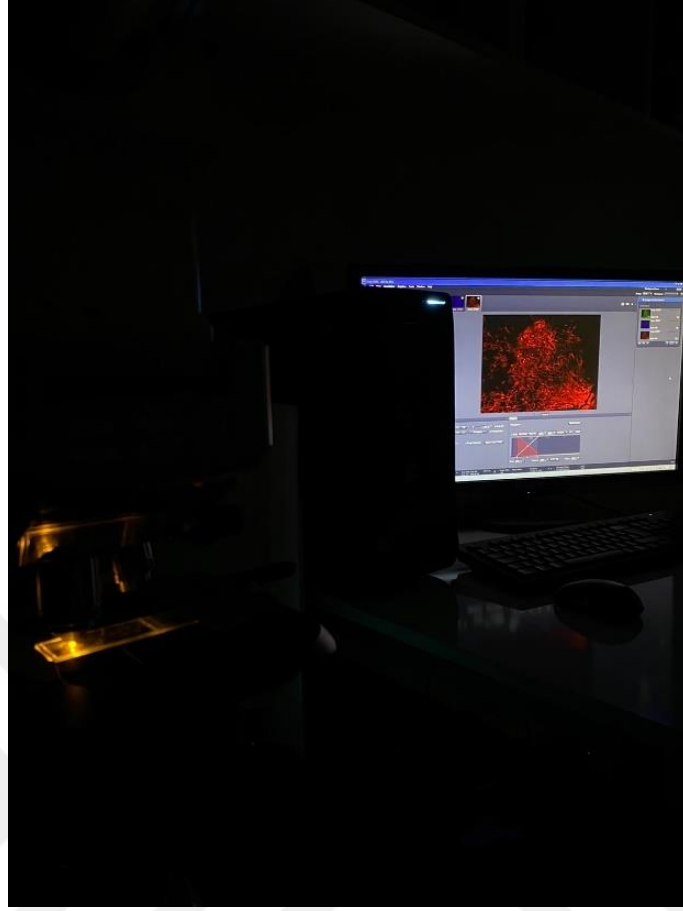
### **İmmunofloresan Boyama ve Floresan Mikroskopla Görüntüleme İşlemi**

Gruplardaki sıçanlardan alınıp sabitlenmiş olan medulla ve spinal kord kesitleri 10 slaytın üzerine yerleştirilmiştir. 10 slayttan 7 tanesi analiz için kullanılmıştır. 3 tanesi de yedek olması için saklanmıştır. Öncelikle doku kesitleri 3 kez x 5 dakika PBS ile yıkanmıştır. Sonrasında membran permeabilizesi amacıyla PBS'te çözülmüş %0.5 Triton X-100 içinde 60 dakika boyunca bekletilmiştir. Permeabilizasyonun sonrasında doku kesitleri PBS ile 3 kez x 5 dakika yeniden yıkanmıştır. Blok tamponu (PBS içinde %5 serum) kullanılarak nonspesifik fluorofor bağlayıcı bölgeler 60 dakika süresince bloklandı. Bloklama işleminin sonrasında slaytlar çıkarılarak solüsyonun fazla kısmının alınması amacıyla özenli bir biçimde slaytın arkası ve etrafı silinmiştir. Sonrasında slatlar nem odalarına konmuş ve BDNF; 1/200 (Invitrogen BDNF Polyclonal Antibody), pERK; 1/200 (Phospho-pERK (Thr982) Polyclonal Antibody) veya pAKT; 1/200 (Phospho-Akt (Ser473) Antibody), konsantrasyonlarında kullanılan primer antitadiler her biri için ayrı ayrı doku kesitlerinin üzerine eklenmiştir. Primer antitadilerin slaytların yüzeyine eklenmesinden sonra nem odalarında  $+4\ ^{\circ}\text{C}$ ' de 48 saat süresince bekletilmiştir.

Antibadi ile işlem görmüş slaytlar PBS ile 3 kez x 5 dakika yıkanmıştır. Sonrasında tekrardan solüsyon fazlalığının giderilmesi için dikkatli bir şekilde slayt arkası ve kenarları silinerek kurulanmıştır. Kurulama işleminin ardından slaytlar nem odalarına yerleştirilmiş ve bu defa sekonder goat anti-rabbit antibodi kokteyli doku kesitlerinin üzerine eklenmiştir. Floroforun ışığın vereceği hasarı önlemek için nem odaları alimünyum folyo kullanılarak kaplanmıştır. Karanlık ortamda bulunan slaytlar 2 saat süresince oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekletilen slaytlar yeniden PBS ile 3 kez x 5 dakika yıkanmıştır. Boyanan doku slaytları DAPI (Thermo, ProLong™ Gold Antifade Mountant with DAPI) ile kaplanıp, gece boyunca kurutulmuş ve kenarları kapatılmıştır. Bu çalışmada; BDNF, pAKT ve pERK hücre içi sinyal kaskadında yer alan proteinlerin NTS ve pMN üzerinde lokalizasyon ve miktar tayini immunofloresan yöntem ile görüntü analizleri yapılmıştır. Görüntülemek için spektral dekonvolüsyon floresan mikroskop (ZEISS AxioScop, Germany) kullanılmıştır ve mikroskopta 10x ve 20x büyütme kesitleri kullanılmıştır. Sıçanlardan alınan beyin sapı kesitlerinden dorsal medulladaki kemosensitif solunum merkezi olarak işlev gören nükleus traktus solitarius (NTS) alanı ve spinal kord kesitlerinden frenik motor nöron alanının görüntüleri alınmıştır. Bütün gruplardan 7 adet primer slayt kesitleri üzerindeki 10 doku kesiti (toplamda her grup için 7 x 10= 70 medulla doku kesiti ve 70 spinal kord doku kesiti) kullanılarak yoğunluk analizi yapılmıştır. Emisyon ayarları DAPI için 425-475nm olarak tespit edilmiştir. Bregmaya göre belirlenen alanlarda; -13.3, -13.5, -13.8, ve -14.08 olmak üzere toplam dört seviyede postrema alanının büyüklüğü işaretleyici olarak kullanılmıştır ve NTS için preparatlar üzerinde hücreler sayılmıştır. Rostral bölüm postrema alanının altında, 4.ventrükülün başlangıcı civarındaki obex seviyesinde (~Bregma - 7.20mm) ve geri kalan bölümler 180µm daha kaudalda (~Bregma-7.40mm) olmak üzere tüm kesitler 3 nükleinin bölümlerini kapsamaktadır. Spinal kord kesitleri için ise frenik sinir bölgesi CtB kullanılarak floresan işaretlenmesi yapılmıştır. Çekilen görüntüler nöronların floresan yoğunluğu kullanılarak Image J (FIJI; software v. 2.0.0) programında analiz edilmiştir.



**Şekil 3.5.** Yıkama öncesinde primer slayt üzerindeki doku kesiti görüntüsü.



**Şekil 3.6.** Spektral dekonvolüsyon floresan mikroskopu kullanılarak 10x ve 20x büyütme ile kesit üzerinde NTS ve frenik motor nöron görüntüleme işlemi.

### **İstatistikler**

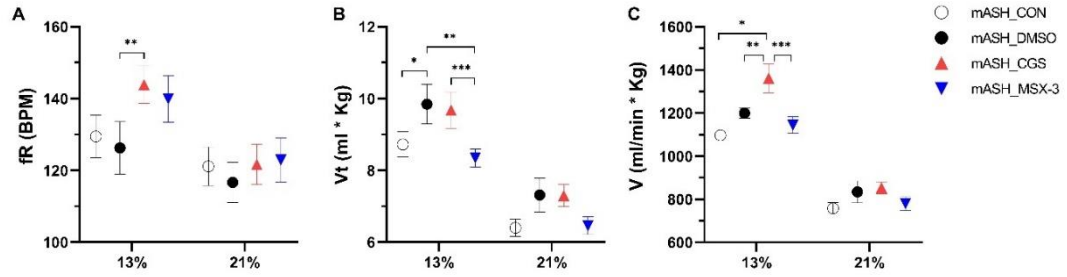
Bütün istatistikler ham veriler üzerinden değerlendirilmiştir. Veriler grup ortalamaları  $\pm$  SEM (ortalamanın standart hatası) şeklinde sunulmuştur. İstatistik Analiz PRISM (Graphpad Software Inc., Version 9.0.1 (221)) programı kullanılarak yapılmıştır (Berry ve ark., 2010). Ventilasyon verileri Bonferroni'nin test sonrası 2-yönlü ANOVA yöntemiyle analiz edilmiştir. Bonferroni'nin test sonrası 2-yönlü ANOVA normoksi ve hipoksi süresince gelişen protein salınımı control grubuna göre i.p. DMSO, i.p. CGS21680 ve i.p. MSX-3 etkisini değerlendirmek için kullanılmıştır. Kullanılan istatistiksel yöntemler, p-değerleri ve semboller her şekil için not edilerek anlamlı olarak kabul edilebilmesi için  $p < 0.05$  değeri elde edilmelidir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Akut Hipoksik Ventilatuvar Cevap

#### 4.1.1. Orta Şiddetli Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevap

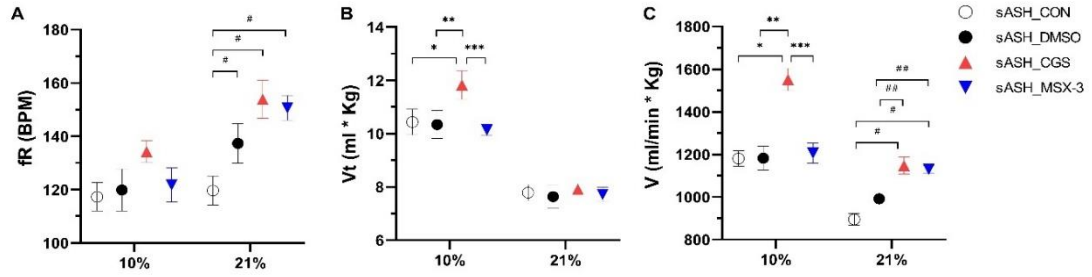
WBP ölçümü öncesinde 7 gün boyunca normoksik ortamda (21% O<sub>2</sub>) A2AR agonist ve antagonisti uygulanan deneklerin 8. günlerinde akut sürekli hipoksiye maruz bıraktık ve normoksik HVR üzerine etkisini iki farklı hipoksi seviyesinde gösterdik. WBP ölçüm protokolüne uygun olarak orta şiddetli akut sürekli hipoksi (mASH) grubu 13% O<sub>2</sub> ve şiddetli akut sürekli hipoksi (sASH) grubu 10% O<sub>2</sub> seviyelerine maruz bırakıldı. Bu iki ana grubun alt gruplarının (CON, DMSO, CGS ve MSX-3) hem grup içi (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2.) hem de hipoksi seviyesine göre gruplar arası karşılaştırmalarının (Şekil 4.3.) ventilasyon (V) ve ventilasyon bileşenleri olan solunum frekansı (fR) ve tidal volüm (Vt) parametrelerindeki değişimleri WBP ölçümü ile gösterildi. mASH grubunun alt gruplarının karşılaştırmasında orta şiddetli akut sürekli hipoksiye maruz kalan deneklerin normoksik HVR ve HVR sonrası normoksi (postHVR) için farklılıklarının gösterilmesi için ventilasyon ve ventilasyon bileşenlerinin değişimleri Şekil 4.1' de gösterildi. Buna göre (A) fR' da hipokside DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı artış bulundu. (B) Vt' de hipokside CON grubuna göre DMSO grubunda ve CGS grubuna göre MSX-3 grubunda anlamlı artış, DMSO grubuna göre MSX-3 grubunda anlamlı azalış bulundu. (C) V' de hipokside CON, DMSO ve MSX-3 grubuna göre CGS grubunda anlamlı artış bulundu. Ventilasyon ve ventilasyon bileşenleri üzerinde mASH sonrasında normoksiye dönüldüğünde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.



**Şekil 4.1.** Orta şiddetli akut sürekli hipoksi (mASH) grubuna ait alt grupların WBP tekrarlayan ölçümleri. (A) Solunum frekansı (fR) orta şiddetli hipoksizde (13% O<sub>2</sub>), DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı artış vardır. Normoksizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. (B) Tidal Volüm (Vt) orta şiddetli hipoksizde (13% O<sub>2</sub>), CON ve MSX-3 gruplarına göre DMSO grubunda, CGS grubunda MSX-3 grubuna göre anlamlı artış vardır. (C) Ventilasyon (V) orta şiddetli hipoksizde (13% O<sub>2</sub>), CGS grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak artış vardır, diğer grupların arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. p<0,05, Ordinary Two Way Anova testi sonrası Bonferroni's multiple comparisons testi. (Kontrol; CON (N=9), Dimetil sülfoksit; DMSO (N=8), A2AR agonisti CGS21680; CGS (N=9), A2AR antagonisti MSX-3; MSX-3 (N=9)).

#### 4.1.2. Şiddetli Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevap

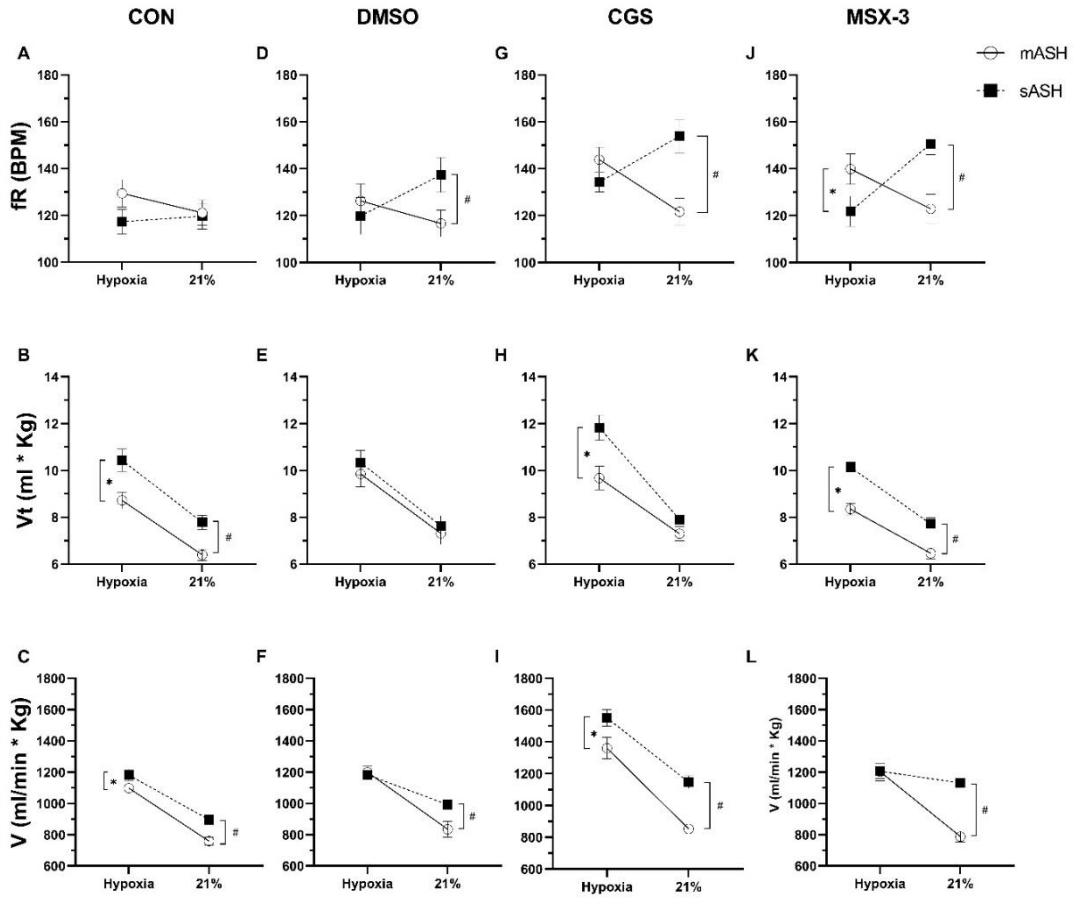
sASH grubunun alt gruplarının karşılaştırmasında şiddetli akut sürekli hipoksiye maruz kalan deneklerin normoksik HVR ve HVR sonrası normoksi (post-HVR) için farklılıklarının gösterilmesi için ventilasyon ve ventilasyon bileşenlerinin değişimleri Şekil 4.2'de gösterildi. Buna göre (A) fR'da hipoksizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. sASH sonrasında normoksiye döndüğünde CON grubuna göre DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında anlamlı artış bulundu. (B) Vt' de, hipoksizde CON, DMSO ve MSX-3 gruplarına göre CGS grubunda anlamlı artış bulundu. sASH sonrasında normoksiye döndüğünde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. (C) V' de hipoksizde CON, DMSO ve MSX-3 grubuna göre CGS grubunda anlamlı artış bulundu. sASH sonrasında normoksiye döndüğünde CON ve DMSO gruplarına göre CGS ve MSX-3 gruplarında anlamlı artış bulundu.



**Şekil 4.2.** Şiddetli akut sürekli hipoksi (sASH) grubuna ait alt grupların WBP tekrarlayan ölçümleri. (A) Solunum frekansı (fR) şiddetli hipoksizde (10% O<sub>2</sub>) gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Normoksizde CON grubuna göre DMSO, MSX-3 ve CGS gruplarında anlamlı artış bulundu. (B) Tidal Volüm (Vt) şiddetli hipoksizde (10% O<sub>2</sub>), CGS grubunda CON, DMSO ve MSX-3 grubuna göre anlamlı artış vardır. Normoksizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. (C) Ventilasyon (V) şiddetli hipoksizde (10% O<sub>2</sub>), CGS grubunda tüm gruplara göre anlamlı artış bulundu. Normoksizde CGS ve MSX-3 gruplarında CON ve DMSO gruplarına göre anlamlı artış bulundu. P < 0,05, Ordinary Two Way Anova testi sonrası Bonferroni's multiple comparisons testi. (Kontrol; CON (N=9), Dimetil sülfoksit; DMSO (N=8), A2AR agonisti CGS21680; CGS (N=8), A2AR antagonisti MSX-3; MSX-3 (N=9)).

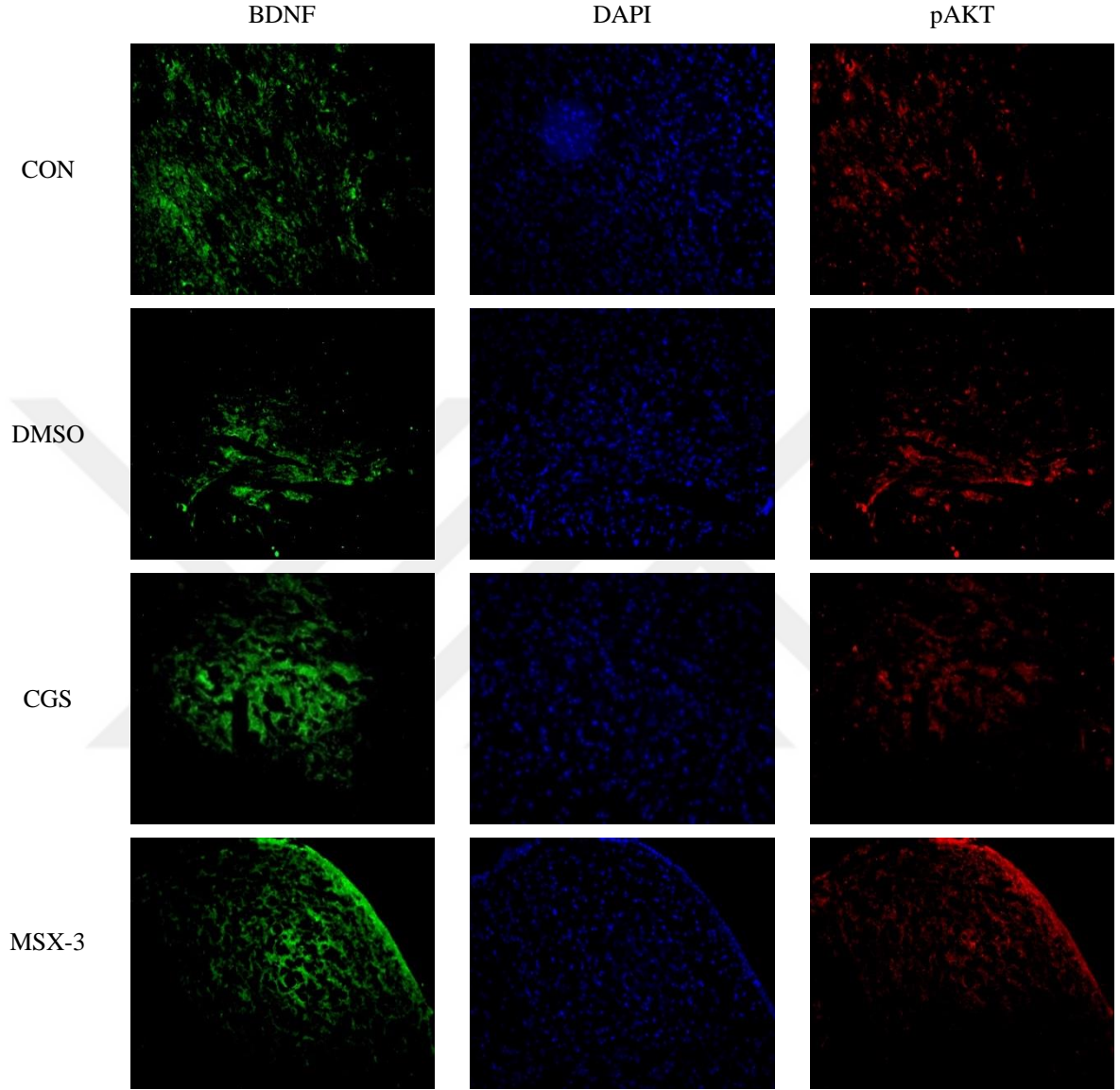
#### 4.1.3. Hipoksik Şiddete Bağımlı Akut Sürekli Hipoksik Ventilatuvar Cevapların Karşılaştırması

Farklı hipoksi seviyelerinde akut sürekli hipoksiye maruz kalan deneklerde agonist/antagonist uygulamasıyla reseptör aktivasyonu veya blokajının hipoksik 30 uyarının şiddetine bağımlı olarak ventilasyon ve ventilasyon bileşenleri üzerindeki değişimlerin gruplar arası karşılaştırmaları Şekil 4.3.'te gösterildi. Orta şiddetli ve şiddetli hipoksi karşılaştırmasında fR'da (Şekil 4.3. (A-D-G-J)) MSX-3 grubunda mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı azalış bulundu. Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Hipoksi sonrasında normoksiye döndüğünde DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı artış bulundu. Orta şiddetli ve şiddetli hipoksi karşılaştırmasında Vt' de (Şekil 4.3. (B-E-H-K)) CON, CGS ve MSX-3 gruplarında mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı artış bulundu. Hipoksi sonrasında normoksiye döndüğünde CON ve MSX-3 gruplarında mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı artış bulundu. Orta şiddetli ve şiddetli hipoksi karşılaştırmasında V' de (Şekil 4.3. (C-F-I-L)) CON ve CGS gruplarında mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı artış bulundu. Hipoksi sonrasında normoksiye döndüğünde tüm gruplarda mASH grubuna göre sASH grubunda anlamlı artış bulundu.



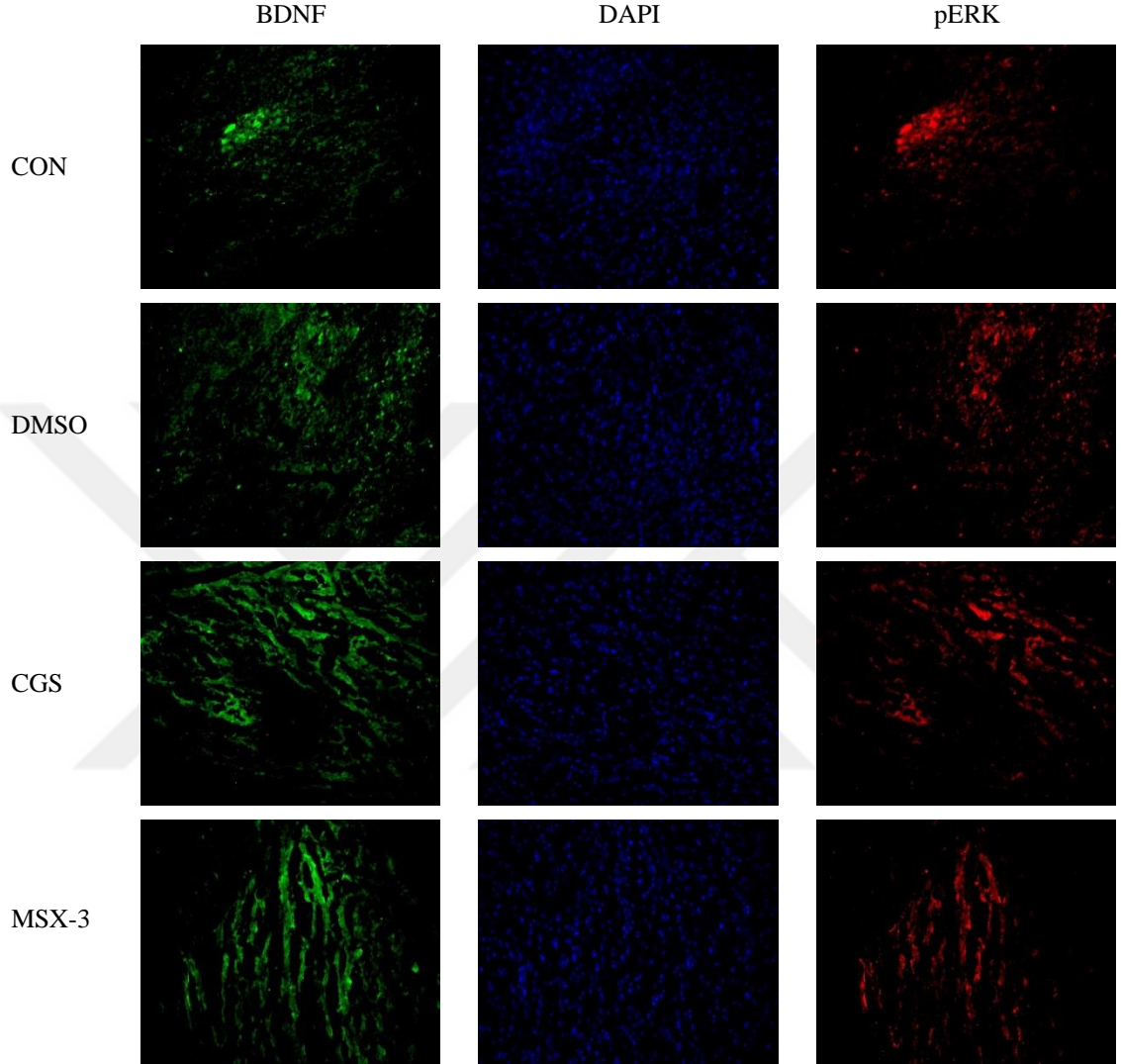
**Şekil 4.3.** Akut sürekli hipoksi gruplarının akut hipoksik şiddete bağımlı WBP tekrarlayan ölçümlerinin karşılaştırması. (A-D-G-J) Solunum frekansı (fR) akut hipoksizde (hypoxia) sadece MSX-3 grubunda mASH' de, sASH' ye göre anlamlı artış vardır. Diğer gruplar arasında hipoksinin şiddetine bağımlı anlamlı bir farklılık bulunmadı. Normoksizde DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında sASH' de, mASH' ye göre anlamlı artış vardır. (B-E-H-K) Tidal Volüm (Vt) akut hipoksizde (hypoxia) CON, CGS ve MSX-3 grubunda sASH' de, mASH' ye göre anlamlı artış vardır. Normoksizde CON ve MSX-3 gruplarında sASH' de, mASH' ye göre anlamlı artış vardır. (C-F-I-L) Ventilasyon (V) akut hipoksizde (hypoxia) CON ve CGS grubunda sASH' de, mASH' ye göre anlamlı artış vardır. Normoksizde tüm gruplarda sASH' de, mASH' ye göre anlamlı artış vardır. (Kontrol; CON, Dimetil sülfoksit; DMSO, A2AR agonisti CGS21680; CGS, A2AR antagonisti MSX-3; MSX-3. mASH; orta şiddetli (13% O<sub>2</sub>) akut hipoksi, sASH; şiddetli (10% O<sub>2</sub>) akut hipoksi, Hypoxia; hipoksi şiddeti (13% veya 10% O<sub>2</sub>)).

#### 4.2. NTS'nin IF görüntüleri



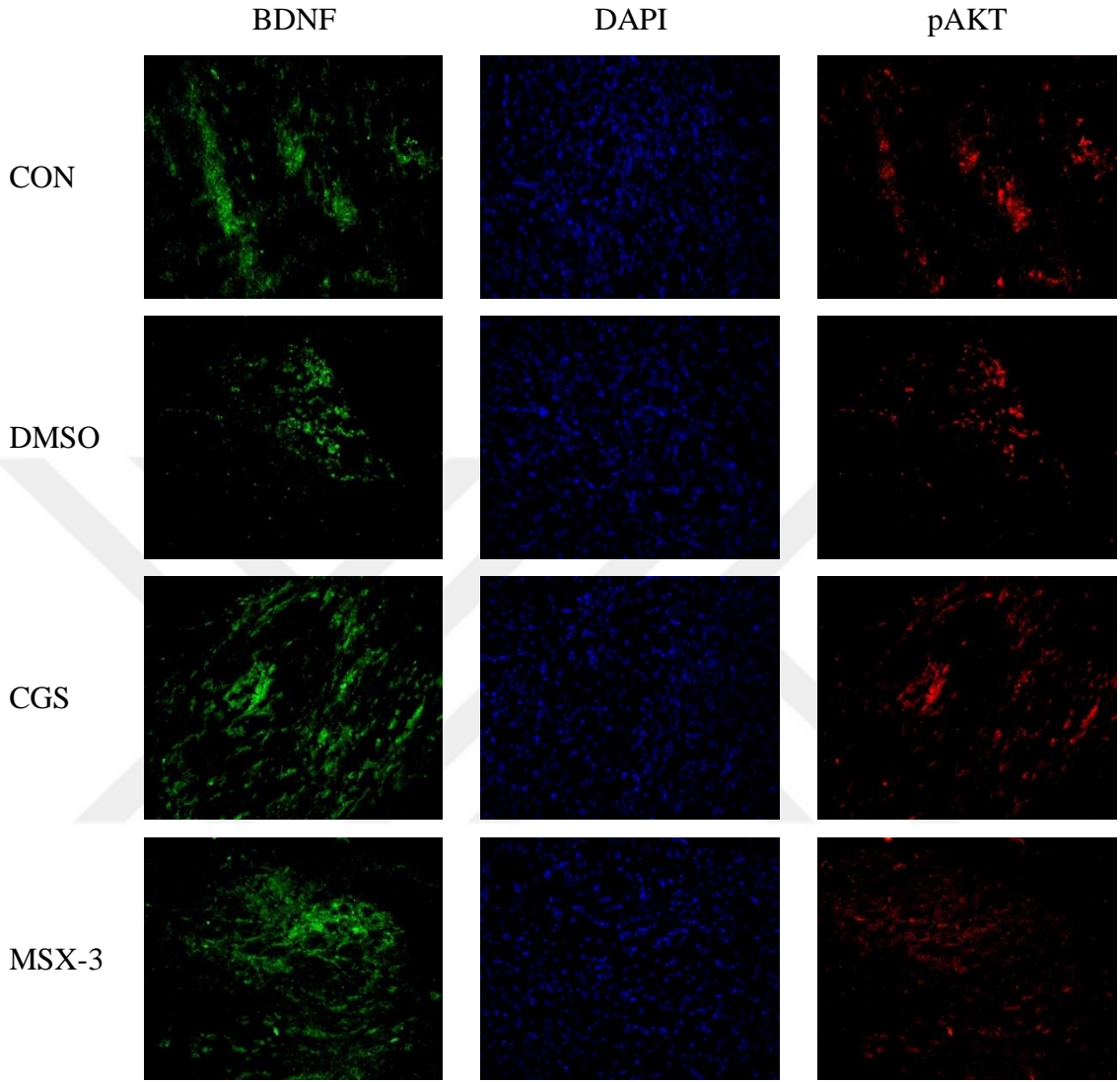
Şekil 4.4. mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS görüntüleri

Şekil 4.4.'te mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında NTS'nin x20'daki görüntüsü verilmiştir.



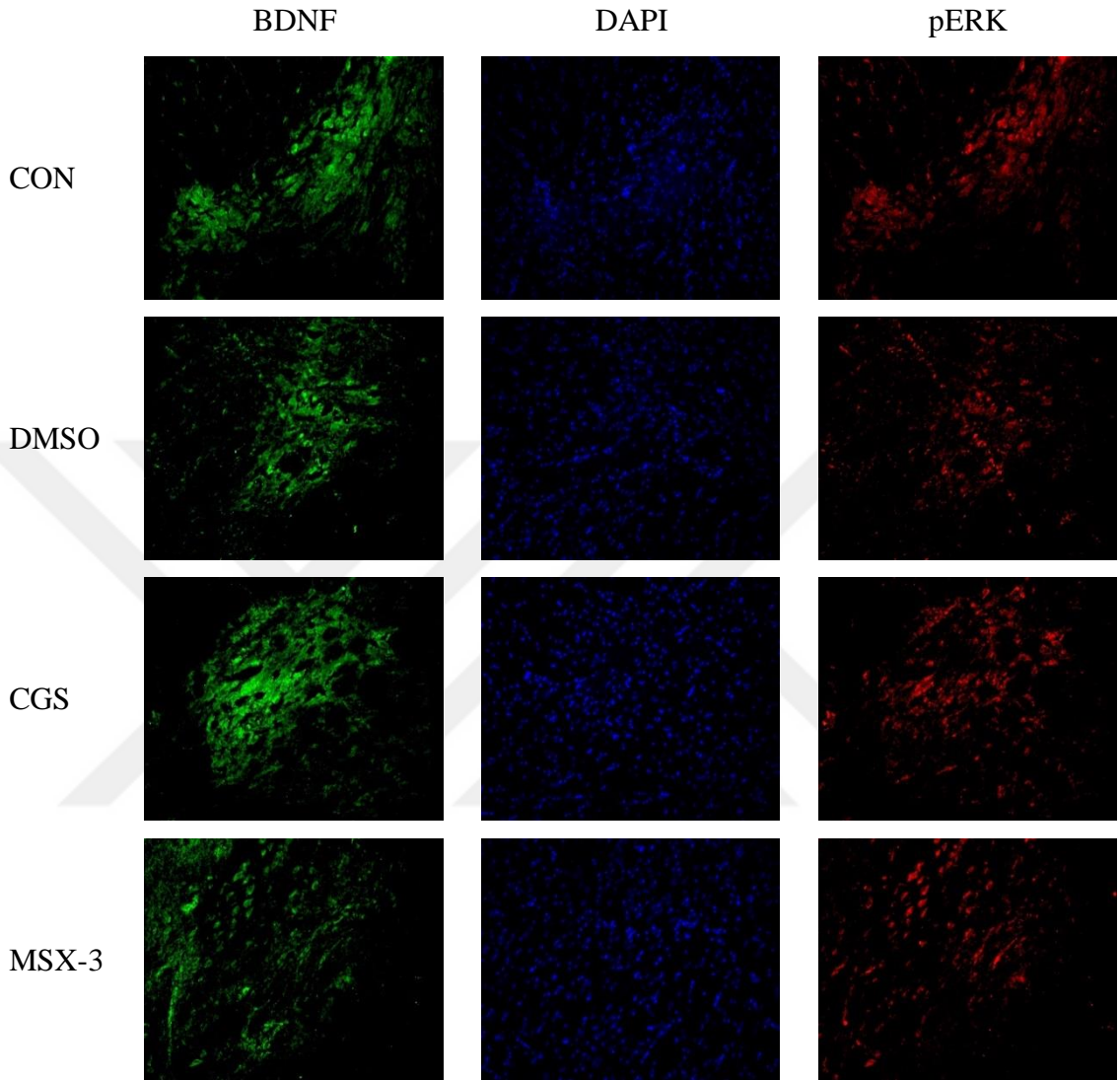
**Şekil 4.5.** mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS görüntüleri

Şekil 4.5.'te mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında NTS'nin x20'daki görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.6.** sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS görüntüleri

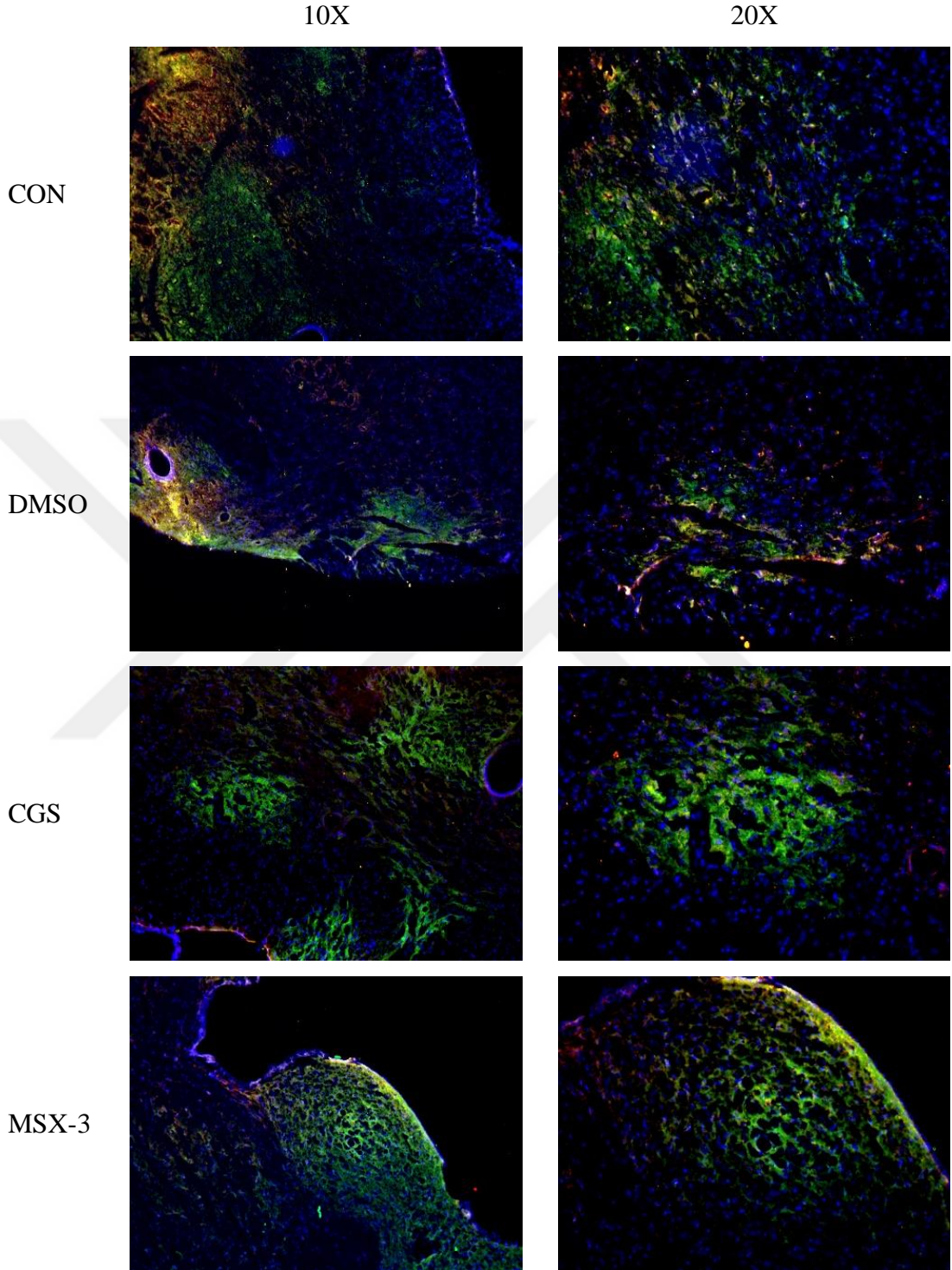
Şekil 4.6.'da sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında NTS'nin x20'daki görüntüsü verilmiştir.



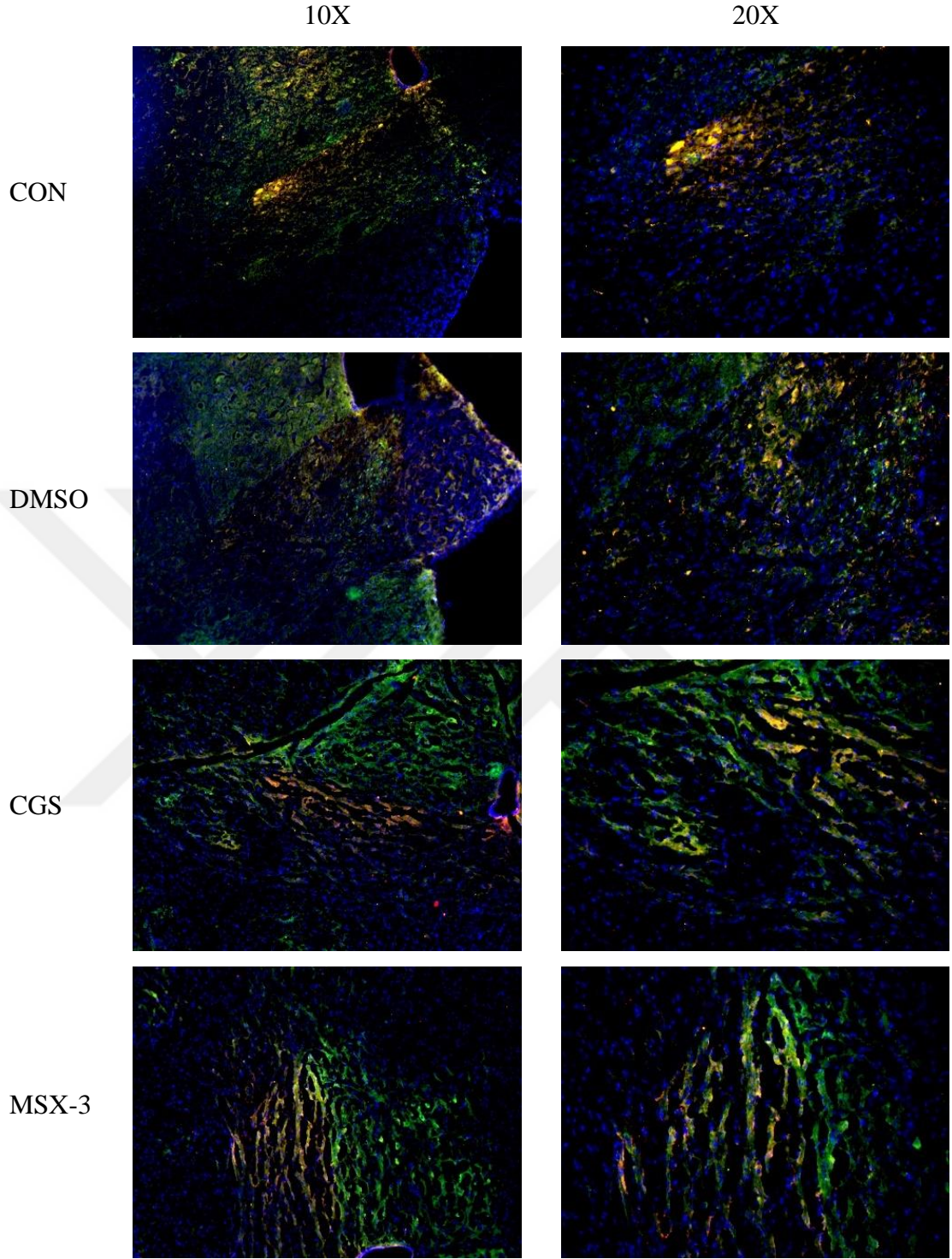
**Şekil 4.7.** sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS görüntüleri

Şekil 4.7.'de sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında NTS'nin x20'daki görüntüsü verilmiştir.

### 4.3. NTS'nin IF Merge Görüntüleri

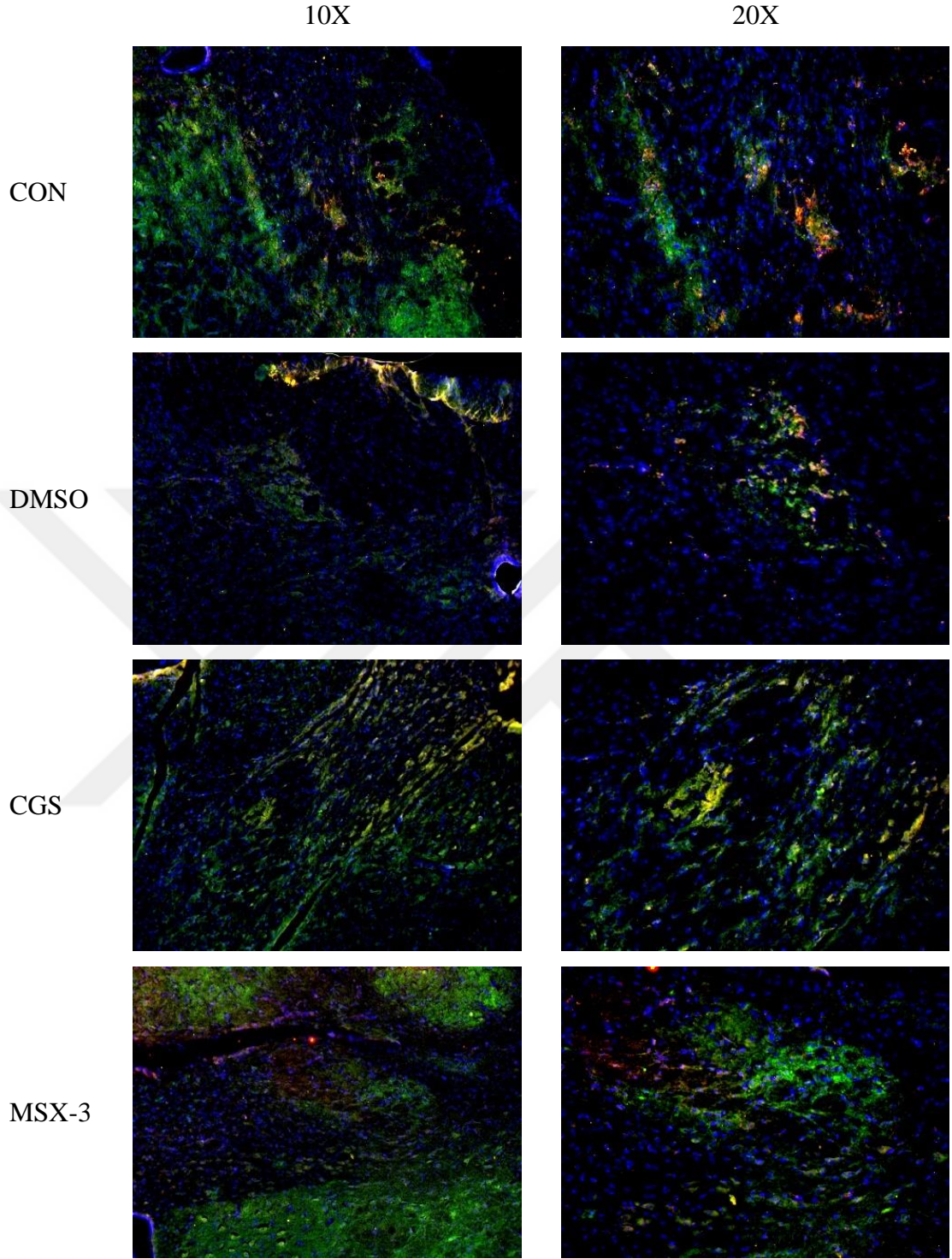


**Şekil 4.8.** mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri  
Şekil 4.8.'de mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında NTS'nin x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



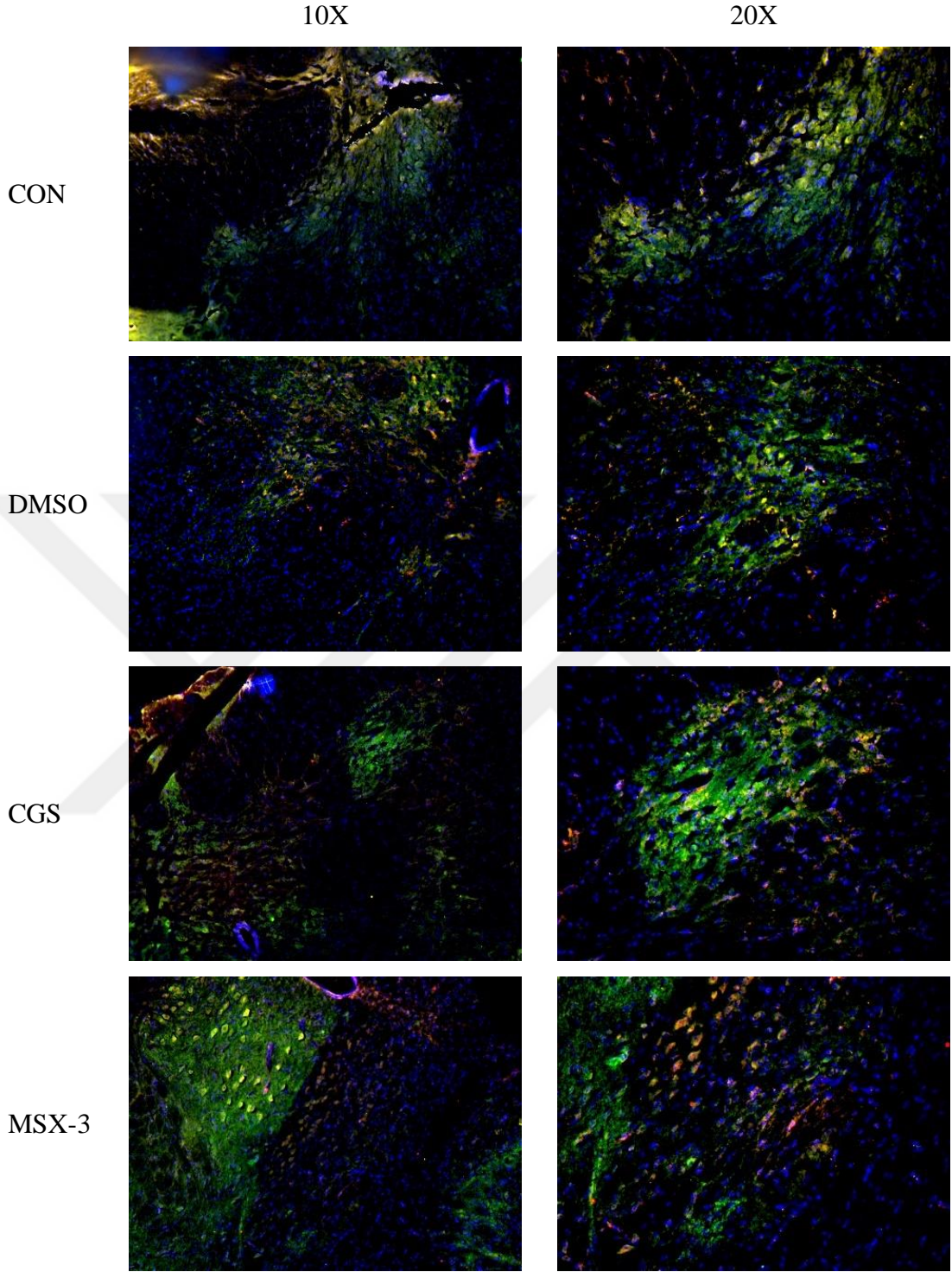
**Şekil 4.9.** mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri

Şekil 4.9.'da mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında NTS'nin x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.10.** sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri

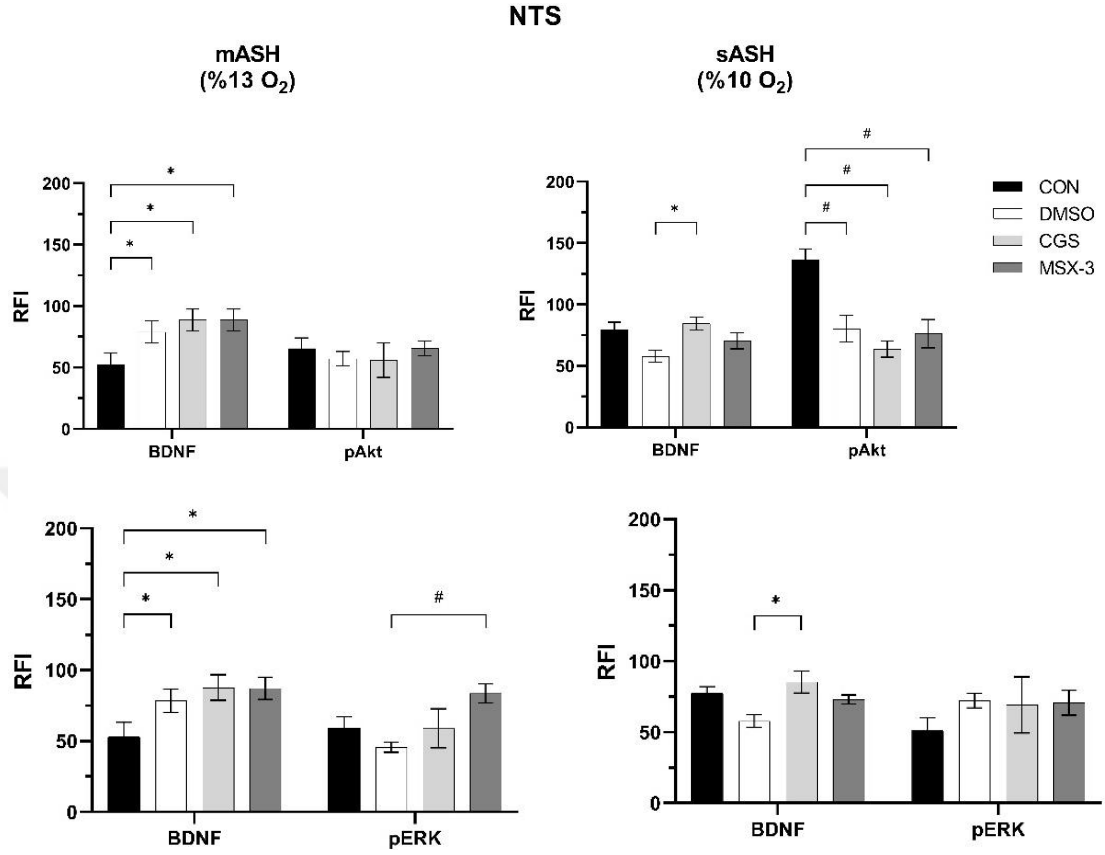
Şekil 4.10.'da sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında NTS'nin x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.11.** sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası NTS'nin merge görüntüleri

Şekil 4.11.'te sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunun CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında NTS'nin x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.

#### 4.4. NTS İçin İstatistik Bulgular



Şekil 4.12. NTS İçin İstatistik Bulguları

Orta şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunda NTS'de BDNF, pAKT boyaması sonucunda BDNF kısmında kontrol grubuna göre DMSO grubunda anlamlı bir artış, kontrol grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış ve kontrol grubuna göre MSX-3 grubunda anlamlı bir artış gözlenirken; pAKT kısmında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

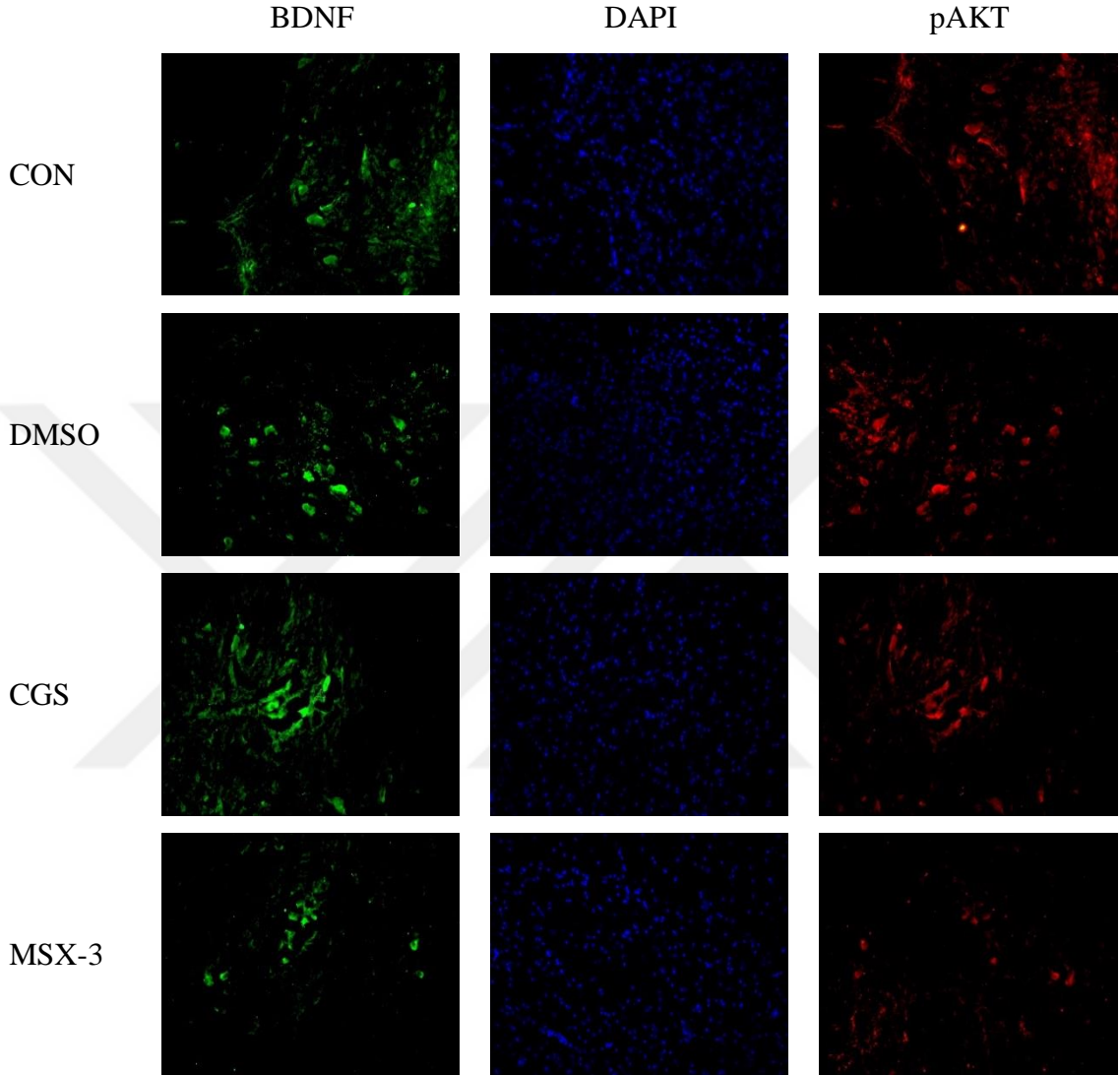
Orta şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunda NTS'de BDNF, pERK boyaması sonucunda BDNF kısmında kontrol grubuna göre DMSO grubunda anlamlı bir artış, kontrol grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış ve kontrol grubuna göre MSX-3 grubunda anlamlı bir artış gözlenirken; pERK kısmında DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış gözlemlendi.

Şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunda NTS'de BDNF, pAKT boyaması sonucunda BDNF kısmında DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış gözlenirken, pAKT kısmında kontrol grubuna göre DMSO grubunda anlamlı bir azalış, kontrol grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir azalış, kontrol grubuna göre MSX-3 grubunda anlamlı bir azalış gözlemlendi.

Şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan beyin sapı dokusunda NTS'de BDNF, pERK boyaması sonucunda BDNF kısmında DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış gözlenirken, pERK kısmında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

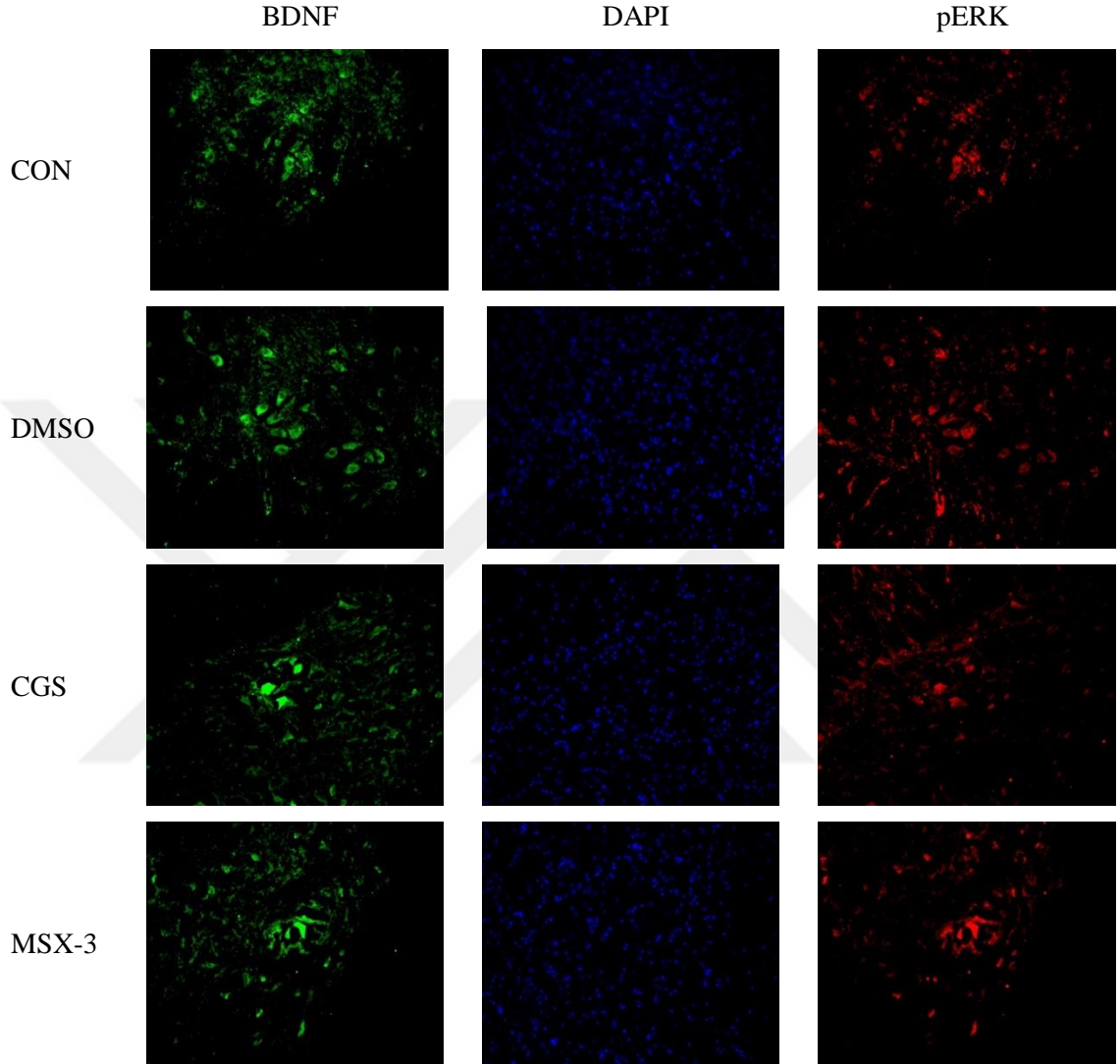


#### 4.5. Frenik Motor Nöronun IF Görüntüleri



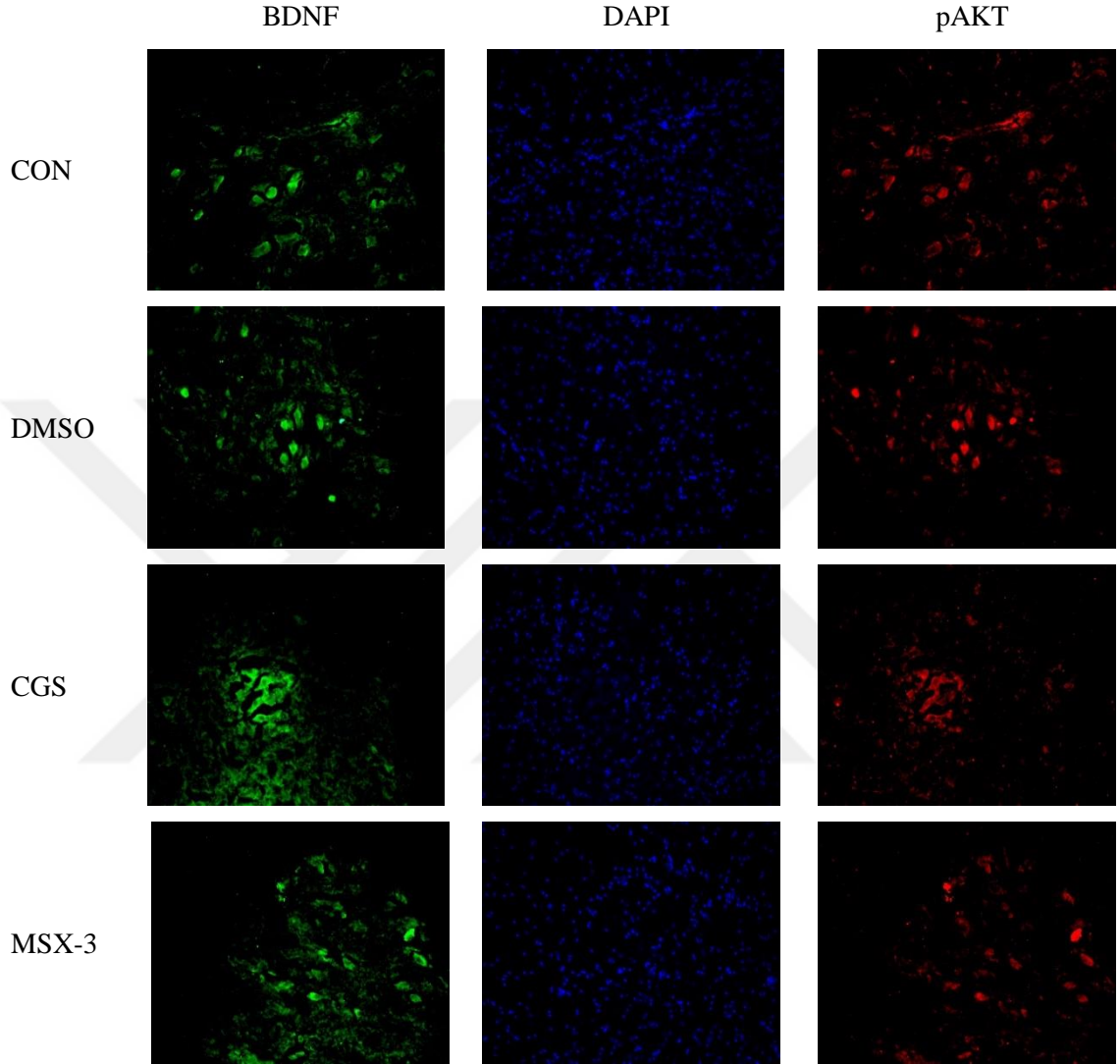
**Şekil 4.13.** mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası pMN görüntüleri

Şekil 4.13.'te mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x20'deki görüntüsü verilmiştir.



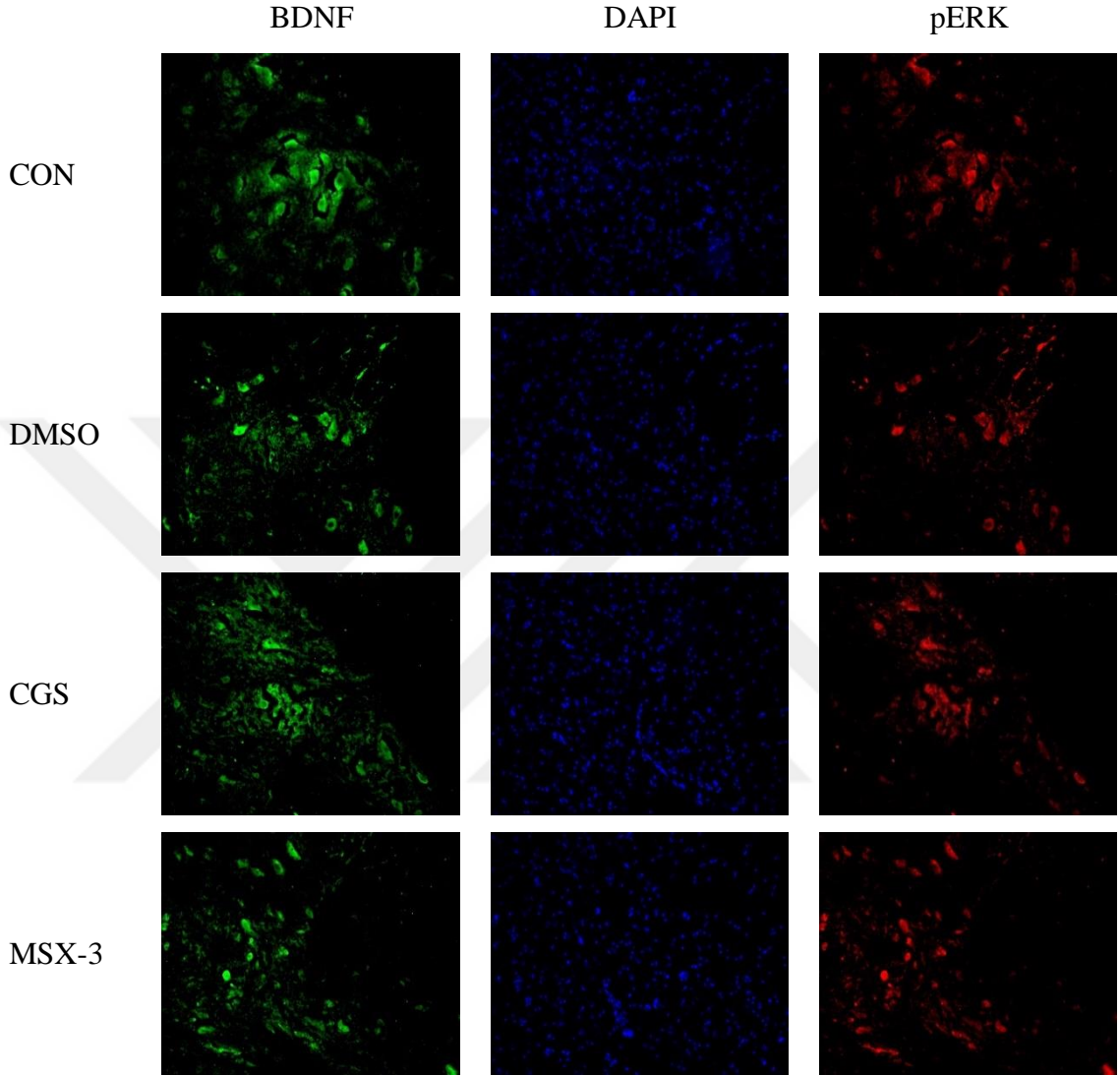
**Şekil 4.14.** mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası pMN görüntüleri

Şekil 4.14.'te mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x20'deki görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.15.** sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası pMN görüntüleri

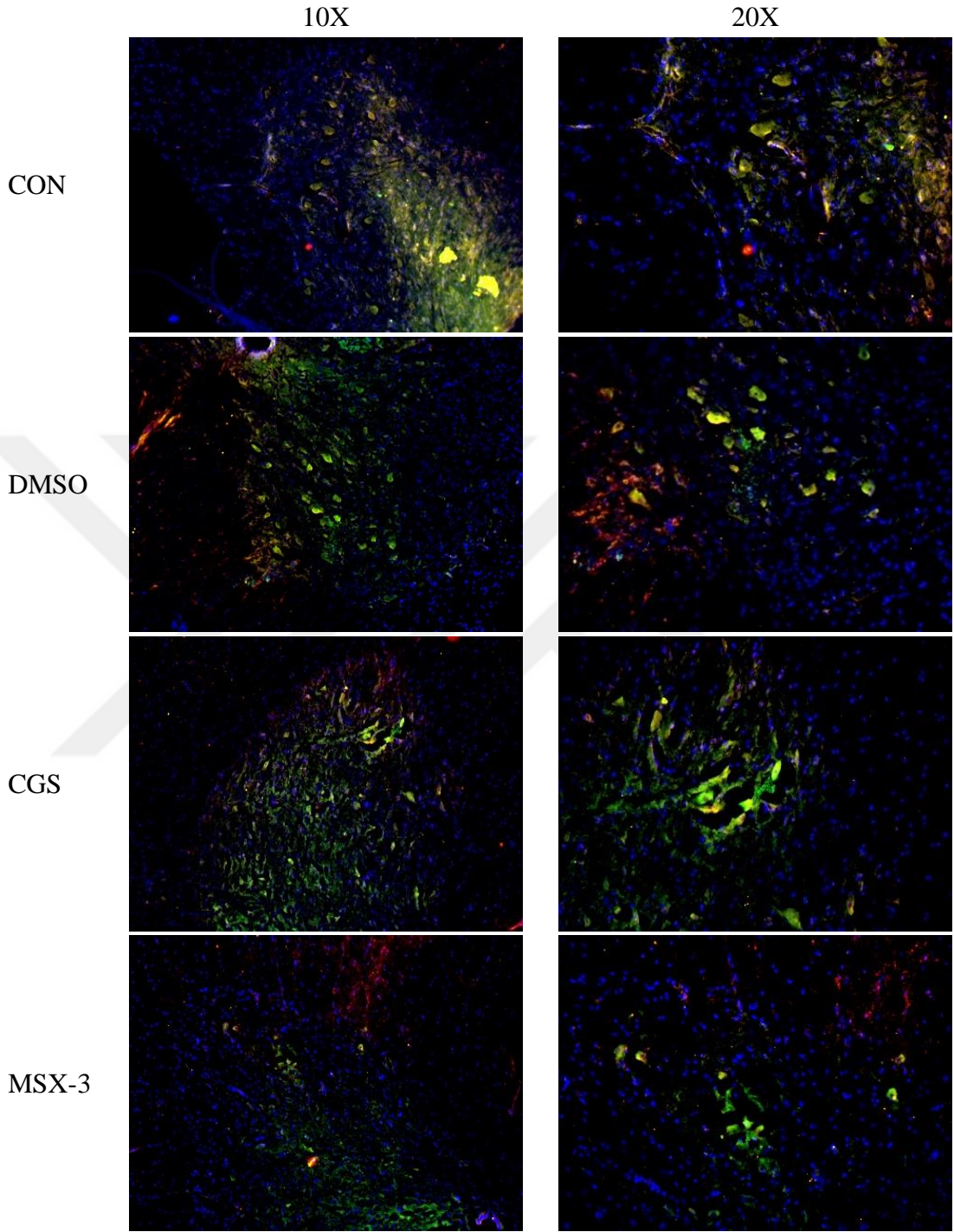
Şekil 4.15.'te sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x20'deki görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.16.** sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası pMN görüntüleri

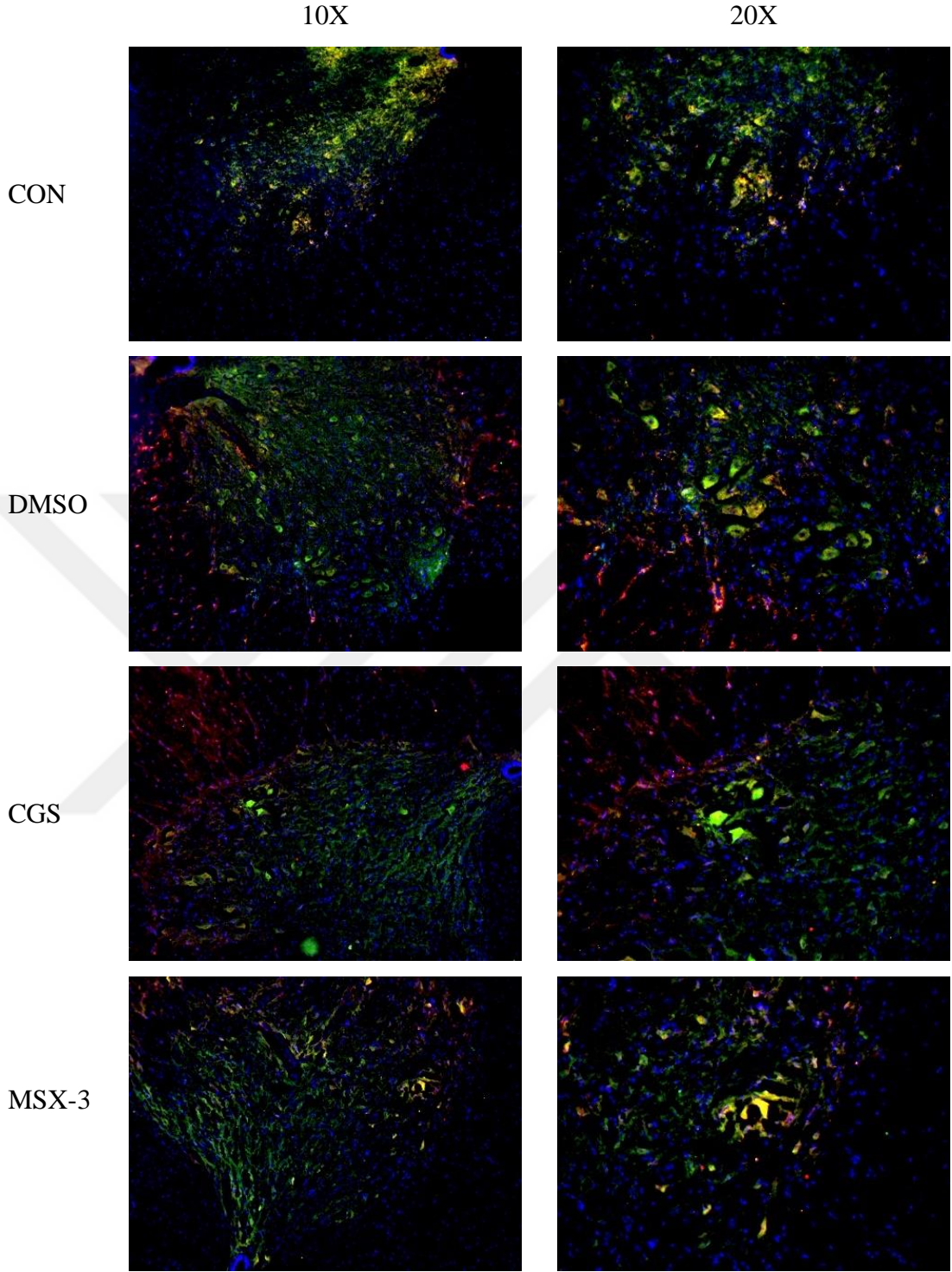
Şekil 4.16.'da sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x20'deki görüntüsü verilmiştir.

#### 4.6. Frenik Motor Nöronun IF Merge Görüntüleri



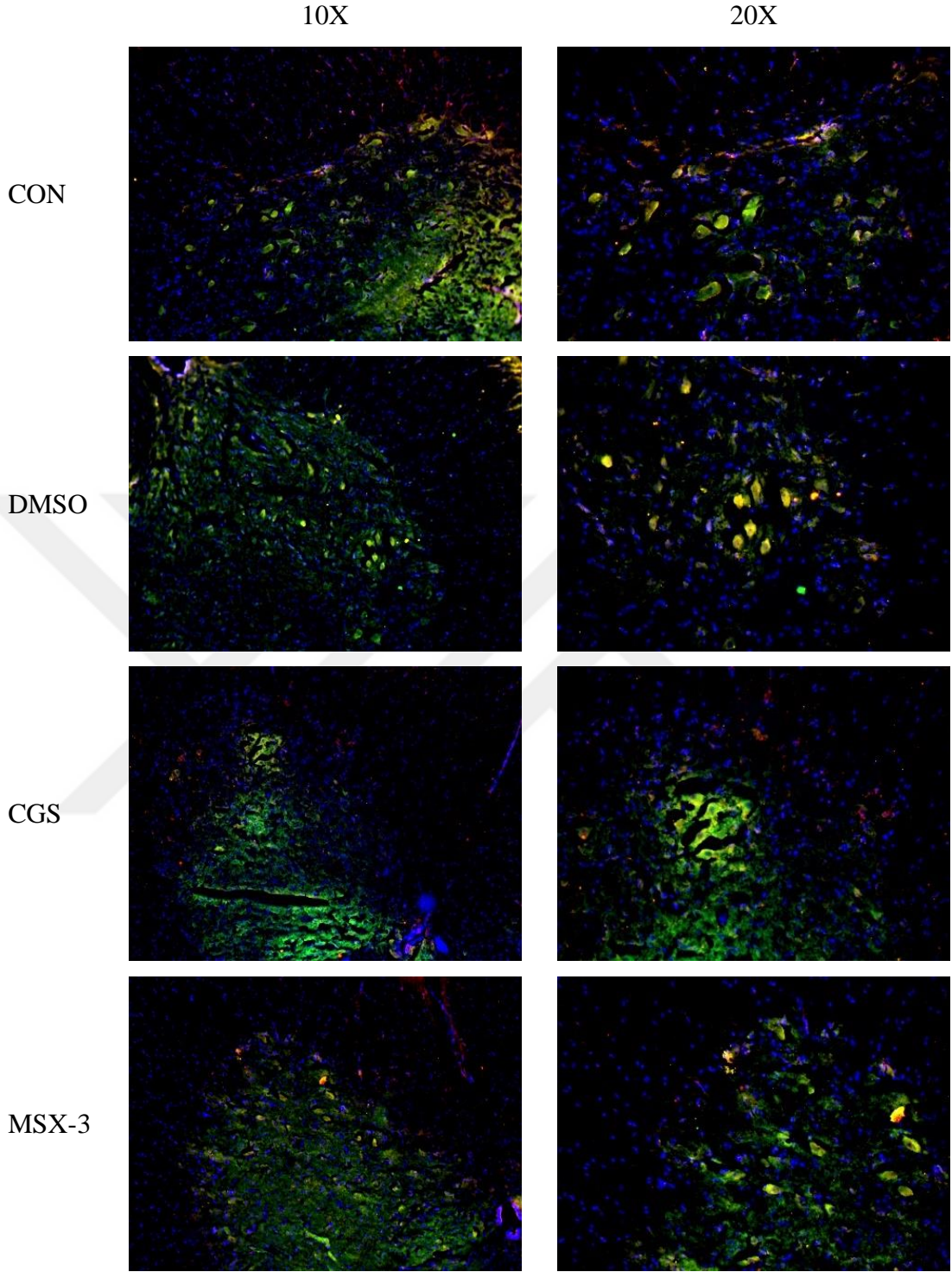
Şekil 4.17. mASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası merge pMN görüntüleri

Şekil 4.17.'de mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



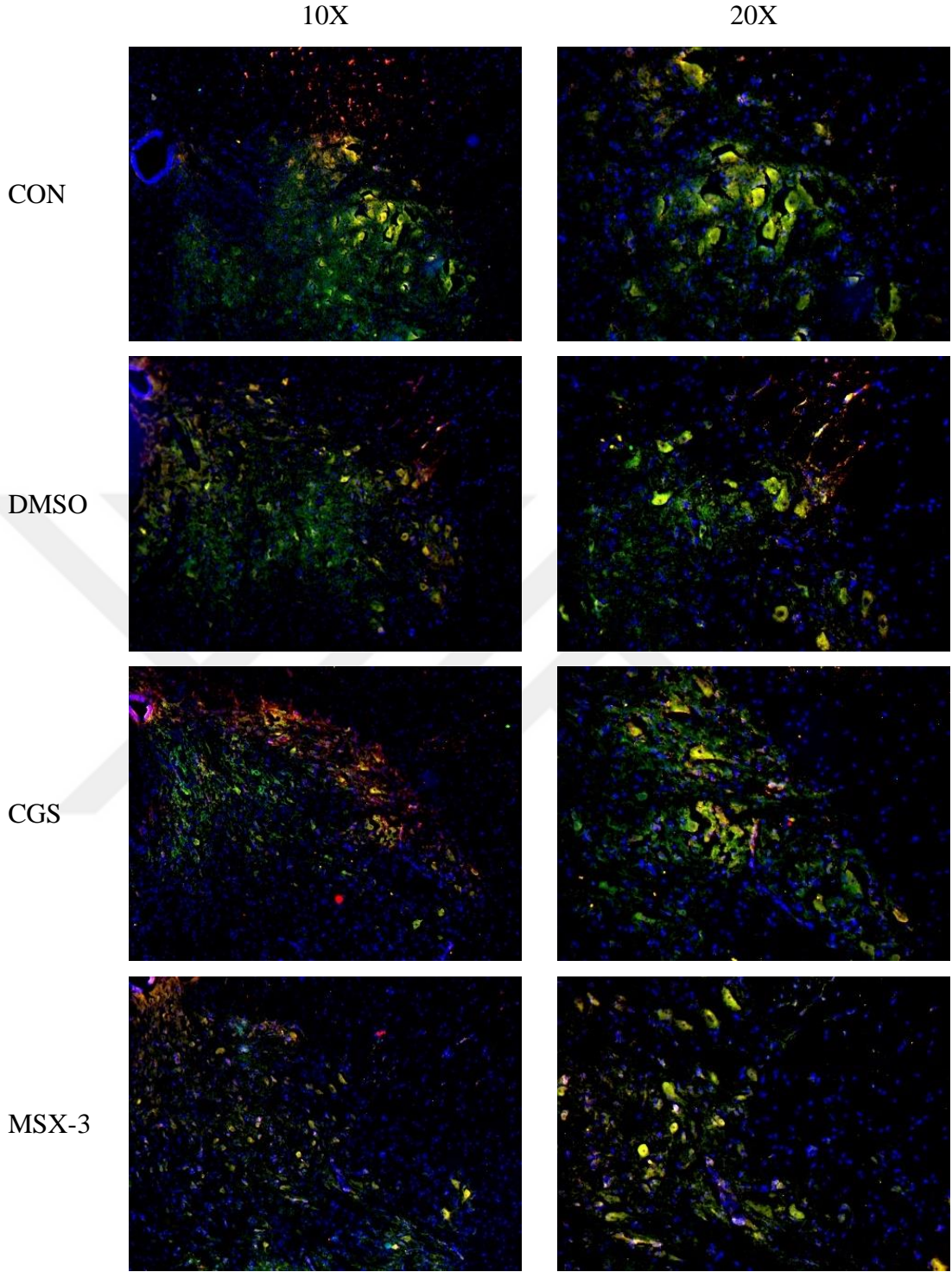
**Şekil 4.18.** mASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası merge pMN görüntüleri

Şekil 4.18.'te mASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



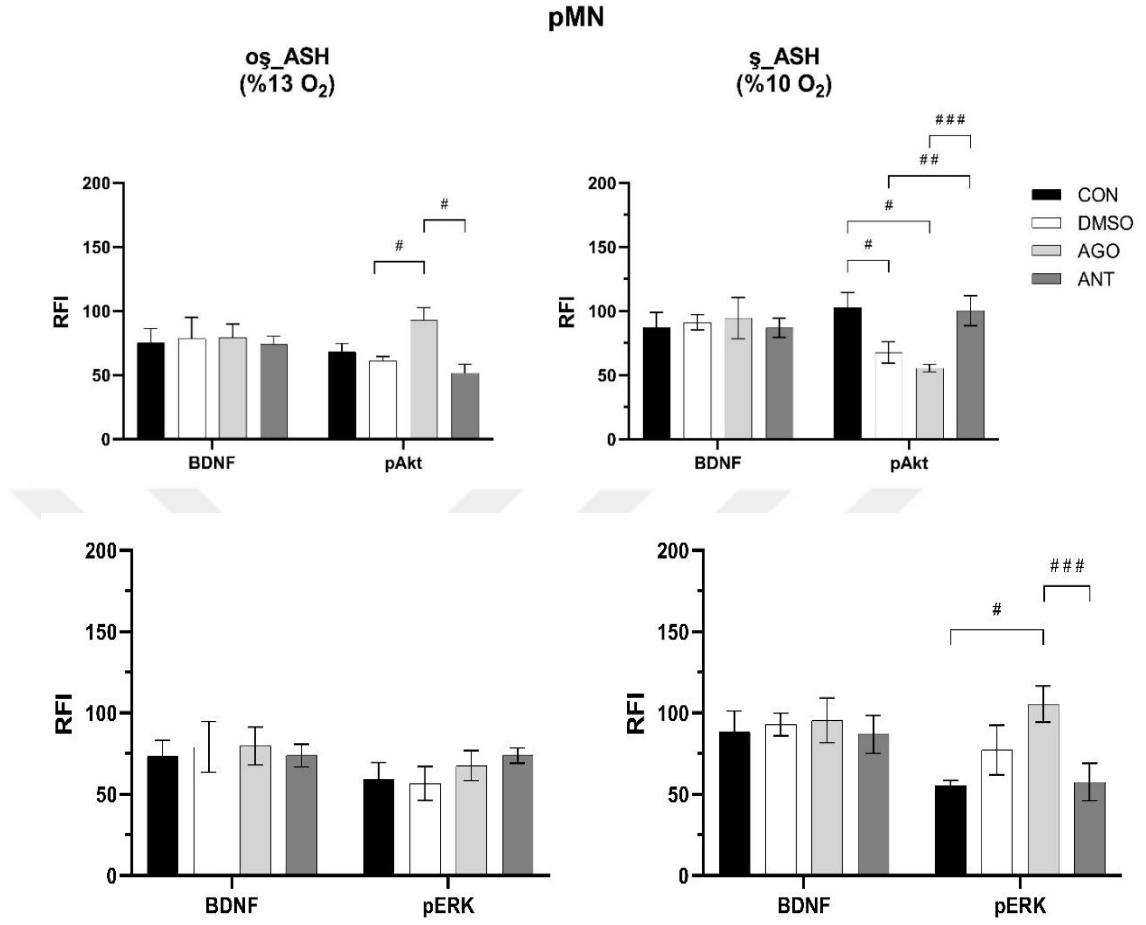
**Şekil 4.19.** sASH grubunda BDNF-pAKT boyaması sonrası merge pMN görüntüleri

Şekil 4.19.'da sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pAKT boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.20.** sASH grubunda BDNF-pERK boyaması sonrası merge pMN görüntüleri  
Şekil 4.20.'de sASH grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) CON (Kontrol), DMSO, CGS ve MSX-3 gruplarında BDNF, DAPI ve pERK boyaması sonrasında Frenik sinirin geçtiği motor nöronların x10'daki ve x20'deki merge görüntüsü verilmiştir.

#### 4.7. Frenik Motor Nöron İçin İstatistik Bulguları



Şekil 4.21. Frenik Motor Nöron (pMN) İçin İstatistik Bulguları

Orta şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) pMN’da BDNF, pAKT boyaması sonucunda BDNF kısmında anlamlı bir farklılık gözlenmezken; pAKT kısmında DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı bir artış ve agonist grubuna göre antagonist grubunda anlamlı bir azalış gözlemlendi.

Orta şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) pMN’da BDNF, pERK boyaması sonucunda BDNF kısmında ve pERK kısmında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi.

Şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) pMN’da BDNF, pAKT boyaması sonucunda BDNF kısmında anlamlı bir farklılık gözlenmezken; pAKT kısmında kontrol grubunda göre DMSO grubunda

anlamli bir azaliş, kontrol grubuna göre CGS grubunda anlamli bir azaliş, DMSO grubuna göre MSX-3 grubunda anlamli bir artış ve CGS grubuna göre MSX-3 grubunda anlamli bir artış gözlendi.

şiddetli akut sürekli hipoksi grubunda; IF yöntemiyle boyanan omurilik dokusunda (C3-C5) pMN'da BDNF, pERK boyaması sonucunda BDNF kısımda anlamli bir farklılık gözlenmezken; pERK kısımda kontrol grubunda göre CGS grubunda anlamli bir artış ve CGS grubuna göre MSX-3 grubunda anlamli bir azaliş gözlendi.



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Devam eden nefes alma süreci, memeli yaşamı için gerekli olan gaz değişiminin temelini oluşturur. Her bir solunum döngüsü, akciğer şişmesine duyarlı mekanoreseptör geri bildirim ve kan ve dokulardaki gaz bileşimine bağlı kemoreseptör geri bildirim dahil olmak üzere çeşitli modülatör sinyaller tarafından şekillendirilen beyin sapındaki ritmik nöral devrelerin aktivitesinden kaynaklanır (Molkov ve ark., 2017). Memelilerde solunum hareketlerini üreten ritmik nöral aktivite, beyin sapında bulunan özelleşmiş nöronal ağlar solunum merkezi model üreticisi tarafından üretilir. Bu ritmik aktivite, pons ve medullanın tanımlanmış bölgeleri içinde uzamsal olarak dağılmış olan solunum merkezi model üreticisinde yer alan nöronal popülasyonların içsel biyofiziksel özelliklerinden ve aralarındaki sinaptik etkileşimlerden ortaya çıkar (Molkov ve ark., 2017). Normal nefes alma sırasında ritmik motor paterni üç nöral aktivite basamaklarından meydana gelir. Bunlardan ilki inspirasyon, ikincisi inspirasyon sonrası veya ekspirasyonun ilk aşaması, son olarak üçüncüsü ise ekspirasyonun sonraki veya ikinci aşamasıdır (Molkov ve ark., 2017). Bu temel üç fazlı motor model, beyin sapı solunum merkezi model üretici devreleri tarafından yönlendirilen ve kontrol edilen çok sayıda beyin sapı ve spinal motor nöron popülasyonunun koordineli aktivitesini yansıtır. Bu motor çıktı nöronları, üst solunum yollarının kaslarını kontrol eden beyin sapındaki kranial motonöronları (örneğin, hipoglossal, glossofaringeal, laringeal kaslar) ve omurilik düzeyinde solunum pompasının kaslarını innerve eden motonöronları (diyafram, torasik interkostal ve karın kasları) içerir (Molkov ve ark., 2017). Bu aktivite hipoksiye maruziyetle etkilenir. Akut hipoksi ile karotis kemoreseptör aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (Navarrete-Opazo ve Mitchell, 2014). Böylece klasik bir negatif geri besleme döngüsü tarzında nefes almayı arttırır. Bu karmaşık yanıt, farklı zaman

alanlarında işleyen çok sayıda farklı nöral mekanizmayı yansıtır. Bu farklı mekanizmaları farklı şekilde ortaya çıkaran faktörler arasında hipoksi paterni (aralıklı veya sürekli), maruz kalma süresi (dakikalardan günlere) ve hipoksik uyarının şiddeti yer alır. Poikilokapnik hipoksi, hipoksiye bağlı stimülasyonu yansıttığı için hipoksiye verilen ventilatuar yanıtı maskeler ve sonuçta ortaya çıkan hipokapniden ventilatuar inhibisyon ile dengelenir (Navarrete-Opazo ve Mitchell, 2014). Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, sıçanlarda ve farelerde adenozin seviyesini artışıyla beraber ventilasyonun arttığını göstermiştir (Chen ve ark., 2009). Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada ratlar 20 dakika normoksiye ve 20 dakika hipoksiye (%10,5) maruz bırakıldı (Navarrete-Opazo ve ark., 2017). Bu çalışmaya göre; AIH, tek başına veya A2A reseptörü inhibisyonu ile kombinasyon halinde normoksi veya hipoksi sırasında herhangi bir zamanda solunum frekansı üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığı gösterildi. Yani solunum frekansının, A2A antagonisti ile birlikte AIH'dan etkilenmediği belirtildi. A2A inhibisyonun, AIH ile artan tidal hacmi arttırdığı gösterildi. Aynı zamanda A2A reseptörü inhibisyonun, kontralateral diyaframda AIH kaynaklı hipoksi yanıtını ve diyafram motoru iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir (Navarrete-Opazo ve ark., 2017).

Bizim çalışmamızda ise akut sürekli hipoksi (13% O<sub>2</sub> veya 10% O<sub>2</sub>) ve normoksi (%21 O<sub>2</sub>) ortamda A2AR agonist ve antagonisti uygulanan deneklerin hipoksik HVR üzerine etkisini iki farklı akut sürekli hipoksi seviyesinde gösterdik.

Orta şiddetli olarak adlandırdığımız akut sürekli hipoksi grubunun alt gruplarında kontrol ve çalışma grupları arasında; ventilasyonda orta şiddetli hipokside (13% O<sub>2</sub>), CGS grubunda tüm gruplara göre anlamlı bir artış varken, diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı gösterilmiştir. Ventilasyon bileşenlerinden biri olan solunum frekansında, DMSO grubuna göre CGS grubunda anlamlı artış varken, normokside gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirtilmiştir. Bir diğer ventilasyon bileşeni olan tidal volümde ise, CON ve MSX-3 gruplarına göre DMSO grubunda, CGS grubunda MSX-3 grubuna göre anlamlı artış olduğu gösterilmiştir. Adenozin 2A reseptör aktivasyonu ile hem hipoksi hem de normokside ventilasyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak artması, adenozin reseptör aktivasyonunun hem

hipoksidede hem de hipoksiden sonra normoksiye dönüldüğü zaman gerekli olduğunu göstermektedir.

%13'den %10 O<sub>2</sub> seviyesine inilerek hipoksinin şiddetini arttırdığımız akut sürekli hipoksi grubunun alt grubunda kontrol ve çalışma grupları arasında; ventilasyonda CGS grubunda tüm gruplara göre anlamlı artış bulunurken, normoksidede CGS ve MSX-3 gruplarında CON ve DMSO gruplarına göre anlamlı artış bulunduğu gösterilmiştir. Ventilasyon bileşenlerinden biri olan solunum frekansında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, normoksidede CON grubuna göre DMSO, MSX-3 ve CGS gruplarında anlamlı artış bulunduğu belirtilmiştir. Bir diğer ventilasyon bileşeni olan tidal volümde ise, CGS grubunda CON, DMSO ve MSX-3 grubuna göre anlamlı artış varken, normoksidede gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı gösterilmiştir. Buradan edindiğimiz sonuçlara göre hipoksinin şiddetinin artması ile adenozin reseptör agonisti olan CGS grubunun diğer bütün gruplara göre ventilasyondaki artışı hipoksi boyunca adenozin salınımının arttığını göstermektedir

Gq ve Gs protein- bağı reseptör yolları arasında çapraz konuşmayı gösteren çok sayıda literatür vardır (Hoffman ve ark., 2010). Gs -protein-bağı A2a reseptörlerinin, Tirozin kinaz B (TrkB) protein sentezini indüklediğini ve respiratuar motor kontrolü ile bağlantılı servikal spinal bölgelerde olgunlaşmamış TrkB izoformunun transaktivasyonunu indüklediğini göstermektedir. Frenik motonöronlarda veya yakınında TrkB işleminin fonksiyonel sonucu, akut aralıklı hipoksiden sonra BDNF'ye bağı frenik uzun vadeli kolaylaştırmaya benzer süre ve büyüklükte sağlam bir frenik motor kolaylaştırmasıdır (Golder ve ark., 2008). S yolu BDNF sentezinden bağımsızdır ve olgunlaşmamış bir TrkB izoformunun yeni sentezine dayanır. S yolu EPAC, Akt ve mTOR sinyali; Q yolu ERK ve PKCθ gerektirir. Fakat mTOR sinyali gerektirmez. Bu nedenle, pMF'ye giden Q ve S yolları tamamen farklıdır, ancak fenotipik olarak benzer pMF ile sonuçlanır (Agosto-Marlin ve ark., 2017). BDNF'yi küçük, daha kolay iletilen bir molekülle simüle etme yeteneği, A2A reseptör agonistlerinin, örneğin servikal spinal yaralanmanın neden olduğu solunum motor açıklarının tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Golder ve ark., 2008). GPCR antagonistlerinin kronik hipoksi sonrası ile

karşılaştırıldığında farklı etkileri, sırasıyla 5HT2 ve A2A reseptörleri tarafından aktive edilen Gq ve Gs yolları arasındaki çapraz konuşma inhibisyonundaki değişikliklerle açıklanabilir (Moya ve Powell, 2018).

Bu çalışmamızdan aldığımız sonuçlara göre, orta şiddetli akut sürekli hipoksizde (%13) ventilasyonda agonist grubunda (CGS) diğer gruplara göre anlamlı bir artış gözlemlendi. Benzer şekilde orta şiddette akut sürekli hipoksiye maruz bırakılan sıçanların NTS'sinde BDNF yoğunluğunda kontrole göre agonist (CGS) grubunda anlamlı bir artış gözlemlendi. Fakat pAkt grubunda anlamlı bir farklılık gözlenmezken pERK yoğunluğunda DMSO grubuna göre antagonist grubunda (MSX-3) anlamlı bir artış gözlemlendi. NTS'deki BDNF sonuçlarına göre orta şiddetli hipoksizde ventilasyonun Gq yolağıyla dengeli bir artış içinde olabileceğini söyleyebiliriz. pERK sonuçlarına göre ventilasyonda adenosin aktivasyonu ile artış gözlenirken pERK yoğunluğunun adenosin blokajıyla arttığını söyleyebiliriz. Burada yolağın Gq'ya kaymış olabileceğini söyleyebiliriz.

Orta şiddetli akut sürekli hipoksizde (%13) frenik motor nöronlardan aldığımız sonuçlara göre; ventilasyonda agonist (CGS) grubunda kontrol (CON), DMSO ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir artış gözlemlendi. BDNF ve pERK yoğunluğunda anlamlı bir farklılık gözlenmezken, pAkt yoğunluğunun agonist (CGS) grubunda kontrol (CON) ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir artış içinde olduğu gözlemlendi. Buna göre orta şiddetli akut sürekli hipoksi (%13) uygulanan frenik motor nöronlarda pAkt de gördüğümüz benzer sonuçlara bakacak olursak ventilasyonun Gs yolağıyla dengeli bir artış içinde olabileceğini söyleyebiliriz.

Şiddetli akut sürekli hipoksiye (%10) maruz bırakılan sıçanların ventilasyon sonuçlarına göre agonist (CGS) grubunda kontrol (CON), DMSO ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir artış gözlemlendi. Şiddetli akut sürekli hipoksiye maruz kalan sıçanların NTS'sinde BDNF yoğunluğunda benzer şekilde agonist (CGS) grubunda DMSO grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. pAkt yoğunluğunda ise kontrol grubuna göre agonist (CGS) grubunda anlamlı bir azalış gözlenmekteyken pERK sonuçlarında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. BDNF sonuçlarından yola çıkararak; şiddetli akut sürekli hipoksiye maruziyet sonrasında

NTS'de BDNF yoğunluğunun dengeli bir ilişkisinden söz edebiliriz ama pERK'te anlamlı bir farklılık olmadığı için bu dengelenmiş ilişkinin pERK'i aktive etmeye yetecek kadar yüksek olmadığını söyleyebiliriz. pAkt sonuçlarından yola çıkacak olursak şiddetli akut sürekli hipoksiye maruziyet sonrasında ventilasyonun adenozin aktivasyonunun artışıyla arttığını ama pAkt yoğunluğunun, adenozin agonisti (CGS) grubunda anlamlı bir azalış içinde olduğunu ifade edebiliriz. Yani burada hipoksi şiddeti arttıkça Akt yoğunluğunun önce artıp sonra dengelenmesinden bahsedebiliriz. Buna göre yolağın pAkt'den pERK'e doğru kaymış olabileceğini söyleyebiliriz.

Şiddetli akut sürekli hipoksiye (%10) maruz bırakılan sıçanların Frenik motor nöronlarından aldığımız sonuçlara göre ventilasyon sonuçlarına göre agonist (CGS) grubunda kontrol (CON), DMSO ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir artış gözlemlendi. BDNF yoğunluğunda anlamlı bir farklılık gözlenmezken pAkt yoğunluğunda agonist (CGS) grubunda kontrol (CON) ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir azalış gözlenmiştir. pERK yoğunluğunda ise agonist (CGS) grubunda kontrol (CON) ve antagonist (MSX-3) gruplarına göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. Buna göre şiddetli akut sürekli hipoksiye (%10) bırakılan sıçanların frenik motor nöronlarından edindiğimiz bilgilerle ventilasyonda Gs ve Gq'nun birbirini çapraz konuşma inhibisyonu yoluyla birbirleri üzerindeki zıt etkileşimden bahsedebiliriz.

Bütün sonuçlarımızda biz adenoziyi baskıladığımız ya da aktive ettiğimiz zaman serotoninin nasıl bir etki edeceğini bilemediğimiz için serotoninin sonuçlarımız üzerindeki etkisini öngöremeyiz. Ayrıca ATP duyarlılığının sekonder etkisi yüzünden de sonuçlarımızın etkilenmiş olabileceğini de göz önünde bulundurmanız gerekmektedir. Yani; Adenoziyi ATP adenoziyi monofosfata (AMP) enzimatik kaatabolizması yoluyla oluşturur ve daha sonra ekto'5 nükleotidazlar tarafından adenoziye parçalanır. Adenoziyi kinaz AMP'ye fosforilasyon yoluyla adenoziyi çıkarılmasından esas olarak sorumludur. Hipoksik koşullar altında, hücre dışı boşlukta bir adenoziyi birikmesi olduğunda, HIF-1a gibi hipoksi ile indüklenen faktörler ayrıca ekto'5 nükleotidaz CD73'te bir artışa neden olarak hücre dışı ATP'nin adenoziye parçalanmasına izin verir. Buna göre ATP duyarlılığının sekonder etkisi olarak hücre dışı ATP adenoziyi parçalar ve bu sayede adenoziyi

miktarında azalmaya yol açar. ATP'nin bu özelliği sayesinde de sonuçlarımızı etkileyebileceğini söyleyebiliriz.

Benim tez çalışmam bu konu hakkında yapılmış nadir çalışmalardan biridir. Bu alanda yapılmış çalışma azlığı yüzünden henüz cevap bulamamış çok fazla husus vardır. Bunların giderilmesi için daha fazla çalışmayla konuya açıklık getirmemiz gerektiğini düşünmekteyim.



## 6.KAYNAKLAR

- Aaron EA, Powell FL. Effect of chronic hypoxia on hypoxic ventilatory response in awake ratS. *J of App Phys*, 1993: 74(4); 1635-1640.
- Afzal MS. G proteins: Binary switches in health and disease. *Cent Eur J of Immun*, 2021: 45(3); 364-367. <https://doi.org/10.5114/CEJI.2020.101271>
- Agosto-Marlin IM, Nichols NL, Mitchell GS. Adenosine-dependent phrenic motor facilitation is inflammation resistant. *J of Neurophys*, 2017: 117(2); 836-845. <https://doi.org/10.1152/jn.00619.2016>
- Balbir A, Lee H, Okumura M, Biswal S, Fitzgerald RS, Shirahata M. A search for genes that may confer divergent morphology and function in the carotid body between two strains of mice. *American J of Phys-Lung Cell and Mol Phys*, 2006: 292(3): L704-L715. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00383.2006>.
- Berry MPR, Graham CM, Mcnab FW, Xu Z, Bloch SAA, Oni T, Wilkinson KA, Banchereau R, Skinner J, Wilkinson RJ, Quinn C, Blankenship D, Dhawan R, Cush JJ, Mejias A, Ramilo O, Kon OM, Pascual V, Banchereau J, Garra AO. Transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature*, 2010: 466 (7309); 973-977. <https://doi.org/10.1038/nature09247>
- Borea PA, Gessi S, Merighi S, Vincenzi F, Varani K. Pharmacology of adenosine receptors: The state of the art. *Phys Rev*, 2018: 98(3); 1591-1625. <https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2017>
- Chen CM, Penuelas O, Quinn K, Cheng KC, Li CF, Zhang H, Slutsky AS. Protective effects of adenosine A2A receptor agonist in ventilator-induced lung injury in rats. *Critical care med*, 2009: 37(7): 2235-2241. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181a55273>
- Chen JF, Eltzschig HK, Fredholm BB. Adenosine receptors as drug targets-what are the challenges?. *Nature Rev Drug Disc*, 2013: 12(4); 265-286. <https://doi.org/10.1038/nrd3955>
- Dale-Nagle EA, Hoffman MS, MacFarlane PM, Mitchell GS. Multiple pathways to long-lasting phrenic motor facilitation. *Adv in Exp Med and Bio*, 2010: 669; 225-230. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5692-7\\_45](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5692-7_45)
- Golder FJ, Ranganathan L, Satriotomo I, Hoffman M, Lovett-Barr MR, Watters JJ, Baker-Herman TL, Mitchell GS. Spinal adenosine A2a receptor activation

- elicits long-lasting phrenic motor facilitation. *J of Neuros*, 2008: 28(9); 2033-2042. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3570-07.2008>
- Hoare SRJ, Hughes TE. Biosensor Assays for Measuring the Kinetics of G-Protein and Arrestin-Mediated Signaling in Live Cells. *Assay Gui Man Md*, 2004: 1-35. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34606191>
- Hoffman MS, Golder FJ, Mahamed S, Mitchell GS. Spinal adenosine A2A receptor inhibition enhances phrenic long term facilitation following acute intermittent hypoxia. *J of Phys*, 2010: 588(1); 255-266. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.180075>
- Kirk IP, Richardson PJ. Further characterization of [3H]- CGS 21680 binding sites in the rat striatum and cortex. *British J of Pharm*, 1995: 114(2); 537-543. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb13260.x>
- Kong X, Zuo Y, Huang Y, Ge J. Adenosine A2a receptor agonist CGS2 treatment attenuates cardiopulmonary bypass-associated inflammatory injury in juvenile rats. *Mol Med Rep*, 2019: 20(1); 117-124. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10235>
- Liu YJ, Chen J, Li X, Zhou X, Hu YM, Chu SF, Peng Y, Chen NH. Research progress on adenosine in central nervous system diseases. *CNS Neur & Ther*, 2019: 25(9); 899-910. <https://doi.org/10.1111/cns.13190>
- Lopes LV, Halldner L, Rebola N, Johansson B, Ledent C, Chen JF, Fredholm BB, Cunha RA. Binding of the prototypical adenosine A 2A receptor agonist CGS 21680 to the cerebral cortex of adenosine A 1 and A 2A receptor knockout mice. *British J of Pharm*, 2004: 141(6); 1006-1014. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705692>
- Mengrui W, Lianfu D, Guochun Z. G protein and its signaling pathway in bone development and disease. *Front in Biosc-Land*, 2010; 15(3): 957-985.
- Mitchell GS, Powell FL, Hopkins SR, Milsom WK. Time domains of the hypoxic ventilatory response in awake ducks: Episodic and continuous hypoxia. *Resp Phys*, 2001: 124(2); 117-128. [https://doi.org/10.1016/S0034-5687\(00\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5687(00)00197-3)
- Miyano K, Sudo Y, Yokoyama A, Hisaoka-Nakashima K, Morioka N, Takebayashi M, Nakata Y, Higami Y, Uezono Y. History of the G protein-coupled receptor (GPCR) assays from traditional to a state-of-the-art biosensor assay. *J of Pharm Sci*, 2014: 126(4); 302-309. <https://doi.org/10.1254/jphs.14R13CP>
- Mobbs JI, Belousoff MJ, Harikumar KG, Piper SJ, Xu X, Furness SGB, Venugopal H, Christopoulos A, Danev R, Wootten D, Thal DM, Miller LJ, Sexton PM. Structures of the human cholecystinin 1 (CCK1) receptor bound to Gs and Gq mimetic proteins provide insight into mechanisms of G protein selectivity. *PLoS Bio*, 2021: 19(6); 1-28. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001295>
- Molkov YI, Rubin JE, Rybak IA, Smith JC. Computational Models of the Neural Control of Breathing Graphical abstract HHS Public Access. *Wiley Int Rev: Systems Bio and Med*, 2017: 9(2); 1–33. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1371>. Computational

- Moya EA, Powell FL. Serotonin and adenosine G-protein coupled receptor signaling for ventilatory acclimatization to sustained hypoxia. *Front in Phys*, 2018: 9(7); 1-10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00860>
- Navarrete-Opazo A, Dougherty BJ, Mitchell GS. Enhanced recovery of breathing capacity from combined adenosine 2A receptor inhibition and daily acute intermittent hypoxia after chronic cervical spinal injury. *Exp Neur*, 2017: 287(2); 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.03.026>
- Navarrete-Opazo A, Mitchell GS. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: A matter of dose. *American J of Phys-Reg, Int and Comp Phys*, 2014: 307(10); 1181-1197. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00208.2014>
- Nichols NL, Dale EA, Mitchell GS. Severe acute intermittent hypoxia elicits phrenic long-term facilitation by a novel adenosine-dependent mechanism. *J of App Phys*, 2012: 112(10); 1678-1688. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00060.2012>
- Nichols NL, Mitchell GS. Mechanisms of severe acute intermittent hypoxia-induced phrenic long-term facilitation. *J of Neuro*, 2021: 125(4); 1146-1156. <https://doi.org/10.1152/jn.00691.2020>
- Pamenter ME, Powell FL. Signalling mechanisms of long term facilitation of breathing with intermittent hypoxia. *F1000Prime Rep*, 2013: 5; 1-8. <https://doi.org/10.12703/P5-23>
- Pamenter ME, Powell FL. Time Domains of the Hypoxic Ventilatory Response and Their Molecular Basis. *Comp Phys*, 2016: 6(3); 1345-1385. <https://doi.org/10.1002/CPHY.C150026>
- Powell FL. The influence of chronic hypoxia upon chemoreception. *Resp Phys and Neuro*, 2007: 157(1); 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2007.01.009>
- Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS. Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Resp Phys*, 1998: 112(2); 123-134. [https://doi.org/10.1016/S0034-5687\(98\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0034-5687(98)00026-7)
- Kumar P, Prabhakar NR. Peripheral Chemoreceptors: Function and Plasticity of the Carotid Body. *Compr Phys*, 2014: 2(1); 141-219. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100069>.Peripheral
- Schiffmann SN, Fisone G, Moresco R, Cunha RA, Ferré S. Adenosine A2A receptors and basal ganglia physiology. *Prog in Neuro*, 2007: 83(5); 277-292. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.05.001>
- Van Calker D, Biber K, Domschke K, Serchov T. The role of adenosine receptors in mood and anxiety disorders. *J of Neuroc*, 2019: 151(1); 11-27. <https://doi.org/10.1111/jnc.14841>
- Vaz SH, Lérias SR, Parreira S, Diógenes MJ, Sebastião AM. Adenosine A2A receptor activation is determinant for BDNF actions upon GABA and glutamate release from rat hippocampal synaptosomes. *Purin Sign*, 2015: 11(4); 607-612. <https://doi.org/10.1007/s11302-015-9476-1>
- Worden LT, Shahriari M, Farrar AM, Sink KS, Hockemeyer J, Müller CE, Salamone JD. The adenosine A2A antagonist MSX-3 reverses the effort-related effects of

dopamine blockade: Differential interaction with D1 and D2 family antagonists. *Psychopharm*, 2009; 203(3); 489-499. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1396-0>

Yu JJ, Non AL, Heinrich EC, Gu W, Alcock J, Moya EA, Lawrence ES, Tift MS, Brien KAO, Storz JF, Signore AV, Khudyakov JI, Milsom WK, Wilson SM. Time Domains of Hypoxia Responses and -Omics Insights. *Front in Phys*, 2022; 13(8); 1-25. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.885295>

Zhang L, Shi G. Gq-coupled receptors in autoimmunity. *J of Imm Res*, 2016; 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/3969023>



---

ORJİNALLİK RAPORU

---

%6

BENZERLİK ENDEKSİ

%6

İNTERNET KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

---

BİRİNCİL KAYNAKLAR

---

1

[acikbilim.yok.gov.tr](http://acikbilim.yok.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%4

2

[www.ulusaltezmerkezi.net](http://www.ulusaltezmerkezi.net)

İnternet Kaynağı

<%1

3

"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015

Yayın

<%1

4

[tesisenred.net](http://tesisenred.net)

İnternet Kaynağı

<%1

5

[docksci.com](http://docksci.com)

İnternet Kaynağı

<%1

6

[multiyasam.com](http://multiyasam.com)

İnternet Kaynağı

<%1

7

BAŞARAN, K. Erdem, YILDIZ, Sacide and AYDOĞAN, Sami. "SOLUNUMSAL UZUN SÜRELİ FASİLİTASYONUN SİNYAL MEKANİZMALARI", Fırat Üniversitesi, 2015.

Yayın

<%1

8

[kilis.meb.gov.tr](http://kilis.meb.gov.tr)

İnternet Kaynağı

<%1

---

<b>BÜŞRA TAHTASAKAL</b>	
<b>KARİYER HEDEFİ</b>	
Kısa vadede, literatüre ulusal ve uluslararası alanda daha çok çalışma katmak; Uzun vadede, başarılı ve sevilen bir öğretim üyesi olmak istiyorum.	
<b>EĞİTİM BİLGİLERİ</b>	
İlkokul	ATLAS KOLEJİ (2002-2010)
Lise	SEMA YAZAR ANADOLU LİSESİ (2010-2014)
Lisans	NUH NACİ YAZGAN ÜNİVERSİTESİ / FİZİK TEDAVİ VE REHABİLİTASYON (2014-2018)
Yüksek Lisans	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ / TIP FAKÜLTESİ / FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI (2020-2022)
<b>ÇALIŞMA DENEYİMİ</b>	
	6.06.2016-01.07.2016 - Erü Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümü yaz stajı
	31.07.2017-25.08.2017 - Özel Medical Palace Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümü yaz stajı
	09.10.2017-03.11.2017 - Özel Magnet Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümü
	06.11.2017-01.12.2017 - Erü Tıp Fakültesi Fizik Tedavi Servisi
	04.12.2017-29.12.2017 - Kayseri Devlet Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümü
	26.02.2018-23.03.2018 - Kayseri Devlet Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümü
	26.03.2018-20.04.2018 Erü Tıp Fakültesi Yoğun Bakım

	<p>Üniteleri</p> <p>23.04.2018-18.05.2018 - Erü Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniği</p> <p>16.09.2019- 01.02.2021 – Kayseri Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi</p>
<b>KURS / SERTİFİKA BİLGİSİ</b>	
	<p>2016 – GERİATRİ REHABİLİTASYON SEMİNERİ (Ahi Evran Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi ve Geriatri Fizyoterapistleri Derneği)</p> <p>2018 - MANUAL &amp; MANIPULATIVE PHYSICAL THERAPY and TAPING for PTs (has completed lumbar, cervical and thoracic region manipulation and mobilisation and kinesiologic taping course including its assesment and treatment techniques. This course covered 15 hours clinical anatomy and 15 hours hands-on practicals) -OSMAN ŞAHİN</p> <p>(has succesfully completed 10 hours of the kinesiologic elastic tape program.This course covered kinesiologic taping techniques and clinical taping methods on upper and lower extremity and spine related injuries) -OSMAN ŞAHİN</p> <p>(has attended orthopaedic sports injuries treatment and assessment techniques course.This course covered 16 hours practicals and theory on ankle, knee and hip related injuries) -OSMAN ŞAHİN</p> <p>(has attended orthopaedic sports injuries treatment and assessment techniques course.This course covered 15 hours hands-on practicals and clinical anatomy on shoulder, elbow, hand and cervical spine related injuries) - OSMAN ŞAHİN</p> <p>2018- MANUEL LENF DRENAJ VE ÖLÇÜ ALMA TEKNİKLERİ KURSU –OSMAN ŞAHİN</p> <p>2018 - KUPA TERAPİSİ KURSU –FZT.SEDAT SALLAK</p> <p>2018 - HIRUDOTERAPİ KURSU –FZT.SEDAT SALLAK</p> <p>2018 - CLINICAL PILATES EXERCISE METHOD MODULE 1 - MAT 1</p>

	<p>(has successfully completed the clinical pilates exercise method module 1 – mat 1 course offered by Clinical Pilates Academy after 16 hours of training and has become a certified Pilates İnstructor. The course has confirmed by Clinical Pilates Physiotherapists Association.) – Pt.Mt Pi.Y EMRE UÇAR – Pt.Mt Pi.TUĞÇE TAŞKAYA</p> <p>2018 - SPORDA ALT EXTREMİTE YARALANMALARI SEMPOZYOMU (KTO Karatay Üniversitesi Sürekli Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi)</p> <p>2019 – B1 SEVİYE İNGİLİZCE SERTİFİKASI</p> <p>2019 – İŞARET DİLİ SERTİFİKASI</p>
--	---

