

T.C.
ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT AKCİĞER HASARINDA PERİFERİK BENZODİAZEPİN
RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

ECZ. GÜLCAN KAYNAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. EMİNE YILMAZ SİPAHİ

ZONGULDAK

2011

T.C.
ZONGULDAK KARAEMLAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT AKCİĞER HASARINDA PERİFERİK BENZODİAZEPİN
RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

ECZ. GÜLCAN KAYNAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. EMİNE YILMAZ SİPAHİ

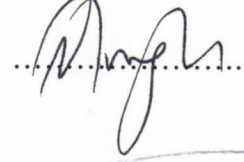
ZONGULDAK

2011

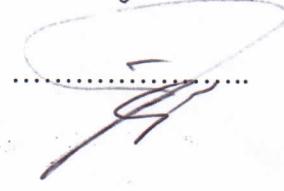
TEZ KABUL ve ONAY:

“AKUT AKCİĞER HASARINDA PERİFERİK BENZODİAZEPİN RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir. 17.01.2011

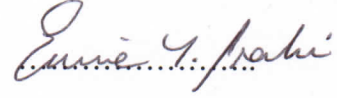
Başkan : Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU



Üye : Doç. Dr. Figen ATALAY



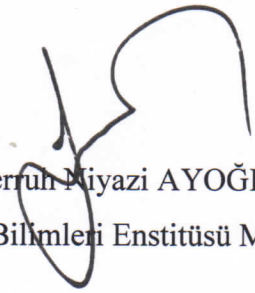
Üye : Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../....



Doç. Dr. Ferruh Miyazi AYOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Vekili

ÖNSÖZ

Bu tezi hazırlamamda, çalışma süresinde ve yapım aşamasında yapıcı ve bilimsel eleştirilerini esirgemeyen her fırsatta bilgi ve deneyimleri ile bana güç ve güven veren saygıdeğer hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında tüm sorularıma anlayışla yaklaşan, bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan saygıdeğer hocalarım, sayın Prof. Dr. Zekiye Nur BANOĞLU'na, sayın Doç. Dr. Zehra KURÇER'e, sayın Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ'e ve sayın Yrd. Doç. Dr. Gamze YURDAKAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Gülcan KAYNAR
Ocak 2011, Zonguldak

ÖZET

Gülcan KAYNAR, Akut Akciğer Hasarında Periferik Benzodiazepin Reseptörlerinin Rolü. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2011.

Bu çalışma, selektif periferik benzodiazepin reseptör agonisti, 4'-klorodiazepamın (Ro 5-4864), α -naftiltiyöre (ANTU) ile oluşturulan akut akciğer hasarındaki etkilerini araştırmak amacıyla planlanmıştır. ANTU sıçanlara i.p olarak 10 mg/kg dozunda verilmiş ve 4 saat içinde maksimum düzeye ulaşan, plevral efüzyon (PE) ve akciğer ağırlığı /vücut ağırlığı oranındaki (AA/VA) artışla karakterize akut akciğer hasarı modeli geliştirilmiştir. Sıçanlara, ANTU'dan 30 dakika önce, 4'-klorodiazepam (0.1, 0.5, 2 ve 4 mg/kg, i.p) uygulanmış ve akut akciğer hasarı üzerine olan etkisi incelenmiştir. ANTU uygulamasından 4 saat sonra göğüs kafesi açılmış, plevral efüzyon mayi toplanmış, akciğer ağırlığı ölçülmüş ve akciğer dokusunun histopatolojik incelemesi yapılmıştır.

4'-klorodiazepam, 2 ve 4 mg/kg dozlarında, AA/VA oranında anlamlı bir azalma oluşturmuş ve akciğer ödemi üzerinde bir koruyuculuk sağlamıştır. 4'-klorodiazepam kullanılan tüm dozlarında, efüzyon gelişimini (PE/VA) istatistiksel anlamlı düzeyde azaltmış ve efüzyon gelişimine karşı koruyuculuk sağlamıştır. Çalışmamızda kullandığımız NMDA reseptör antagonisti MK-801 ise, AA/VA oranında herhangi bir koruyuculuk sağlamamış, plevral efüzyon gelişimini ise anlamlı düzeyde azaltmıştır.

Selektif periferik benzodiazepin reseptör agonisti 4'-klorodiazepam, ANTU ile oluşturulan akciğer ödemi ve efüzyon gelişiminde koruyucu etkinlik göstermiştir. Bu sonuçlar, benzodiazepinlerin, santral sinir sistemindekilerden farklı olarak periferde yerleşmiş olan periferik reseptörleri aracılığıyla akciğer hasar mekanizmalarını etkileyebileceğini göstermektedir. Periferik benzodiazepin reseptörlerinin doku hasarı ve inflamasyon üzerine olan bu olumlu ve koruyucu etkileri, onların akciğer hastalıklarında potansiyel bir ilaç olarak ele alınmalarına olanak sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Akut akciğer hasarı, α -naftiltiyöre, periferik benzodiazepin reseptörü, 4'-klorodiazepam, akciğer ödemi, plevral efüzyon, MK-801

ABSTRACT

Gülcan KAYNAR, The Role of Peripheral Benzodiazepine Receptors on Acute Lung Injury. Zonguldak Karaelmas University, Health Science Institute, Department of Medical Pharmacology, Master of Science Thesis, Zonguldak, 2011.

This study was designed to investigate the effects of selective peripheral benzodiazepine receptor agonist 4'-chlorodiazepam (Ro 5-4864) on acute lung injury induced by α -naphthylthiourea (ANTU).

Injection of ANTU (10 mg/kg i.p.) produced pulmonary edema as indicated by an increase in lung weight/body weight ratio (LW/BW) and pleural effusion (PE) reaching a maximum within 4 h in rat. 4'-chlorodiazepam (0.1, 0.5, 2 and 4 mg/kg, i.p.) carried out to rats 30 min prior to ANTU. In another group, NMDA receptor antagonist, MK-801 (0.3 and 3 mg/kg) carried out to rats 30 min prior to ANTU. The thorax was opened and pleural effusion was carefully collected by suction and measure volumetrically. The lungs were removed and all surrounding tissues were dissected and weighed with an analytical balance.

4'-chlorodiazepam at the doses of 2 and 4 mg/kg, had a prophylactic effect on ANTU-induced pulmonary edema (LW/BW). 4'-chlorodiazepam had a prophylactic effect on ANTU-induced PE formation at all doses and significantly reduced PE and PE/BW ratio. NMDA receptor antagonist, MK-801 had no effect on lung edema, but significantly reduced pleural effusion.

These result suggested that peripheral benzodiazepine receptors play an important role in modulation of acute lung injury induced by ANTU. These results demonstrated that peripheral benzodiazepine receptor agonists may be a novel therapeutic target for the lung diseases including acute lung injury.

Keywords: Acute lung injury, α -naphthylthiourea; peripheral benzodiazepine receptor, 4'-chlorodiazepam, pulmonary edema, pleural effusion, MK-801

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL ve ONAY	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİL DİZİNİ.....	x
TABLO DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akut Akciğer Ödemi	3
2.1.1. Akut akciğer hasarında patogenez.....	5
2.1.2. Akut akciğer hasarı deneysel hayvan modelleri.....	7
2.1.3. α -Naftiltiyöüre (ANTU).....	8
2.2. Benzodiazepinler.....	10
2.2.1. Benzodiazepinlerin etki mekanizmaları	11
2.2.2. Benzodiazepinlerin solunum sistemi üzerine etkileri.....	12
2.2.3. Periferik benzodiazepin reseptörleri.....	13
2.3. Glutamik Asid ve Glutamerjik Reseptörler	14
2.3.1. NMDA reseptörlerinin solunum sistemi üzerine etkileri.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Akut Akciğer Hasarı Deney Modelinin Oluşturulması	16
3.2. Deney Protokolü.....	17
3.3. Kimyasal Maddeler	18
3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	18
4. BULGULAR	19
4.1. Alfa-Naftiltiyöüre'nin Pulmoner Sistem Üzerine Etkisi	19
4.2. 4'Klorodiazepam'ın ANTU Aracılı Akut Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi	19
4.3. MK-801'in ANTU Aracılı Akut Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi.....	20
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	35

7. KAYNAKLAR	36
8. EKLER	43
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	43
9. ÖZGEÇMİŞ.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA/VA	Akciğer ağırlığı/Vücut ağırlığı
AAH	Akut akciğer hasarı
AAH/ASSS	Akut akciğer hasarı / Akut solunum sıkıntısı sendromu
ANTU	Alfa-naftiltiyöre
ASSS	Akut solunum sıkıntısı sendromu
BDR	Benzodiazepin reseptörü
BZ	Benzodiazepin
DDL	Düşük dansiteli lipoprotein
FiO₂	Solunan havadaki fraksiyone O ₂
GABA	gama-aminobütirik asit
GABA_A	gama-aminobütirik asit A reseptörü
GABA_B	gama-aminobütirik asit B reseptörü
IL-1	İnterlökin-1
IL-1β	İnterlökin-1 beta
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
i.p.	intraperitoneal
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginin metil ester
LPS	Lipopolisakkarid
LTB₄	Lökotrien B ₄
NaCl	Sodyum Klorür
NF-kappaB	Nükleer faktör kappaB
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
PaO₂	Parsiyel oksijen basıncı
PE	Plevral efüzyon
PE/VA	Plevral efüzyon/Vücut ağırlığı
SSS	Santral Sinir Sistemi
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TXA₂	Tromboksan A ₂

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-klorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı oranı ($AA/VA \times 10^4$) üzerine olan etkileri.....	21
2. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-klorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, plevral efüzyon miktarı (PE) (ml) üzerine olan etkileri.	22
3. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-klorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, plevral efüzyon/vücut ağırlığı oranı ($PE/VA \times 10^4$) üzerine olan etkileri.....	23
4. Kontrol sıçan akciğeri	24
5. ANTU uygulanan sıçan akciğeri.....	24
6. ANTU + Ro 5-4864 0.1 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri.....	25
7. ANTU + Ro 5-4864 0.5 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri.....	25
8. ANTU + Ro 5-4864 2 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri	26
9. ANTU+ Ro 5-4864 4mg/kg uygulanan sıçan akciğeri.	26
10. ANTU + MK-801 0.3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri.....	27
11. ANTU + MK-801 0.3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri.....	27
12. ANTU + MK-801 3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri	28

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. Deney Grupları	17
2. Tüm Grupların AA/VA Oranları	21
3. Tüm Grupların PE (ml) Değerleri.....	22
4. Tüm Grupların PE/VA Oranları	23

1. GİRİŞ

Akut akciğer hasarı (AAH), yüksek mortalite oranı ile halen yoğun bakım ünitelerinin en ölümcül seyreden hastalıkları arasında ilk sırada yer almaktadır. Fizyopatolojisini, permeabilite artışına ikincil gelişen non-kardiyojenik pulmoner ödem oluşturmaktadır. AAH'da biriken alveoler ödem, esas olarak alveolo (epitel)-kapiller (endotel) bariyerde permeabilite artışına bağlıdır. AAH aynı zamanda, inflamasyon ve artmış permeabilite sendromu olarak da tanımlanmaktadır. Alveolo kapiller ünit'de hasarın agresif inflamatuvar reaksiyon sonucu oluştuğu ileri sürülmektedir (1,2).

AAH'deki alveolo-kapiller membranda bozulmaya neden olan faktörler değişkenlik göstermektedir. Tetikleyici faktörler direkt veya indirekt yolla akciğer dokusuna zarar verebilmektedirler. Akciğer enfeksiyonu, duman-zehirli gaz inhalasyonu, ilaç reaksiyonu, gastrik asit aspirasyonu gibi nedenler direkt hasara yol açarken, sepsis, travma ya da pankreatit gibi nedenler indirekt yollarla akciğerde hasar oluşturabilmektedirler (3-5). Patogeneizde birçok hücrel ve biyokimyasal mediyatörün rol oynadığı gösterilmiştir (6). Toksik oksijen radikallerinin, araşidonik asit metabolitlerinin, sitokinlerin ve nitrik oksitin (NO) hasar mekanizmalarında rol oynadıkları ileri sürülmektedir (7).

Benzodiazepin (BZ) türevleri, santral ve periferik tipte farklı reseptörlerle etkileşirler dolayısıyla, trankilizan, antidepresan, kas gevşetici, antikonvülzan, sedatif, analjezik, antiinflamatuvar ve anksiyolitik etki gibi geniş kullanım alanları bulunmaktadır. BZ'ler, γ -aminobütirik asit (GABA) reseptörü üzerindeki kendilerine özgü BZ bağlanma yerlerine (veya BZ reseptörlerine) bağlanarak farmakolojik etkilerini gösterirler. GABA, santral sinir sisteminin majör inhibitör nörotransmitteridir (8). Benzodiazepinlerin beyinde bulunan santral tipteki reseptörlerinin yanı sıra, beyin dışındaki bazı organlarda periferik tipte reseptörlerinin de bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda santral benzodiazepin reseptör antagonisti flumazenil'in, bazı periferik etkileri bloke etmediği saptanmıştır (9). Bu bulgular, benzodiazepinlerin santral sinir sisteminde bulunan reseptörlerinden farklı ve periferde yerleşim gösteren reseptörlere sahip olduklarını göstermektedir. Santral sinir sisteminin dışında, periferde de GABA

reseptörlerinin (akciğer, pankreas beta hücresi, hipofiz, adrenal hücreler, damar, mesane, uterus, barsak düz kasları, kalp, böbrek, karaciğer ve fibroblast hücresi) bulunduğu ve inhibitör etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (10,11).

Beyin sapında bulunan GABA reseptörleri, akciğerdeki parasempatik aktiviteyi etkilemektedir ve GABA_A ve GABA_B reseptörlerinin, postgangliyonik parasempatik sinirlerin presinaptik uçlarında varlığı gösterilmiştir; bu reseptörler, kolinerjik sinir aktivitesini azaltmaktadır (8) ve bu etki GABA reseptörlerinin bronkodilatör etkinliğini öne çıkarmaktadır.

Benzodiazepinlerin solunum sistemindeki etkilerini inceleyen çalışmalar oldukça az sayıdadır. Benzodiazepin reseptörlerinin uyarılması, solunum yolu düz kas hücresinde hiperpolarizasyona neden olarak, gevşemeye, mevcut obstrüksiyonun ortadan kalkmasına yol açmakta ve gevşemeye neden olan ilaçların etkisini potansiyalize etmektedir. Bu etkileri nedeniyle, hava yolu obstrüksiyonunun (bronkospazm) var olduğu astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında tedavi seçeneği olarak gündeme gelmektedirler.

Santral sinir sistemi (SSS) dışında, periferde bulunan non-nöronal GABA reseptörleri hakkında çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu reseptörlerin akciğer hücre hasarı ve inflamasyonu üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar ise oldukça kısıtlıdır. Benzodiazepinlerin solunum sistemi üzerine olan potansiyel koruyucu etkilerinin ayrıntılı olarak inceleneceği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda, ANTU ile AAH deney modeli oluşturulmuştur. ANTU, akciğer mikrovaskülaritesinde doza bağımlı permeabilite değişikliği yaparak pulmoner ödeme yol açan kimyasal bir ajandır (12). Çalışmamızda selektif periferik benzodiazepin reseptör agonisti 4'-klorodiazepamın (Ro 5-4864), ANTU aracılı AAH üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Akciğer Ödemi

Akut akciğer ödemi, alveollere ve interstisyel alana sıvı dolmasıdır. Sıvının intravasküler alandan interstisyum ve alveolar alana hareketi sonucu meydana gelmektedir. Patofizyolojisinde kapiller hidrostatik basınçta artış, kapiller onkotik basınçta azalma, akciğer kapiller membran geçirgenliğinde artma ve lenfatik akımın azalması izlenmektedir (13). Normal şartlarda interstisyuma gün içinde 500 ml sıvı sızmakta ve lenfatik drenaj ile dolaşıma geri alınmaktadır. Sağlıklı koşullarda, sızan sıvının artması, lenfatik drenajı da artırarak sıvı birikimini engellemeye çalışmaktadır. Ancak, sızan sıvı lenfatik drenaj kapasitesini aştığı zaman, sıvı önce doku aralığına, olay ilerlese alveollere dolmaya başlamaktadır.

Oluşma nedenlerine bağlı olarak iki tip akciğer ödemi tarif edilmektedir, bunlar hidrostatik (kardiyojenik) ödem ve permeabilite (non-kardiyojenik ödem, akut akciğer hasarı) ödemidir (14).

Hidrostatik Ödem (kardiyojenik Ödem): Patofizyolojisindeki mekanizma, pulmoner kapiller hidrostatik basıncındaki artışla ortaya çıkmaktadır. Sol kalp yetmezliği veya aşırı hidrasyon gibi durumlarda sol atrial basıncı artmakta, bu da pulmoner kapiller hidrostatik basınçta artışa neden olmaktadır. Kapiller hidrostatik basınç artışı, interstisyel alana daha fazla sıvı sızmasına neden olur. Fakat alveoler duvarlar arasındaki kollajen ağı ile interstisyel boşluktaki alveoler mikrodamarlar sıkıca sarılmış olduklarından sızıntı, sözü edilen bu alanda ancak çok sınırlı bir miktarda gerçekleşebilmektedir. Ekstraalveoler arterioller ve venüller ise oldukça ince duvarlı olduklarından ve alveoler epitelyum ile desteklenmediklerinden dolayı, bu bölge sıvı sızıntısına daha fazla duyarlıdır. Bu yüzden interstisyel alana sıvı sızıntısı öncelikle ekstraalveoler kısımdaki kapillerlerden başlamaktadır (15).

Permeabilite Ödemi (Nonkardiyojenik Ödem, Akut Akciğer Hasarı) : AAH ve ASSS, teknolojik gelişmelerin getirdiği yeni tedavi olanaklarına karşın, yüksek mortalite oranı ile halen yoğun bakım ünitelerinin en ölümcül seyreden hastalıkları arasında ilk sırada yer almaktadır. Bu tip ödem, endotel hasarı sonucu

membrandan aşırı miktarda sıvı ve protein geçmesi nedeniyle gelişir (1-3,16). Birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkabilen ve her yaşta görülen, mortalitesi yüksek olan, pulmoner kapiller geçirgenliğin artması sonucu oluşan akciğer ödemi ile karakterizedir. Nonkardiyojenik pulmoner ödemde major patofizyolojik olay, alveolo (epitelyum)-kapiller (endotel) bariyerde permeabilite artışı ve alveoler alanda proteince zengin sıvı toplanmasıdır. Zamanla alveoller içinde fibrin ve diğer proteinlerden oluşan hyalen membranlar oluşur. Bu patolojik süreç, hem alveol içinde mevcut olan sürfaktanın fonksiyonunu bozar ve hem de Tip 2 pnömositlerde hasara yol açarak yeni sürfaktan üretimini önler. Böylece alveol içinde yüzey gerilimi düşürülemediği için alveoler kollapsa neden olur. Sonuçta, pulmoner komplians azalır, solunum yükü artar ve bunu oksijenasyonda bozulmaya bağlı solunum sıkıntısı takip eder. Bu patofizyolojik süreç ağır solunum yetmezliğiyle sonuçlanır (2,17).

Vasküler permeabilite artışıyla seyreden, akut ve persistan akciğer inflamasyonu olarak tarif edilen AAH'nin üç klinik özelliği bulunmaktadır:

1. Radyolojik olarak yaygın bilateral infiltratlar,
2. Parsiyel oksijen basıncının, solunan havadaki fraksiyone O_2 'ye oranının (PaO_2/FiO_2) uygulanan pozitif ekspiryum-sonu basıncı (Pozitif End-Expiratory Pressure) (PEEP) düzeyine bakılmaksızın 300 mmHg veya daha altında olması
3. Sol atriyum basıncında artmayı gösteren bulgu olmaması

ASSS ise, tanım olarak akut akciğer hasarı ile hemen hemen aynıdır. Tek farkı, hipokseminin (PaO_2/FiO_2 oranı 200 mmHg veya daha düşüktür) daha derin olmasıdır. Bu tanımlamaya göre, AAH, ASSS'nun erken safhası olarak gösterilmektedir. Bunun iki avantajı olabilir; birincisi ASSS'nin erken ve daha az şiddette olan safhasında tedaviye başlanması tedavi başarısını artırabilir. İkincisi erken safhada tespit edilen laboratuvar ve biyokimya sonuçları sendromun daha iyi tanınmasını sağlar. Diğer yandan, AAH'nin her zaman ASSS'ye dönüşmesi beklenemez. Bu nedenle, AAH ve ASSS'yi ayrı birer sendrom olarak düşünerek tedavi etmek gerekmektedir (16).

AAH ve onun ciddi formu ASSS'nin en yaygın nedenleri, sepsis, pnömoni, aspirasyon ve travma sayılabilir. Pnömoni, gastrik içeriğin aspirasyonu, toksin inhalasyonu (ozon, sigara, nitrojen), yağ embolisi, suda boğulma, radyasyon gibi direkt nedenlere ya da sepsis, şok, multipl transfüzyon, damar içi intravasküler koagülasyon, kardiyopulmoner "by-pass" gibi indirekt nedenlere bağlı olabilir. Ayrıca yüksek rakım, nörojenik, narkotik aşırı doz, eklampsi, kardiyoversiyon sonrası, operasyon sonrası, anestezi sonrası gibi sebebi tam olarak belirlenemeyen nedenlerden dolayı da gelişebilmektedir (1-6).

2.1.1. Akut akciğer hasarında patogenezi

Alveolo-kapiller permeabilitede artmaya bağlı olarak gelişen AAH, akciğerlerin hava yolları veya dolaşım yoluyla maruz kaldığı çok çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilen akut bir klinik durumdur.

AAH'de, başlatıcı bir olayı takiben bir takım hücrel ve kimyasal mediyatörlerin aktif hale geçmesiyle patolojik süreç başlamaktadır. Bu mediyatörler, hücreler tarafından özellikle de nötrofillerden salınan doku için toksik enzimlerin ve serbest oksijen ürünlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Sonuçta da alveol ve kapiller hasarla giden bir dizi olaylar zinciri başlar. Normal pulmoner kapiller endotel hücreleri seçici geçirgendir. Serum proteinlerini geçirmez ve proteinler intravasküler kompartmanda kalırlar. Sıvı ise membranın karşı tarafına, hidrostatik ve ozmotik güçlerin kontrolüyle geçer. Ozmotik gradientle oluşan bu sıvı, interstisyel alandan lenfatikler aracılığıyla yeniden dolaşıma kazandırılır. Alveol epitel hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantılar sıvının alveoler alana geçişini engeller (1-3). Normal şartlarda epitel bariyeri, endotel bariyerinden daha az geçirgendir.

İnflamatuvar mediyatörlerin neden olduğu lökosit aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri ve proteazlar, kapiller endotel ve alveol epiteline zarar verirler. AAH'ye neden olan faktörlerin tetiklediği mekanizmalar sonucunda, alveolo-kapiller bariyer özelliğini kaybeder. Olayı başlatan durum ne olursa olsun patolojik değişikliklerin farklı olmaması dikkat çekicidir. AAH patogenezi gelişen olaylarda, birçok hücrel ve biyokimyasal mediyatörün rol oynadığı düşünülmektedir. Kompleman aracılı nötrofillerin uyarılmasıyla aktive olan

sitokinlerin major rol oynadığı bilinmektedir. Proinflamatuvar sitokinler, akciğerde inflamatuvar hücrelerden, akciğerin epitelyum hücrelerinden ve fibroblastlar tarafından üretilebilirler. Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) gibi proinflamatuvar sitokinler çeşitli uyaranlarla salınırlar. Aktive olan arasıdonik asit metabolitleri (trombosit aktive edici faktör, tromboksan-A₂ (TXA₂), lökotrien-B₄ (LTB₄) permeabilitede artışa ve hücre hasara neden olmaktadır. Özellikle sepsiste birçok hücre tarafından üretilen NO de güçlü bir endojen vazodilatör olup gerek permeabilite artışı gerekse reaktif oksijen ürünleriyle birlikte alveolo-kapiller hasarın oluşmasında rol alırlar. Nötrofillere benzer şekilde, akciğer dokusundaki alveoler ve interstisyel makrofajlardan da proteolitik enzimler ve reaktif oksijen ürünleri salınmakta ve doku hasarına neden olmaktadır. Oluşan hasar sonucu protein, vasküler alandan ozmotik gradientle sıvıyla birlikte kaçar. Bu interstisyumun ve lenfatiklerin drene edebileceği kapasiteyi de aşar. Hava boşlukları proteinli ödem sıvısıyla ve dejenere olan hücrelerin kalıntılarıyla dolar. Fonksiyonel sürfaktan kaybedilir ve sonuçta alveoler kollaps gelişir (1-7).

AAH'nin ağır formu ASSS'de kliniği ağırlaştırıcı ve prognozu kötüleştirici bir diğer faktör ise organ yetmezliklerinin gelişimidir. En sık görülen organ yetmezlikleri böbrek (%13-55), karaciğer (%12-95), SSS (%0-30), kardiyovasküler sistem (%6-54), gastrointestinal sistem (%7-30) ve hematopoetik sistemdir (%0-5) (18).

Akut Akciğer Hasarında Tedavi: Yapılan tüm çalışmalara rağmen AAH'nin ve onun ağır formu olan ASSS'nin tedavisindeki başarı oranı yeterli düzeyde artırılamamaktadır. Yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden ASSS'de geliştirilen yeni tedavi stratejileri ile morbidite oranı düşmüştür, ancak halen %35 gibi bir oranda mortalite gelişmektedir. Ölümün az bir kısmı solunum yetmezliğine bağlı olmakla birlikte, hastaların çoğu altta yatan primer hastalığa veya sepsis gibi sekonder komplikasyonlara bağlı olarak kaybedilmektedir. Temel tedavi prensipleri; yeterli doku oksijenizasyonunun sağlanması, primer nedenin bulunarak ortadan kaldırılması, hastaya metabolik destek sağlanması, komplikasyonların önlenmesi ve tedavisidir (2,16,18).

2.1.2. Akut akciğer hasarı deneysel hayvan modelleri

AAH'ye neden olan olayların çeşitliliği ve insan üzerinde denemenin çok zor olması gibi nedenler, bu hastalığa neden olan mekanizmaların ayrıntılı incelenmesini zorlaştırmaktadır. Sonuç olarak da, akciğer hasarını başlatan ya da başlamış patolojiyi ilerleten faktörler ve bunların altında yatan fizyolojik ve inflamatuvar değişiklikler tam olarak aydınlatılamamıştır. Mevcut hipotezlerin test edilmesi ise bu nedenlerden dolayı zorluk arz etmektedir. Bu durumda, hayvan deneyleri ve oluşturulan hasar modelleri, hastalarla laboratuvar verileri arasındaki köprüyü oluşturmaktadır (19,20).

İdeal bir ASSS hayvan modelinde, nötrofilik alveolit, hyalin membran birikimi ve mikrotrombüs formasyonundan oluşan patolojik üçlünün gelişmesi beklenmektedir. Ancak bu özelliklerin hepsinin bir arada bulunduğu, insandaki patolojiyi tam olarak taklit eden ideal bir model yoktur. Bu faktörlerden birinin olmaması da bu modelin bir AAH formu olmadığı anlamına gelmez. Dolayısıyla, deneysel çalışmalarda hangi faktörlerin etkisini incelemek istiyorsak, o faktörlerin aktive olduğu modeli seçmek daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bundan dolayı, literatür incelendiği zaman, AAH'deki farklı patolojik mekanizmaları incelemek üzere, farklı deney modellerinin kullanıldığı gözlenmektedir.

Yaygın kullanılan AAH hayvan modellerinin özellikleri: Hayvanlarda, insan AAH özelliklerini oluşturmaya yönelik olarak çok sayıda farklı model stratejileri geliştirilmiştir (19,20). Bu model sistemlerinin başlıca tipleri:

Zararlı bir stimulusla akciğerin direkt olarak hasarlandığı modeller: Bunların başlıcaları; intratrakeal veya intranazal olarak bakteri veya lipopolisakkarid (LPS) gibi bakteriyel bir ürünün verilmesi; aspirasyon oluşturmak üzere hidroklorik asit (HCl) gibi bir asitin veya gastrik partiküllerin verilmesi; oksijenin yüksek inspirasyon fraksiyonunda verilmesi; %0.9 sodyum klorür (NaCl) ile seri lavajlar yapılarak sürfaktanın tüketilmesi, hilusun klempe edilerek iskemi/reperfüzyon oluşturulması veya yüksek tidal volümlerde mekanik ventilasyon kullanarak mekanik germeye maruziyet.

Akciğerin indirekt olarak hasarlandığı modeller: Bu kategori, sepsis oluşturma temeline dayanan modelleri içerir. Örneğin; çekal bağlama ve delme, intravenöz olarak bakteri veya LPS verilmesi ve mezenterik iskemi/reperfüzyon. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarı da indirekt modele uygun bir yöntemdir. Bu kategori aynı zamanda oleik asit modelini de içerir ki bu model multipl kemik kırıklı hastalarda kemik iliğinden oleik asit serbestleşmesini taklit etme temeline dayanır.

Kombinasyon modelleri: İnsan AAH/ASSS hastalığına daha benzer bir model yaratmak için farklı hasarlanma stratejileri kombine edilmiştir, bunların içinde en sık yer alanlar; % 0.9 NaCl lavajını takiben mekanik ventilasyon veya çekal bağlama ve delme işlemini takiben hemoraji oluşturma gibi yaklaşımlardır.

2.1.3. α -Naftiltiyöre (ANTU)

Alfa-naftiltiyöre, pulmoner ödem ve plevral efüzyon geliştirerek, pulmoner yetmezlikle ölüme neden olan ve rodendisit olarak geliştirilmiş kimyasal bir ajandır. Yapılan incelemelerde, doz ve zaman bağımlı olarak AAH geliştirdiği ve bu koşullarda deneysel AAH deney modeli olarak kullanılabilceği saptanmıştır (12). Elektron ve ışık mikroskopisinde yapılan morfolojik çalışmalar, ANTU'nun akciğer hasar mekanizmasında hedef yapının kapiller endotel hücreleri olduğunu göstermiştir. Endotel hücre hasarı, endotel bariyer fonksiyonunun ortadan kalkmasına, kapiller permeabilitenin artmasına ve buna bağlı olarak interstisyel ve alveoler ödem gelişimine neden olmaktadır (21).

Standart deney modelinde hayvanlara (sıçan ve fare en çok kullanılan hayvan türleridir) intraperitoneal olarak ANTU uygulaması yapıldığında, 4 saat içinde maksimum düzeye ulaşan akciğer ödemi ve plevral efüzyon gelişmektedir. Oluşan hasarın şiddeti doza ve zamana bağlıdır. Oluşan ödem 24-48 saat içinde tamamen kaybolmakta, ya da ilerleyip kemirgenin ölümüne neden olmaktadır (12).

ANTU'nun etki mekanizması kesin olarak aydınlatılamamıştır. ANTU'ya bağlı akciğer ödeminin, pulmoner vasküler yatak ve hava yolundan kaynaklandığı düşünülen bir kısım vazoaaktif maddeler aracılığıyla olduğu veya ANTU'nun

doğrudan hasarı sonrası bu vazoaktif maddelerin ortaya çıktığı düşünülmektedir. İşaretli ANTU verilerek yapılan çalışmalarda, akciğer ve karaciğerde makromoleküllere bağlandığı ve bu toksik yapıların desülfürasyonu sonucu reaktif moleküllerin oluştuğu gözlenmiştir. ANTU kısmen de karaciğer ve akciğerdeki mikrozemalarda sitokom P450 monoksijenaz ile metabolize edilmekte ve kovalent bağlanmaya ve toksik etkiye neden olabilecek ara moleküller oluşabilmektedir (12,22,23).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ANTU aracılı akut akciğer hasarında L-arginin/NO yolağının rol oynadığı, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunun akciğer dokusunda artış gösterdiği saptanmıştır. Sözkonusu çalışmada, NOS inhibitörü, N^G-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) uygulamasının akciğer ödem gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır. Bu bulgular NO'nun ANTU aracılı gelişen akciğer hasarında sitotoksik bir molekül olarak hareket ettiğini göstermektedir (24). Benzer şekilde, endotelin peptidlerin de ANTU aracılı akciğer hasarında rol oynadıkları ortaya konmuştur (25). ANTU uygulanan sıçan akciğerlerinde anjiotensin I'in anjiotensin II'ye dönüşümünün ve anjiotensin dönüştürücü enzim aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (26,27). ANTU aracılı patolojide araşidonik asit metabolitlerinin de rol oynadığı gösterilmiştir (22,27). ANTU toksisitesinde reaktif oksijen radikallerinin rol oynadığı, ANTU aracılı gelişen oksidatif stresin düşük dansiteli lipoprotein (DDL) oksidasyonuna neden olduğu ve okside DDL'nin akciğer dokusunda biriktiği gösterilmiştir (28).

Pek çok anestezi madde, anestezi özelliklerinin yanında, vasküler endotel ve düz kas fonksiyonlarını etkileyerek akciğer inflamatuvar cevaplarını modüle etmektedir. Yapılan çalışmalar, morfinin santral analjezik etkilerinin yanı sıra, periferik etkileriyle doku hasarı ve inflamasyon üzerine de etki ettiğini göstermektedir. Morfin, diğer bazı ödem modellerinde olduğu gibi, ANTU aracılı akciğer ödeminde de koruyucu etki göstermektedir (29). Benzer şekilde, üretan, tiopental ve pentobarbitalin de ANTU aracılı akut akciğer hasarında koruyucu etki yaptığı saptanmıştır (30). Anestezi maddelerin bu etkilerini kısmen NO oluşumunu inhibe ederek gösterdiği, morfinin iNOS'u inhibe ettiği bildirilmiştir.

Sonuç olarak, ANTU'nun epitel ve kapiller permeabilite artışı temelinde, inflamatuvar reaksiyonların da rol oynadığı AAH oluşturduğu, hasar mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış olsa da, doku hasarına, serbest oksijen radikallerinin, NO'nun, eikozanoidlerin, endotelin ve angiotensin peptidlerin katıldığı gösterilmiştir. Anestezik maddelerin akciğer fizyolojisi ve fizyopatolojisi üzerinde önemli etkileri olduğu ve doku hasarında rol oynadığı bilinen pek çok mediyatörü etkilediği bilinmektedir.

Yapılan çalışmalarda, benzodiazepinlerin ANTU aracılı hasar mekanizmalarını etkileyebildikleri gösterilmiştir. Bu etkinin santral mi yoksa periferik reseptörler aracılığıyla mı olduğu konusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla tezimizde amacımız, periferik benzodiazepin reseptör (PBR) agonistlerinin ANTU aracılı AAH'deki mekanizmalar üzerinde etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

2.2. Benzodiazepinler

1,4-Benzodiazepin türevleridir; moleküllerinde heterosiklik halka içinde azot atomları 1 ve 4 numaralı yerlerde bulunur. Benzodiazepinler dünyada en fazla kullanılan ilaç gruplarından biridir. Terapötik indekslerinin yüksek olması, karaciğerde oksidatif enzimleri pek indüklememeleri ve bu nedenden dolayı diğer ilaçlarla etkileşimlerinin daha düşük seviyede olması, anksiyolitik etkilerini görece selektif bir biçimde yapmaları, üyelerinin çoğunun psişik bağımlılık oluşturma potansiyellerinin diğer ilaçlara göre (özellikle barbitüratlara göre) daha düşük olması gibi üstünlüklerinden dolayı, hipnotik, sedatif ve anksiyolitik olarak 1960 yılında ilk kez pazarlanmalarından itibaren giderek, barbitüratların ve diğer hipnosedatif ilaçların yerini almışlardır.

Benzodiazepinler etki sürelerine göre üç gruba ayrılırlar:

1. Uzun etki süreli benzodiazepinler: Diazepam, klordiazepoksid, klorazepat, prazepam, medazepam, flurazepam ve nitrazepam'dır. Son ikisi hipnotik olarak, diğerleri ise anksiyolitik olarak kullanılır. İçlerinde en fazla kullanılanı diazepamdır.

2. Orta etki süreli benzodiazepinler: Oksazepam, alprazolam, lorazepam, temazepam ve loprazolam'dır. İlk ikisi anksiyolitik olarak, diğerleri ise hipnotik olarak kullanılır.

3. Kısa etki süreli benzodiazepinler: Midazolam ve triazolam'dır. Hipnotik olarak ve preanestezik medikasyon için kullanılırlar; midazolam genel anestezi indüksiyonu yapmak için kullanılmaktadır. Etkilerinin kısa sürmesi esas olarak belirgin derecede redistribüsyon göstermelerine ve biraz da eliminasyon yarılanma ömürlerinin kısa oluşuna bağlıdır.

Benzodiazepin reseptörlerini etkileyen maddelerin sınıflandırılması:

Santral benzodiazepin reseptörlerine bağlanarak etkinlik gösteren maddelerin farmakolojik etkilerinin niteliğine göre üç türü ayırt edilir:

1. BZ reseptör agonistleri; bunların örneği anksiyolitik ve hipnotik etki yapan benzodiazepinleridir.

2. Ters (inverse) agonistler; bunlar benzodiazepin reseptörünü aktive eden, fakat benzodiazepinlere zıt yönde agonist etkileri (konvülsan, prokonvülsan ve anksiyojenik etki gibi) oluşturan agonistlerdir. Benzodiazepin reseptörünün endojen agonist ligandının bu gruptan bir madde olabileceğine inanılmaktadır.

3. BZ reseptör antagonistleri; Bunlar agonistlerin etkisini antagonize eden maddelerdir. Gerek agonistlerin gerekse ters agonistlerin etkisini ortadan kaldırırlar. En fazla incelenen örneği, flumazenil'dir (31).

2.2.1. Benzodiazepinlerin etki mekanizmaları

Gama-aminobutirik asid (GABA) postsinaptik nöron membranında kendine özgü reseptörleri (GABA_A reseptörleri) aktive ederek, bu reseptörlere kenetlenmiş klorür kanalının açılmasına (nöronda hiperpolarizasyona) neden olur. Böylece GABA, nöronlarda postsinaptik ve duruma göre presinaptik inhibisyon yapar.

GABA_A reseptörü, ortasında bir anyon (Cl⁻) kanalı bulunan oligomerik bir yapıdır. Benzodiazepinler, GABA_A reseptörü üzerinde kendilerine özgü BZ bağlanma yerlerine (veya BZ reseptörlerine) bağlanarak farmakolojik etkilerini oluştururlar. Ancak GABA_A reseptörleri üzerinde direkt etkinlik göstermezler, GABAerjik sinir uçlarından salıverilen GABA ile ilişkili ve ona bağımlı olarak etki oluştururlar. BZ bağlanma yerleri GABA_A reseptör pentamerinin alfa ve gama alt-birimlerinin bitişme yerleri üzerindedir. Bu nedenle BZ reseptörleri GABA_A reseptörlerinin hepsi üzerinde değil, sadece alfa ve gama alt-birimine sahip olanlar üzerinde bulunur. Nöronlar üzerinde benzodiazepinlerin etkinlik gösterebilmeleri için ortamda GABA bulunması gerekir ve ortamdaki GABA düzeyinin artmasına paralel olarak benzodiazepinlerin etkinliği de artar. Benzodiazepin moleküllerinin BZ reseptörlerine bağlanması allosterik bir değişiklik yaparak GABA reseptörlerinin GABA'ya afinitesini artırır ve GABA moleküllerinin kendi reseptörlerine bağlanma oranı da artar. Böylece ortamda benzodiazepinler yokkenkine göre daha az sayıda GABA molekülü iyon kanalını (klorür) aynı derecede açar. Başka bir deyişle benzodiazepinler GABA'nın gravimetrik etki gücünü artırır (32).

2.2.2. Benzodiazepinlerin solunum sistemi üzerine etkileri

Benzodiazepinler kullanılan hipnotik mutad dozlarında solunum sistemini etkilemezler fakat özellikle çocuklarda ve karaciğer yetmezliği olan kişilerde dikkat etmek gerekir. Preanestezik medikasyon ya da endoskopi gibi daha yüksek dozlarda kullanımlarında, alveoler ventilasyonu hafif derecede deprese edebilir ve respiratuvar asidoza neden olabilirler. Bu ilaçlar, anestezi esnasında ya da opioidlerle birlikte verildiklerinde apneye neden olabilirler. Benzodiazepinler, SSS'yi deprese eden alkol gibi maddelerle birlikte alındıklarında, hastada ciddi intoksikasyona neden olabilirler ve solunumsal desteğe ihtiyaç duyarlar. Benzodiazepinler, kullanılan doza bağlı olmakla birlikte, solunum güclüğü, apne, uyku apnesinin kötüleşmesi, obstrüktif akciğer hastalığının kötüleşmesi gibi etkileri gösterebilir (33).

Beyin sapındaki GABA_A reseptörleri, akciğerdeki kolinerjik iletimi modüle etmektedir. Hem GABA_A kanalları hem de GABA_B reseptörleri, akciğer post gangliyonik parasempatik sinirlerin presinaptik yüzeylerinde farmakolojik olarak tanımlanmışlardır ve kolinerjik sinir aktivitesini inhibe etmektedirler (8).

2.2.3. Periferik benzodiazepin reseptörleri

Klorür kanalları ve GABA_A reseptörleri ile kenetlenmiş bilinen santral benzodiazepin reseptörlerinden başka, çeşitli hücrelerin mitokondri dış membranı üzerinde yerleşmiş benzodiazepin reseptörleri de bulunmaktadır. Bunlara ilk zamanlar sadece santral sinir sistemi dışındaki yerlerde bulunduğu sanılarak periferik tipte benzodiazepin reseptörleri denilmiştir. Bunlar santral sinir sisteminde esas olarak glia hücrelerinin mitokondrilerinde ve periferde steroid hormon sentez eden (adrenal korteks ve gonadlardaki gibi) endokrin hücrelerin mitokondrilerinde bulunurlar. Son iki yerde steroid hormon sentezinin ilk maddesi olan kolesterolün hücre içine transferine aracılık eder ve steroid sentezini düzenlerler (34).

Yapılan çalışmalarda, PBR'lerin hem beyin hem de periferik dokularda bulunduğu gösterilmiştir. PBR'leri ilk olarak böbrek dokusunda gösterilmiştir (35). Bundan başka, kalp, akciğer, hipofiz, karaciğer, trombositler, mast hücreleri, makrofaj, dalak, timus, barsak, lenf nodu ve testis dokularında da periferik benzodiazepin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (36,11). Tüm bu dokulardaki reseptörlerin tam olarak ne fonksiyon gördükleri henüz aydınlatılamamıştır.

SSS'deki GABA_A reseptörlerinin yanısıra, benzodiazepinler periferik dokulardaki farklı bölgelere de bağlanırlar. PBR ligandı 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N(1-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide (PK11195, antagonist) ve 7-chloro-5-(4-chlorophenyl)-1,3-dihydro-1-methyl-2-H-1,4-benzodiazepin-2-1 (Ro 5-4864, agonist) pek çok hücrel fonksiyonu etkilemektedir. Benzodiazepinlerin bu reseptörlere afiniteleri farklılık göstermektedir. Klonazepam ve flumazenil santral benzodiazepin reseptörleri için spesifik ligand olarak etki ederken, PBR'leri Ro 5-4864'e yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Bunlar içinde en belirgin olanı steroid sentezidir. Yapılan çalışmalar PBR'lerin immün sistem fonksiyonlarının regülasyonunda da rol oynadığını göstermektedir. Bu reseptörler, monosit, nötrofil, NK hücresi, lenfosit CD4 ve CD8 hücreleri, trombosit ve eritrositlerde tanımlanmışlardır. Dolayısıyla, bu reseptör ligandlarının kemotaksis ve lenfoid hücre proliferasyonu gibi monosit fonksiyonlarının modülasyonunda etkili oldukları ileri sürülmektedir (37).

Yapılan çalışmalarda, Ro 5-4684'ün insan periferik kan mononükleer hücrelerinde interlökin-2 (IL-2) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (38). Farelerin Ro 5-4684 ile tedavisinin, makrofajlardan reaktif oksijen ürünleri, interlökin-1 (IL-1), TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar mediyatörlerin üretimini anlamlı oranda azalttığı saptanmıştır (39). Torres ve ark. PBR agonistlerinin anti-inflamatuvar etkileri olduğunu ve karagenin ile oluşturulan pençe ödeminde koruyucu etki gösterdiğini bulmuşlardır (40).

SSS'de bulunan reseptörlerden farklı olarak, hem santral sinir sisteminde hem de periferik dokularda bulunan PBR'lerin etkileri bugün için tam olarak ortaya konulamamıştır. Çok geniş bir dağılım gösteren bu reseptörlerin fizyolojik ve patolojik olaylardaki rollerini ortaya koyabilmek için deneysel çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

2.3. Glutamik Asid ve Glutamerjik Reseptörler

Beyin ve omurilikte bulunan eksitator bir nöromediyatördür. Glutamik asid veya onun iyonize şekli olan glutamat iyonu, sinir uçlarında α -oksoglutarik asid ve glutamin ile dinamik denge halinde bulunur. Glutamik asid, glutamerjik sinir ucunda, glutaminaz enziminin yardımıyla glutaminin hidrolizi sonucu oluşur. Sinir ucundan glutamat salıverilmesinin kalsiyuma bağımlı olduğu gösterilmiştir. Glutamerjik reseptörler, eksitator amino asid reseptörleridir. Beyinde ve omurilikte, çeşitli agonist ve antagonistlere olan duyarlılıklarına göre dört türlü glutamat reseptörü tanımlanmıştır. Bunlardan ilk üçü iyon kanalına kenetli (iyonotropik) reseptörlerdir: (i) Beyinde bulunmayan sentetik bir madde olan N-Metil D-aspartat'a (NMDA) glutamattan daha fazla duyarlı olan NMDA reseptörleri. (ii) AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asid) reseptörleri. (iii) Kainat reseptörleri. (iv) Metabotropik glutamat reseptörleri.

Bu reseptörlerden halen en fazla incelenmiş olan glutamat reseptörleri NMDA reseptörleridir. Postsinaptik yerleşim gösterirler. Bu reseptörler bir kanal proteini ile (katyon, Ca^{+2} , Na^{+}) kenetlenmişlerdir. NMDA reseptörü molekül kompleksi üzerinde NMDA reseptörünü allosterik şekilde etkileyen ve kanal fonksiyonunu modüle eden bir glisin bağlanma yeri ve poliamin bağlanma yeri, voltaja-bağımlı magnezyum bağlanma

yeri ile fensiklidin, ketamin gibi maddeleri bağlayan bir fensiklidin bağlanma yeri bulunur. Katyon kanalı; magnezyum ve fensiklidin tarafından voltaja bağımlı bir şekilde bloke edilir. Ketamin, dizosilpin (MK-801) ve benzomorfan türevleri de, reseptör-kanal molekül kompleksi üzerindeki fensiklidin bağlanma yerine bağlanıp onun gibi inhibitör etki yaparlar. Gerek kompetitif ve gerekse nonkompetitif NMDA reseptör antagonistlerinin antiepileptik, nöroprotektif ve anksiyolitik ilaç olarak tedavide kullanılma potansiyelleri vardır (41).

2.3.1. NMDA reseptörlerinin solunum sistemi üzerine etkileri

Son yıllarda yapılan çalışmalar nöron dışı yapılarda da glutamerjik sinyal iletiminin olduğunu göstermektedir (42). Periferik inflamatuvar olaylarda, NMDA reseptör ekspresyonunun artış gösterdiği ve NMDA reseptör antagonistlerinin inflamasyon ya da doku hasarı üzerinde koruyucu olabildikleri gösterilmiştir. NMDA reseptörlerinin rat akciğerinde alveolar duvar, bronşiyal düz kas, bronşiyal epitel ve üst hava yoluna giden sinirlerdeki varlığı gösterilmiştir. İzole perfüze akciğer preparatında, yüksek NMDA konsantrasyonunun, akut yüksek-permeabilite ödemine neden olduğu ve NMDA reseptör antagonisti MK-801'in ödem gelişimini önlediği saptanmıştır. Bronşiyal astımın kardinal bulgularından olan hava yolu aşırı duyarlılığı ile NMDA reseptörleri arasındaki ilişkiyi gösteren araştırma sonuçları elde edilmiştir. Perfüze domuz akciğerinde, NMDA'nın havayolu perfüzyon basıncını artırdığı ve bu artışın MK-801 tarafından ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (43). Bu ve benzeri çalışmalar, NMDA reseptörlerinin akciğer patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Diğer yandan, NMDA reseptörlerinin solunum sistemi üzerine olan etkilerinde, birbirine ters düşen sonuçların elde edilmiş olması nedeniyle, hem AAH'deki hem de havayolu inflamasyonundaki rolleri tam olarak ortaya konulamamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Akut Akciğer Hasarı Deney Modelinin Oluşturulması

Deneyler, 200-240 gram (g) ağırlığında, her iki cinsiyetten Wistar albino sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Sıçanlar, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden alınmıştır. Hayvanlar 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortam düzeninde, standart laboratuvar koşullarında yetiştirilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan uygulamalar ve protokoller için, "Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan" onay alınmıştır (Ek 8.1.).

Deney süresince, hayvanlar ayrı kafeslerde, oda ısısında (22 °C) tutulmuştur. ANTU, 4 miligram/mililitre (mg/ml) olacak şekilde zeytinyağında süspansiyon halinde hazırlandıktan sonra sıçanlara, 10 mg/kilogram (kg) dozda intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. ANTU i.p. olarak 10 mg/kg dozunda uygulandıktan sonra, 4 saat içinde maksimum düzeye ulaşan akut akciğer hasarı oluşmaktadır ve bu hasarda, plevral efüzyon (PE) oluşumu, akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (AA/VA) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/VA) oranlarında artma saptanmaktadır. Kontrol grubuna sadece i.p. olarak zeytinyağı verilmiştir, bu grup aynı zamanda çözücü kontrolü grubu olarak değerlendirilmiştir.

Dört saat sonra sıçanların abdominal aortu, tiopental sodyum anestezisi (50 mg/kg) altında kanatılmıştır. Göğüs kafesi dikkatlice açılmış ve plevral aralıkta birikmiş olan efüzyon sıvısı enjektörle çekilmiştir. Bu esnada çevre dokulardan kanama olmamasına ve efüzyon sıvısına kan karışmamasına özen gösterilmiştir. Akciğer çıkarıldıktan sonra, çevre dokulardan temizlenmiş ve hassas terazide tartılmıştır. Efüzyon sıvısının miktarı (PE, ml), akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (AA/VA) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/VA) oranları hesaplanmış ve akut akciğer hasarı göstergeleri olarak değerlendirilmiştir. Akciğerler, %10'luk formaldehit içinde muhafaza edilmiş ve histopatolojik incelemeleri yapılmıştır.

3.2. Deney Protokolü

Hayvanlar 8 gruba ayrılmıştır. Her grupta 8 hayvan incelenmiştir. ANTU hayvanlara 10 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulanmıştır. Çözücü kontrol grubuna zeytinyağı i.p. olarak verilmiştir. Akciğer hasarı üzerine olan etkileri incelenecek maddeler, ANTU'dan 30 dakika önce i.p. olarak uygulanmıştır. Çalışmamızda, selektif periferik benzodiazepin reseptör agonisti, 4'klorodiazepam (Ro 5-4864) artan dozlarda kullanılmıştır. NMDA reseptör antagonisti MK-801'in (Dizosilpin) ise iki farklı dozu kullanılmıştır. Gruplar ve kullanılan dozlar, Tablo 1'de verilmektedir.

Tablo 1. Deney Grupları

Çalışma Grupları		
Gruplar	Kimyasallar	Uygulama Yolu
1	Zeytinyağı (ANTU çözücüsü, çözücü kontrol grubu)	i.p.
2	ANTU (10 mg/kg)	i.p.
3	ANTU + 4'klorodiazepam (0.1 mg/kg) ^a	i.p./i.p.
4	ANTU + 4'klorodiazepam (0.5 mg/kg) ^a	i.p./i.p.
5	ANTU + 4'klorodiazepam (2 mg/kg) ^a	i.p./i.p.
6	ANTU + 4'klorodiazepam (4 mg/kg) ^a	i.p./i.p.
7	ANTU + MK-801 (0.3 mg/kg) ^a	i.p./i.p.
8	ANTU + MK-801 (3 mg/kg) ^a	i.p./i.p.

^aTüm uygulamalar ANTU'dan 30 dakika önce yapılmıştır.

Histopatolojik inceleme için, akciğerler %10 formaldehit içinde 2-3 gün bırakılarak fikse edilmiştir. 10 µm'lik kesitler halinde, hematoksilin-eozin boyası ile boyanmıştır. Tüm loblar incelemeye geçirilmiştir. Boyanmış olan kesitler, ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Akciğer dokusu histopatolojik incelemesinde, intraalveoler ödem, perialveoler hemoraji ve interstisyel inflamatuvar hücre reaksiyonu açısından değerlendirilmiş ve skorlanmıştır. Skorum 0-3 arasında yapılmıştır. Ayrıca skorum haricinde akciğer dokusundaki histomorfolojik değişiklikler belirlenmiştir.

3.3. Kimyasal Maddeler

α -naphthylthiourea (ANTU) (Interchim), Dr. E. Schillinger, Schering AG, Berlin, Germany. Zeytinyağı, Sigma (St. Louis, MO, USA). 4'klorodiazepam (Ro 5-4864) and MK-801 hydrogen maleat, Sigma (St Louis, MO, USA).

3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Elde edilen verilere ait tanımlayıcı değerler ortama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir. Gruplar arası farklılıklar 'Tek Yönlü Varyans Analizi' (One-Way ANOVA) ile farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı ise, LSD testi ile araştırılmıştır. Analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Alfa-Naftiltiyöüre'nin Pulmoner Sistem Üzerine Etkisi

Tüm grupların AA/VA oranları, PE miktarları ve PE/VA oranları Tablo 2-3 ve 4'de verilmektedir.

10 mg/kg dozunda i.p. olarak ANTU verildikten 4 saat sonra, AA/VA oranlarında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı düzeyde ($p<0.05$) farklılık gösteren bir artış saptanmıştır. AA/VA oranı kontrol grubunda 51.6 ± 2.6 , ANTU grubunda ise 101.2 ± 5 hesaplanmıştır (Şekil 1).

Sağlıklı kontrol grubu sıçan akciğerlerinde plevral efüzyon saptanmamıştır. ANTU verilen grupta, eksuda özelliğinde, hemorajik olmayan plevral efüzyon gelişimi gözlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ANTU grubunda (5.1 ± 0.3 ml) istatistiksel anlamlı olarak yüksek miktarda efüzyon gelişimi saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 2-3).

Histopatolojik incelemede, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (Şekil 4), ANTU aracılı patoloji, temel olarak intraalveoler ödem ve interstisyel inflamatuvar hücre reaksiyonu şeklinde kendini göstermektedir (Şekil 5). Bu grupta, peribronşiyal lenfoid agregat oluşturacak düzeyde inflamatuvar hücrelerin periferden ziyade santralde toplandığı ve alveoler makrofaj sayısının intraalveoler ödemle ilintili olarak arttığı dikkati çekmektedir. ANTU grubunda maksimum düzeyde intraalveoler ödem (skor: 3), orta düzeyde inflamasyon (skor: 2.3) ve hafif-orta düzeyde perialveoler hemoraji (skor: 1.6) gözlenmiştir.

4.2. 4'Klorodiazepam'ın ANTU Aracılı Akut Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi

4'klorodiazepam'ın 0.1 ve 0.5 mg/kg dozlarında, AA/VA oranlarında anlamlı bir azalma gözlenmezken, 2 ve 4 mg/kg dozlarında, AA/VA oranlarında anlamlı bir azalma ve koruyuculuk gözlenmiştir (Şekil 1). Bu sonuçlar, 4'klorodiazepam'ın kullanılan daha yüksek dozlarında koruyuculuk gösterdiğini ortaya koymaktadır.

4'klorodiazepam'ın 0.1 mg/kg dozu ile 4 mg/kg dozu arasında da anlamlı fark bulunmuştur.

4'klorodiazepam'ın kullanılan tüm dozlarında, PE oluşumuna karşı istatistiksel anlamlı ve doz bağımlı bir koruyuculuk sağladığı saptanmıştır (Şekil 2-3). 4'klorodiazepam'ın 0.1 mg/kg dozu ile, 0.5, 2 ve 4 mg/kg dozları arasında da anlamlı fark bulunmuştur.

Histopatolojik incelemede, 4'klorodiazepam'ın özellikle düşük dozlarındaki koruyucu etkinin daha fazla olduğu izlenmektedir. İntraalveoler ödemde en fazla azalma 0.1 mg/kg grubunda izlenmiştir (Şekil 6). ANTU-aracılı hemoraji üzerine olan koruyucu etki, 0.1 ve 0.5 (Şekil 7) gruplarında daha belirgin bulunmuştur. İnterstisyel inflamatuvar hücre reaksiyonu üzerine olan koruyucu etkinin de benzer şekilde 0.1 ve 0.5 gruplarında (skor: 1.6), 2 (Şekil 8) ve 4 mg/kg (Şekil 9) gruplarına göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Histomorfolojik olarak, 0.5, 2 ve 4 mg/kg gruplarında, interstisyel aralıkta, artan doza bağlı olarak fokal ama sayısal yoğunluğu fazla köpüksü makrofaj grupları ve anfizematöz genişlemeler dikkati çekmiştir. Ayrıca, ANTU grubundaki kadar yaygın olmamakla beraber, fokal peribronşiyal lenfoid agregat oluşumu tüm gruplarda devam etmektedir.

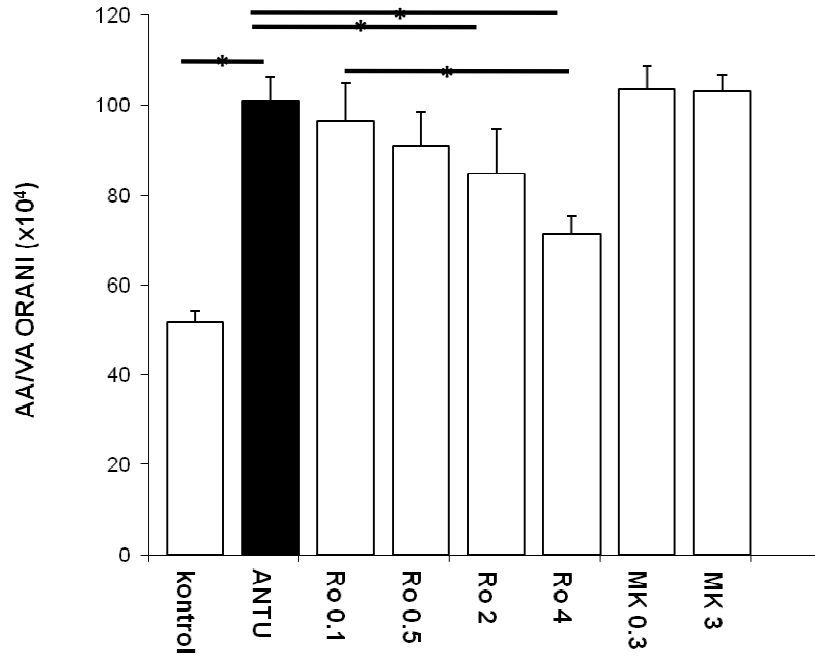
4.3. MK-801'in ANTU Aracılı Akut Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi

Çalışmamızda kullandığımız NMDA reseptör antagonisti MK-801 ise, AA/VA oranında herhangi bir koruyuculuk sağlamamış (Şekil 1), plevral efüzyon gelişimini ise anlamlı düzeyde azaltmıştır (Şekil 2-3).

MK-801, kullanılan her iki dozunda da, ANTU aracılı intraalveoler ödem, hemoraji ve perialveoler inflamatuvar reaksiyonu açısından, herhangi bir koruyuculuk göstermemiştir (Şekil10-12). Bunun yanısıra, plevrada mezotelyal hücre proliferasyonuna neden olmuştur (Şekil10-11). ANTU aracılı akciğer dokusu hasarını artırıcı etkisinin yanısıra, viseral plevra dokusunda da iritasyona bağlı mezotel hücre proliferasyonuna neden olmuştur.

Tablo 2. Tüm Grupların AA/VA Oranları

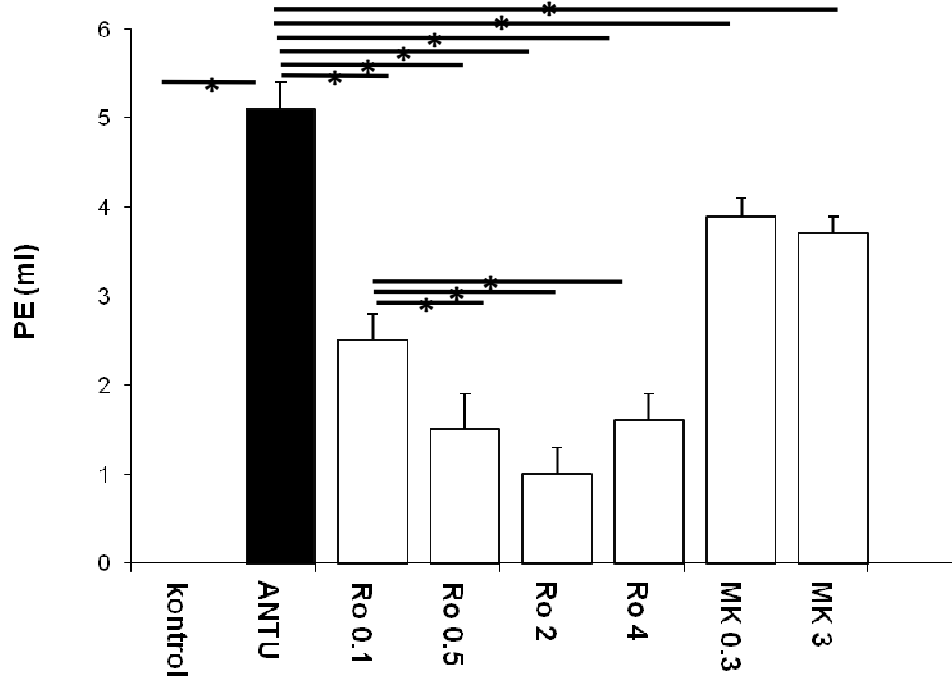
GRUPLAR	Akciğer Ağırlığı/Vücut Ağırlığı Oranı (AA/VA x 10 ⁴)	Standart Hata (SH)
Kontrol (zeytinyağı/çözücü kontrolü)	51.6	2.6
ANTU	101.2	5.0
ANTU + 4'lorodiazepam (0.1 mg/kg)	96.6	8.5
ANTU + 4'lorodiazepam (0.5 mg/kg)	91.1	7.4
ANTU + 4'lorodiazepam (2 mg/kg)	84.8	9.9
ANTU + 4'lorodiazepam (4 mg/kg)	71.4	3.9
ANTU + MK-801 (0.3 mg/kg)	103.5	5.2
ANTU + MK-801 (3 mg/kg)	103.1	4.1



Şekil 1. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-lorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı oranı (AA/VA x10⁴) üzerine olan etkileri. Her grupta n=8, *p<0.05.

Tablo 3. Tüm Grupların PE (ml) Değerleri

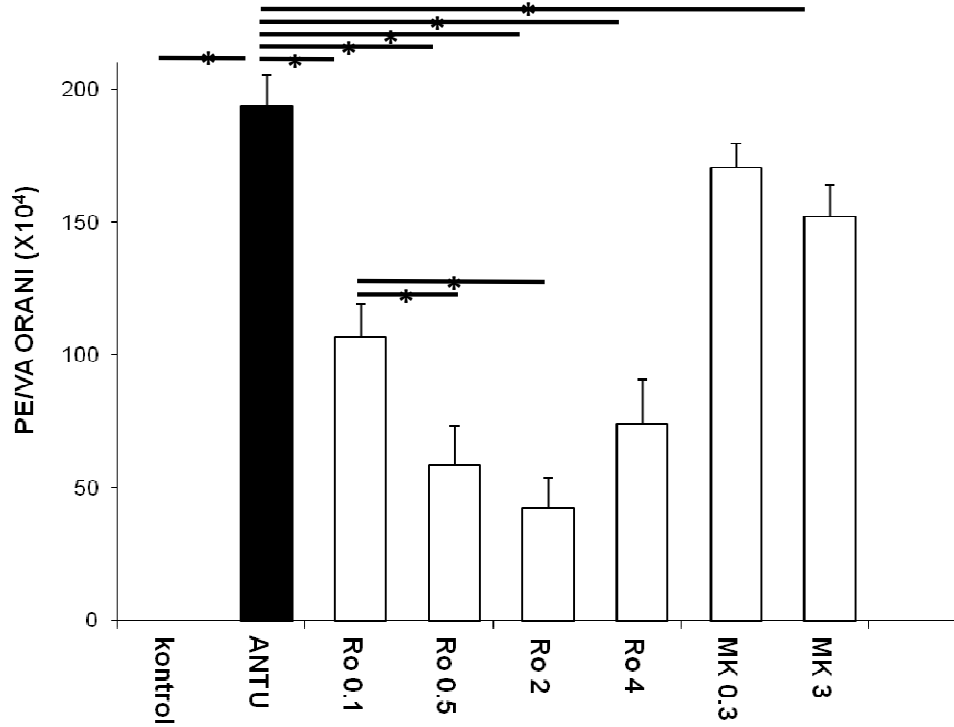
GRUPLAR	Plevral Efüzyon Miktarı (ml)	Standart Hata (SH)
Kontrol (zeytinyağı/çözücü kontrolü)	0	0
ANTU	5.1	0.3
ANTU + 4'lorodiazepam (0.1 mg/kg)	2.5	0.3
ANTU + 4'lorodiazepam (0.5 mg/kg)	1.5	0.4
ANTU + 4'lorodiazepam (2 mg/kg)	1.0	0.3
ANTU + 4'lorodiazepam (4 mg/kg)	1.6	0.3
ANTU + MK-801 (0.3 mg/kg)	3.9	0.2
ANTU + MK-801 (3 mg/kg)	3.7	0.2



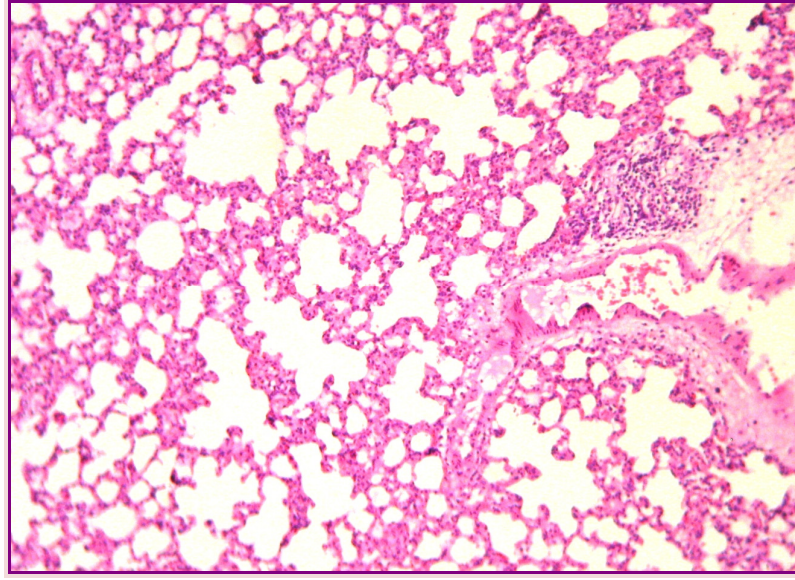
Şekil 2. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-lorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, plevral efüzyon miktarı (PE) (ml) üzerine olan etkileri. Her grupta n=8, *p<0.05.

Tablo 4. Tüm Grupların PE/VA Oranları

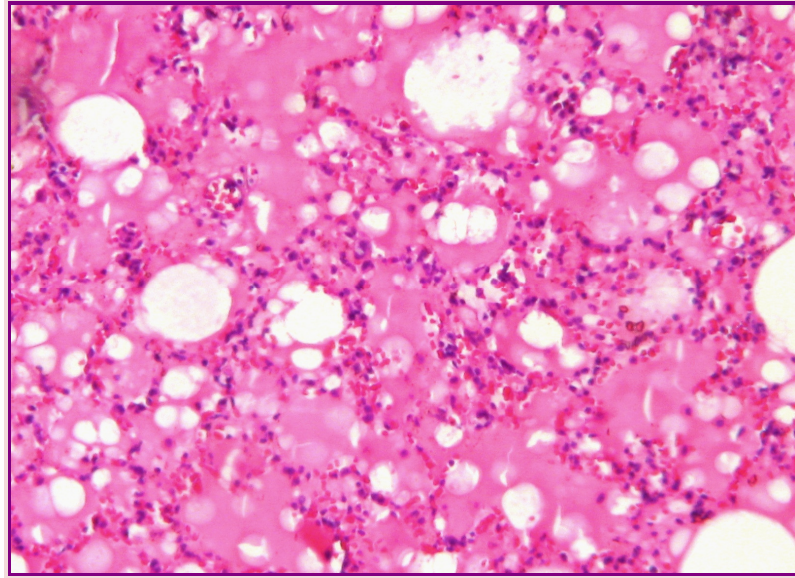
GRUPLAR	Plevral Efüzyon/Vücut Ağırlığı Oranı (PE/VA x 10 ⁴)	Standart Hata (SH)
Kontrol (zeytinyağı/çözücü kontrolü)	0	0
ANTU	193.6	11.4
ANTU + 4'lorodiazepam (0.1 mg/kg)	106.8	12.3
ANTU + 4'lorodiazepam (0.5 mg/kg)	58.3	14.7
ANTU + 4'lorodiazepam (2 mg/kg)	42.0	11.9
ANTU + 4'lorodiazepam (4 mg/kg)	74.1	16.7
ANTU + MK-801 (0.3 mg/kg)	170.6	9.2
ANTU + MK-801 (3 mg/kg)	152.3	11.7



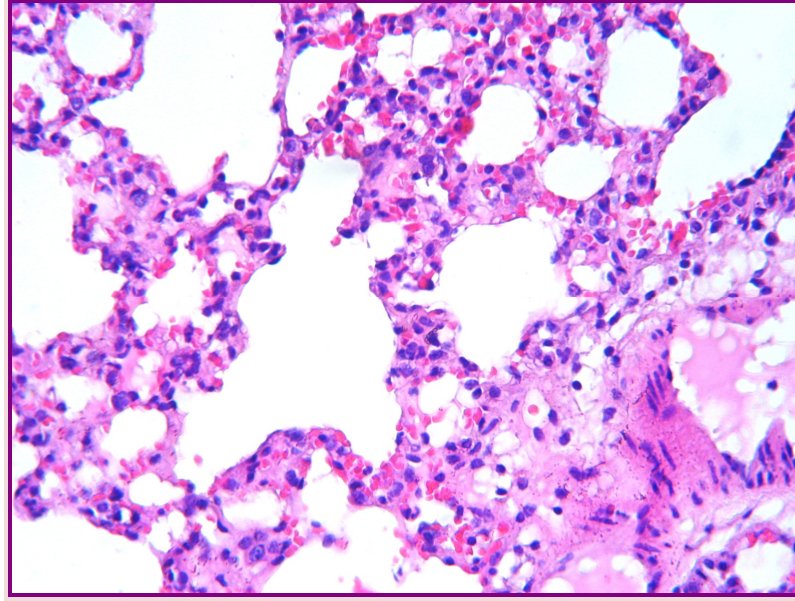
Şekil 3. ANTU ile oluşturulan akut akciğer hasarında 4'-lorodiazepam (Ro 5-4864) ve MK-801'in, plevral efüzyon/vücut ağırlığı oranı (PE/VA x 10⁴) üzerine olan etkileri. Her grupta n=8, *p<0.05



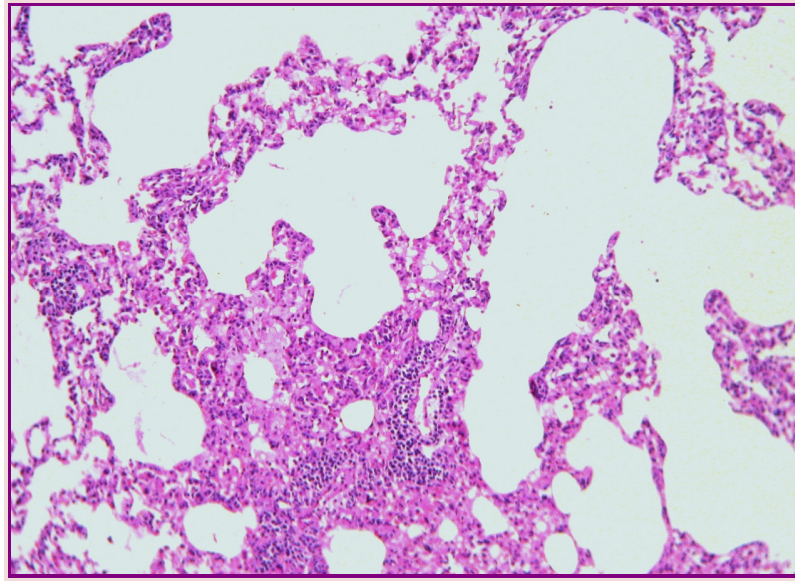
Şekil 4. Kontrol sıçan akciğeri (H&E x4).



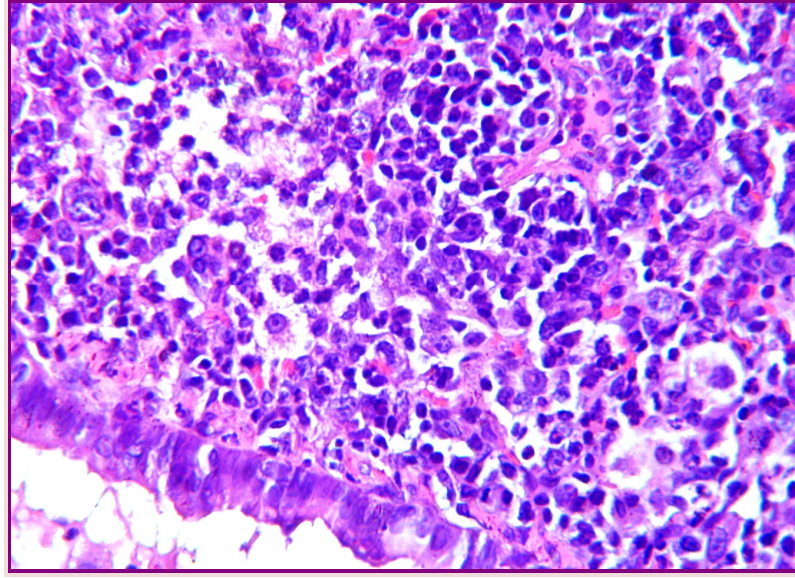
Şekil 5. ANTU uygulanan sıçan akciğeri (H-E x10).



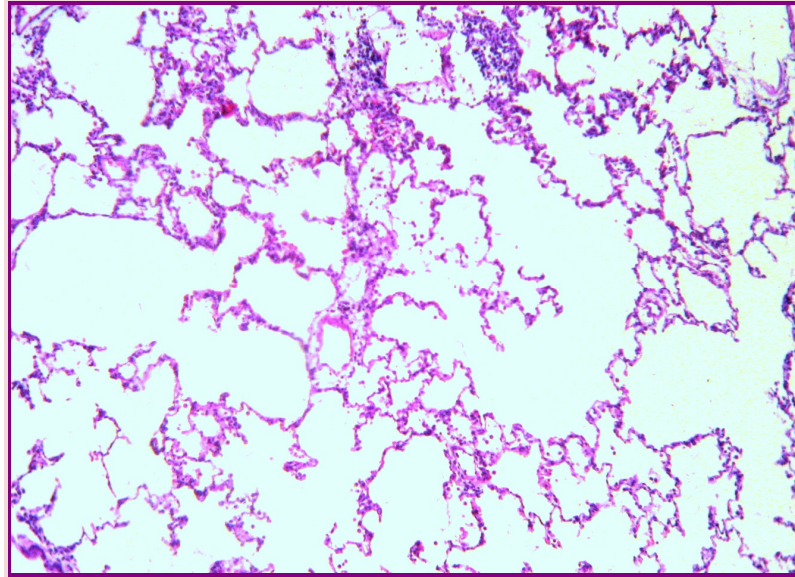
Şekil 6. ANTU + Ro 5-4864 0.1 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri (H&E x40). ANTU grubuna göre, hemoraji, ödem ve inflamasyonda azalma izlenmektedir.



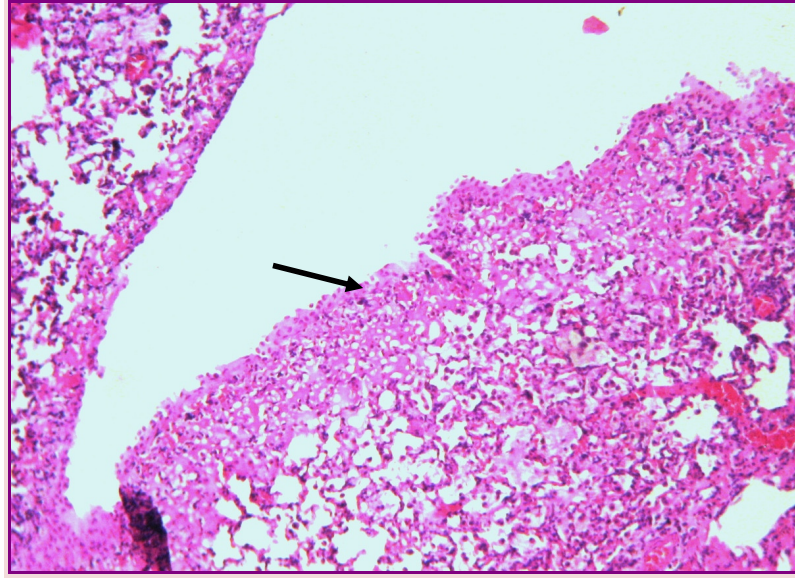
Şekil 7. ANTU + Ro 5-4864 0.5 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri (H&E x10). ANTU aracılı patolojide azalma, köpüksü makrofaj hücreleri izlenmektedir.



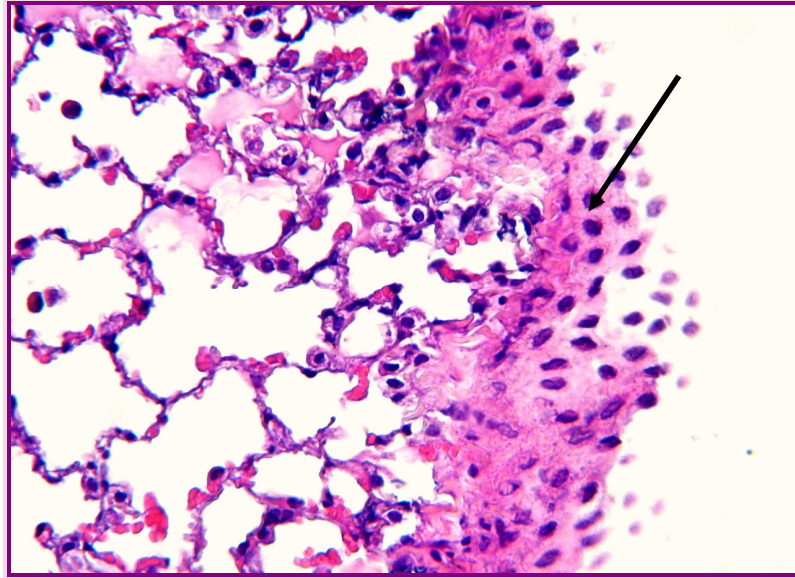
Şekil 8. ANTU + Ro 5-4864 2 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri (H&E x40).



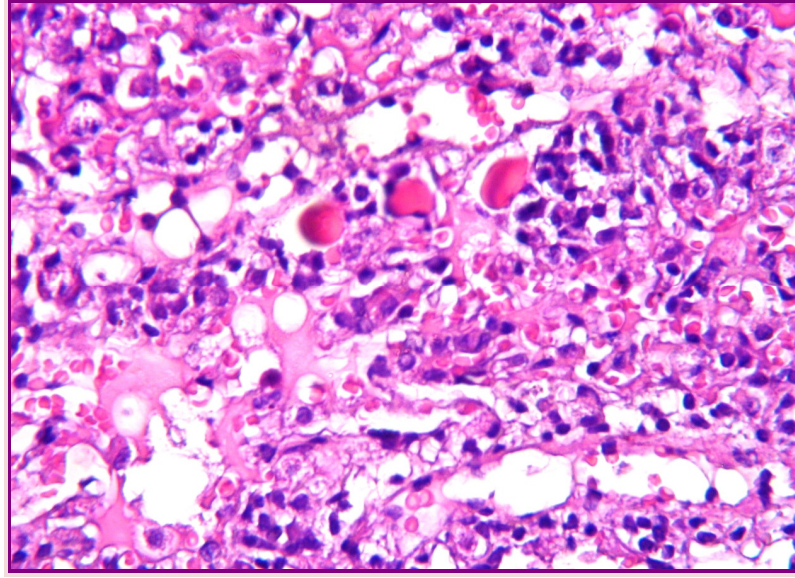
Şekil 9. ANTU+ Ro 5-4864 4mg/kg uygulanan sıçan akciğeri (H&E x4). ANTU aracılı patolojide azalma izlenmektedir. Anfizematöz değişiklikler saptanmıştır.



Şekil 10. ANTU + MK-801 0.3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri. (H&E x10).
Viseral plevra proliferasyonu izlenmektedir.



Şekil 11. ANTU + MK-801 0.3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri. (H&E x 40).
Viseral plevra proliferasyonu izlenmektedir.



Şekil 12. ANTU + MK-801 3 mg/kg uygulanan sıçan akciğeri (H&E x40). Hemoraji, inflamasyon ve ödemde azalma gözlenmemektedir.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda hipnotik, sedatif ve anksiyolitik amaçlı klinik kullanımı olan benzodiazepinlerden, santral sinir sistemi dışındaki periferik reseptörleri üzerinde selektif agonistik etki gösteren 4'klorodiazepam'ın, ANTU aracılı AAH modelinde, pulmoner ödeme karşı kullanılan doz ve sürede koruyucu etki gösterdiği ve plevral efüzyon oluşumunu anlamlı düzeyde azaltarak koruyuculuk sağladığı saptanmıştır. Akciğer ağırlığı üzerindeki koruyucu etki düşük dozlarda izlenirken, efüzyon üzerinde tüm dozlarda etkili bulunmuştur. Histopatolojik incelemede, 4'klorodiazepam'ın doku hasarını tam olarak geriye döndürmediği, yer yer anfizematöz değişikliklerin ve peribronşiyal lenfoid agregatların oluştuğu izlenmiştir.

Çalışmamızdaki sonuçlar literatür bulguları ile uyumlu olarak, benzodiazepin reseptörlerinin periferik yerleşim gösteren türlerinin, doku hasarı ve inflamasyon üzerinde etki gösterebildiklerini teyit etmektedir. Solunum sisteminde bulunan PBR'ler ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda, literatürde ilk olarak ANTU ile oluşturulan AAH modelinde, bu reseptörlerin etkileri incelenmiştir. Benzodiazepinlerin kullanılan klinik endikasyonları dışında, şu anda deneysel sonuçlarla sınırlı olsa da, doku hasarında rol oynayan mekanizmalara etkili oldukları izlenmektedir ve bu yeni endikasyonların oluşmasına zemin hazırlayabilecektir.

Yapılan çalışmalarda PBR'lerin, inflamatuvar mediyatörler, serbest oksijen ürünleri, NO gibi inflamasyon ve doku hasarında rol oynayan mediyatörleri etkileyebildikleri ve bu mekanizmalar üzerindeki etkileri nedeniyle de doku hasarını modüle edebildikleri öne sürülmektedir (37-40).

AAH ve onun ağır formu ASSS, değişik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilen, pulmoner kapiller geçirgenliğin artışına sekonder gelişen bir nonkardiyojenik pulmoner ödemdir. AAH'de primer patoloji alveolo (epitel)-kapiller (endotel) bariyerdeki permabilite artışına bağlı alveoler ödem gelişimidir. AAH/ASSS'de alveolo kapiller ünit'inde hasarın agresif inflamatuvar reaksiyon sonucu oluştuğu ve bu patolojinin temelde bir inflamasyon sendromu olarak geliştiği konusunda fikir birliği oluşmuştur. Bu genel tanımlama doğrultusunda yapılan yoğun çalışmalar ve teknolojinin getirdiği yeni tedavi olanaklarına karşın, ASSS, yüksek

mortalite oranı ile halen yoğun bakım ünitelerinin en ölümcül seyreden hastalıkları arasında ilk sırada yer almaya devam etmektedir.

AAH, gelişen pulmoner ödeme karakterize, akut solunum yetmezliğinin ani başlangıcını ifade eden genel bir terimdir (13). Klinik olarak akut başlangıçlı, inatçı hipoksemi ile kendini gösterir ve akciğer grafisinde pulmoner ödeme bağlı bilateral difüz infiltratlar ve kompliansta önemli derecede azalma ile karakterizedir. Akciğer hasarı, bazı durumlarda akciğer ve alveol epitelyumunun doğrudan hasarlanması sonucu oluşurken, bazen de dolaylı mekanizmalar ve hematojen yolla oluşan inflamatuvar mediyatörler aracılığı ile oluşmaktadır. Dolaylı mekanizmalar normal inflamatuvar yanıtın aşırı düzeyde oluşmasından kaynaklanmaktadır. Endotoksinler, makrofaj ve/veya monositlerden TNF, IL-1, IL-6, IL-8 ve trombosit aktive edici faktör gibi mediyatörlerin salınımına neden olmakta; bu mediyatörler de lökosit ve endotel aktivasyonuna neden olarak lökositlerin endotele yapışmasını kolaylaştırmaktadır. Sonuçta nötrofillerden açığa çıkan oksijen radikalleri, proteazlar ile araşidonik asit aktivasyonu sonucunda prostanoidler, lökotrienler ve pekçok hücre tarafından aşırı miktarda oluşturulan NO, endotel hücrelerinde harabiyete neden olmaktadır. Endotel ve alveol epitel hücrelerinin bu aşırı inflamatuvar yanıtı bağlı hasarı sonucu, proteinden zengin sıvı alveoler boşluğa sızmaktadır. Bu sıvının içinde bulunan fibrin ve diğer proteinler hyalen membranların oluşumuna neden olmakta, sellüler hasara bağlı olarak azalmış sülfaktan üretimi de alveolar kollapsa sebep olarak oksijenasyonun bozulmasına sebebiyet vermektedir. Sonuç olarak, patolojik sürecin ilerlemesiyle, hem endotelial hem de epitelyal hücre fonksiyonlarının bozulması sonucu klinik görünüm AAH'yi oluşturmaktadır (1-7, 44).

AAH'nin daha ağır formu olan ASSS'de, hücrel ve kimyasal mediyatörlerin rolü ile hasar ağırlaşmaktadır. Bu mediyatörlerin tetiklediği nötrofillerden toksik enzimlerin ve serbest oksijen ürünlerinin ortaya çıkışı, alveoler ve kapiller hasarı ilerletmektedir. Kompleman aracılı nötrofillerin uyarılmasıyla aktive olan sitokinler patogeneizde önemli rol oynamaktadırlar. Proinflamatuvar sitokinler; akciğerde inflamatuvar hücrelerinden, akciğerin epitelyum hücrelerinden ve fibroblastlar tarafından üretilebilirler. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 patogenezdeki önemli proinflamatuvar sitokinlerdir. Kompleman ürünleri, araşidonik asit metabolitleri ve NO, permeabilite artışı ve hücrel hasara katkı sağlamaktadırlar (3).

AAH nedenlerinin çok çeşitli olması, patofizyolojik mekanizmaların tam olarak aydınlatılmaması gibi nedenlerden dolayı, AAH tedavisinde genel kabul görmüş etkin ve standart bir medikal tedavi biçimlendirilememiştir. Tedavinin temeli destekleyici düzeyde kalmaktadır. AAH'deki mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi ve yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulabilmesi ve özellikle yoğun bakımlardaki mortalite oranlarının düşürülebilmesi için, yoğun bir şekilde deneysel çalışmalar sürdürülmektedir. AAH patofizyolojisi farklı nedenlere bağlı olarak farklı mekanizmalarla gelişmektedir. Deneysel çalışmalar da bu mekanizmaların muhtemel mediyatörlerini anlayabilmek için farklı modellerde oluşturulmakta ve incelenmektedir (13).

AAH deney modeli oluşturmak için kullanılan ajanlardan biri de alfa-naftiltiyüredir (20-29). ANTU ilk zamanlarda rodendisit olarak kullanılmış kimyasal bir ajandır, doz ve zaman bağımlı olarak AAH deney modeli oluşturmak için kullanılmaktadır. ANTU toksisitesinde primer hedef yapıların kapiller endotel hücreleri olduğu gösterilmiştir. Endotel hasarı endotel bariyerin kaybolmasına ve kapiller permeabilitenin artmasına ve sonuçta intertisiyel, alveolar ödeme ve plevral efüzyon gelişimine neden olmaktadır. ANTU'nun kesin olarak hangi mekanizmayla akciğer hasarı oluşturduğu bilinmemektedir fakat oksidatif stresin ve reaktif oksijen radikallerinin, NO'nun, endotelin ve anjiotensin peptidlerin doku hasarına aracılık ettikleri gösterilmiştir (24-29). Dolayısıyla, ANTU aracılı hasarda, reaktif oksijen radikallerinin yanı sıra immün inflamatuvar yolakların da aktive olduğu izlenmektedir.

Benzodiazepinler santral GABA_A reseptörleri dışında, periferel dokularda başka bölgelere de bağlanmaktadır. SSS'de bulunandan farklılık arzeden bu ikinci tip bağlanma yerlerine ilk tanımlanmaları sırasında periferel tip benzodiazepin reseptörü ismi verilmiştir. Daha sonra bu tip reseptörlerin SSS'de de bulunduğu gösterilmiştir. Bu tip reseptörlerin yaygın olarak immün sistem organları ve hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir (10). Bu bulgular PBR'lerin immün/inflamatuvar olarlarda rol oynayabileceklerini ve doku hasarı ve inflamasyonda potansiyel koruyucu ajanlar olarak kullanılabileceklerini düşündürmüştür.

Benzodiazepinler yaygın kullanım alanı olan ajanlardır. Bu etkilerinin yanı sıra, yapılan çalışmalarda, periferik etkileri ile immün fonksiyonları modüle edebildikleri, fare makrofaj hücresinde PBR'leri etkileyerek, LPS-aracılı IL-1, IL-6 ve TNF aktivitesini baskıladıkları gösterilmiştir (45). Kısa etkili benzodiazepin olan midazolam, sayılan sitokin yapımının modülasyonu yanı sıra, NO oluşumunu azaltmakta, nötrofil fonksiyonlarını inhibe etmekte, iNOS ve siklooksijenaz-2 ekspresyonunu ve süperoksit anyon oluşumunu azaltmaktadır (11,46,47). Monosit ve mast hücrelerindeki NO ve TNF- α sentezini modüle etmekte, makrofaj hücrelerinden proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını ve süperoksit üretimini baskılamaktadır (9,48). Midazolamın ANTU aracılı AAH'deki efüzyon oluşumuna karşı anlamlı düzeyde koruyuculuk gösterdiği de saptanmıştır. Diğer yandan, midazolam periferik reseptörleri bloke ederek, endotel hücrelerindeki TNF- α aracılı vasküler hücre adezyon molekülü-1 ekspresyonunu ve monosit adezyonunu inhibe etmektedir. Midazolamın bu etkileri santral benzodiazepin reseptör blokörü flumazenil ile bloke edilememekte, PBR blokörü ile bloke edilmektedir (9,48). Bu bulgular midazolamın endotel hücresi üzerindeki PBR'leri etkileyerek antiinflamatuvar etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, midazolamın ANTU aracılı akciğer hasarındaki kısmi koruyucu etkisini periferik reseptörleri aracılığı yapabileceğini düşündürmektedir ki bizim çalışmamızın hipotezi olan, PBR'lerin ANTU aracılı hasarda rolü olduğu görüşü, midazolamın etkilerine de kısmen açıklama getirmektedir.

Yapılan çalışmalarda, selektif PBR agonisti Ro 5-4684'ün, monositlerden IL-2 (39), makrofajlardan IL-1, TNF- α ve IL-6 gibi inflamasyon mediyatörlerinin ve reaktif oksijen ürünlerinin (11,39) üretimini anlamlı oranda azalttığı, karagenin ile oluşturulan pençe ödeminde koruyucu etki gösterdiği ve anti-inflamatuvar etkileri olduğu (40) gösterilmiştir. Benzer şekilde Ro 5-4684, romatoid artrit şiddetini azaltmakta, kronik tedavide inflamatuvar hücrelerin eklem aralığına göçünü bloke etmekte, kırıldak ve kemik yıkımına karşı koruyuculuk göstermektedir (49). PBR'lerinin ayrıca hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında da rol oynadığı meme kanser ve glioma hücrelerinde gösterilmiştir (50). PBR ligandlarının, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi oksidatif stresin geliştiği patolojilerde antiapoptotik olarak davrandığı, oksidatif stres ve iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kalpte koruyucu oldukları gösterilmiştir (51,52).

Farges ve ark. Ro 5-4684'ün, karegenin ile oluşturulan plörezi modelinde, antiinflamatuvar bir etki gösterdiklerini ve bu etkisini de kısmen glukokortikoidler üzerinden gösterdiklerini saptamışlardır. Çalışmalarında, Ro 5-4684, erken fazda görülen nötrofil birikimini ve geç fazda görülen mononükleer hücre akışını inhibe etmiştir. Ayrıca Ro 5-4684'ün, myeloperoksidaz ve adenozin deaminaz aktivitelerini de azalttığını göstermişlerdir (10).

Çalışmamızda kullandığımız PBR agonisti Ro 5-4684, ANTU'nun oluşturduğu pulmoner ödem ve efüzyonda azalma yapmaktadır. Akciğer ağırlığındaki azalma 2 ve 4 mg/kg dozlarında anlamlı bulunmuştur. Efüzyon miktarında ise, tüm dozlarda azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Ro 5-4684'ün PBR'lerini etkileyerek, akciğer patolojisindeki mekanizmalar üzerinden kısmi koruyucu etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. ANTU aracılı AAH'de yoğun bir inflamasyon olayının da devam ettiği düşünüldüğünde, Ro 5-4684'ün, antiinflamatuvar etkinliğe de sahip olabileceği düşünülmektedir. Gerek ödem ve efüzyon, gerekse histopatolojik hasar üzerindeki etkisi, ANTU aracılı hasarı tamamen geriye döndürme düzeyinde değildir. Bu durumda, daha yüksek dozların denenmesi düşünülebilir ya da bu durum, ANTU aracılı hasarın çok değişik mekanizmaları etkilemesi ve Ro 5-4684'ün bu mekanizmalar üzerinde etkisiz kalması şeklinde yorumlanabilir. Akciğerde anfizematöz değişiklikler ise ilacın yan etkisi şeklinde değerlendirilebilir.

Çalışmamızda, ANTU aracılı akut akciğer hasarında etkinliğini incelediğimiz bir başka ilaç ise NMDA reseptör antagonisti MK-801'dir. Çalışmamızda kullandığımız MK-801, ANTU aracılı AAH'de, AA/VA oranlarındaki artış üzerinde bir koruyuculuk göstermemiş fakat efüzyon oluşumunu anlamlı düzeyde bloke etmiştir. PE/VA oranları incelendiğinde, 3 mg/kg dozunun anlamlı azalma sağladığı fakat 0.3 mg/kg dozunda bir koruyuculuk olmadığı gözlenmiştir. Histopatolojik incelemede ise, her iki dozun da, ödem, hemoraji ve perialveoler inflamatuvar hücre reaksiyonu açısından herhangi bir koruyuculuk sağlamadığı, efüzyon azaltıcı olumlu etkisinin yanında, ANTU aracılı doku hasarını artırdığı gözlenmiştir. Diğer yandan, MK-801'in viseral plevra dokusunda da iritasyon yaratarak, mezotel hücre proliferasyonuna neden olduğu gözlenmiştir.

Literatürde, NMDA-tip glutamat reseptörlerinin nöron dışı dokularda da bulunduğu gösterilmiştir. Ekstranöronal NMDA reseptörlerinin biyolojik karakteristikleri hala çözülememiştir ve intra- ve ekstra-nöronal NMDA reseptörlerinin farmakolojik karakteristiklerinin aynı olduğu henüz kanıtlanamamıştır. Akciğer dokusunda, aşırı miktarda glutamat oluşumunun hücre içi kalsiyumunu artırarak, kalmudolin bağımlı NO miktarını artırdığı, artan NO'nun hücre ve çevresi için sitotoksik etki gösterdiği, ayrıca glutamat aracılı reaktif oksijen türlerinin oluşumunun da rol oynadığı öne sürülmektedir (42). Bununla birlikte, NMDA reseptör antagonistlerinin fizyolojik önemi, günümüz bilgileri doğrultusunda spekülasyon kalmaktadır. Bronşiyal düz kas tonusunu artırdığı (53) ya da tersine azalttığı (54) yönünde yayınlar bulunmaktadır.

İzole perfüze akciğer dokusuna NMDA eklendiğinde, yüksek-permeabilite tarzında AAH'ye neden olmaktadır ve bu etkinin MK-801 ile önlenemediği bildirilmiştir (42). Bu ve benzeri bulgular, bazı tür AAH'lerde endogen NMDA reseptör aktivasyonunun olabileceğini desteklemektedir (55). Bununla beraber, Ben-Abraham ve arkadaşları, NMDA reseptör antagonisti dekstrometorfan'ın, mezenter iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığını, fakat bu koruyucu etkinin doz bağımlı olduğunu, düşük ve yüksek dozlarda koruyucu olmadığı gibi hasarı artırabileceğini ileri sürmektedirler (42). Doz bağımlı bu etki bizim çalışmamızda da gözlenmiştir. PE/VA oranı üzerine etki düşük dozda anlamsız, yüksek dozda anlamlı bulunmuştur. Kullanılan her iki dozda da MK-801, akciğer dokusu üzerinde iyileştirici değil, aksine patolojiyi artırıcı etki göstermiş ve viseral plevral iritasyonu yapmıştır. Bu sonuçlar, NMDA reseptörlerinin AAH patogenezinde rol oynadığını fakat bu etkinin daha ayrıntılı çalışmalarla netleştirilmesi gerektiğini ve terapötik kullanım potansiyeli gösterebilmesi için, daha kesin kanıtlara ulaşılması zorunluluğunu ortaya koymaktadır.

Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, akciğerde varlığı gösterilen PBR'lerin, ANTU aracılı AAH patofizyolojik mekanizmaları üzerinde rol oynayabildiğini ve selektif PBR agonisti Ro 5-4684'ün bu hasara karşı koruyucu potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. NMDA reseptör antagonisti MK-801 ise, ANTU aracılı AAH'da etkisiz bulunmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda, ANTU ile deneysel AAH modeli oluşturulmuştur. Selektif PBR agonisti Ro 5-4684 ve glutamat NMDA reseptör antagonisti MK-801'in, ANTU aracılı AAH'ye karşı koruyucu olup olmadıkları araştırılmıştır.

1. Ro 5-4684'ün kullanılan doz ve sürede, ANTU ile oluşturulan AAH modelinde, akciğer parankim doku hasarı üzerinde istatistiksel anlamlı bir koruyuculuk sağladığı (yüksek dozda),
2. Efüzyon oluşumu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir gerilemeye neden olduğu görülmüştür.
3. MK-801'in kullanılan doz ve sürede, ANTU ile oluşturulan AAH modelinde, akciğer parankim doku hasarı üzerinde anlamlı bir koruyuculuk sağlamadığı, aksine hasarı artırıcı etki gösterdiği ve plevrada mezotelyal hücre proliferasyona neden olduğu,
4. Efüzyon oluşumu üzerinde yüksek dozda istatistiksel olarak anlamlı bir gerilemeye neden olduğu görülmüştür.
5. Bu sonuçlar, PBR'lerin, temelde permeabilite artışı ile karakterize fakat aynı zamanda yoğun bir inflamasyon reaksiyonunun da olduğu AAH patofizyolojisinde rol oynayan mediyatörler üzerine etki gösterdiklerini ortaya koymaktadır.
6. NMDA reseptör antagonisti, ANTU aracılı AAH'de koruyucu etkiye sahip değildir.
7. Ro 5-4684'ün ve genel anlamda, selektif PBR agonistlerinin, akciğer hastalıklarında rol oynayan patofizyolojik mekanizmalar üzerindeki etkilerinin tam olarak ortaya konması, bu ilaçların AAH, astım gibi immün/inflamatuvar patolojilerde potansiyel ilaçlar olarak geliştirilmelerine olanak sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- 1.** Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342(18): 1334-1349, 2000.
- 2.** Jain R, Dalnogare A. Pharmacological therapy for acute respiratory distress syndrome. *Mayo Clin Proc* 81(2): 205-212, 2006.
- 3.** Yurdakul AS, Atilla Ş, Ünsal Yıkılmazoğlu E, Yılmaz L. Akut solunum sıkıntısı sendromu. *Solunum Hastalıkları* 13: 142-152, 2002.
- 4.** Matthay MA, Zimmerman GA, Esmon C, Bhattacharya J, Coller B, Doerschuk CM, Floros J, Gimbrone MA, Hoffman E, Hubmayr RD, Leppert M, Matalon S, Munford R, Parsons P, Slutsky AS, Tracey KJ, Ward P, Gail DB, Harabin AL. Future research directions in acute lung injury. Summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group. *Am J Respir Crit Care Med* 167(7): 1027-1035, 2003.
- 5.** Piantadosi CA, Schwartz DA. The acute respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med* 141(6): 460-470, 2004.
- 6.** Bellingan GJ. The pulmonary physician in critical care (part 6): the pathogenesis of ALI/ARDS. *Thorax* 57(6): 540-546, 2002.
- 7.** Puneet P, Moochhala S, Bhatia M. Chemokines in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 288(1): L3-L15, 2005.
- 8.** Mizuta K, Xu D, Pan Y, Comas G, Sonett JR, Zhang Y, Panettieri RA Jr, Yang J, Emala CW Sr. GABAA receptors are expressed and facilitate relaxation in airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294(6): L1206-L1216, 2008.
- 9.** Joo HK, Oh SC, Cho EJ, Park KS, Lee JY, Lee EJ, Lee SK, Kim HS, Park JB, Jeon BH. Midazolam inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced endothelial activation: involvement of the peripheral benzodiazepine receptor. *Anesthesiology* 110(1): 106-112, 2009.

- 10.** Farges RC, da Silva MB, Fröde TS. Implication of glucocorticoid in anti-inflammatory effects of Ro5-4864 in mouse pleurisy induced by carrageenan. *Life Sci* 78(16): 1814-1822, 2006.
- 11.** Matsumoto T, Ogata M, Koga K, Shigematsu A. Effect of peripheral benzodiazepine receptor ligands on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor activity in thioglycolate-treated mice. *Antimicrob Agents and Chemother* 38(4): 812-816, 1994.
- 12.** Cunningham AL, Hurley JV. Alpha-naphthylthiourea-induced pulmonary edema in the rat: a topographical and electron microscopy study. *J Pathol* 106(1): 25-35, 1972.
- 13.** Tsushima K, King LS, Aggarwal NR, De Gorordo A, D'Alessio FR, Kubo K. Acute lung injury review. *Inter Med* 48(9): 621-630, 2009.
- 14.** Guyton AC, Hall JE. 38. Bölüm, Pulmoner dolaşım, pulmoner ödem, plevra sıvısı. *Tıbbi Fizyoloji Kitabı, (Çev Ed: Hayrünnisa Çavuşoğlu) 10. baskı, s 444-451, Yüce Yayınları, İstanbul, 2001.*
- 15.** İkitimur B, Karpuz H. Akciğer ödemi. *Solunum* 5(6): 291-297, 2003.
- 16.** Özyurt Y, Erkal H, Demirhan R, Arıkan Z. Akut respiratuar distress sendromu (ARDS). *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 10: 126-130, 2002.
- 17.** Weinacker AB, Vaszar LT. Acute respiratory distress syndrome: physiology and new management strategies. *Annu Rev Med* 52: 221-237, 2001.
- 18.** Gürsel G. Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS). *Yoğun Bakım Dergisi* 2(2): 96-107, 2002.
- 19.** Mutate-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 295: L379-L399, 2008.

- 20.** Lopez-Aguilar J, Quilez ME, Marti-Sistac O, Garcia-Martin C, Fuster G, Puig F, Flores C, Villar J, Artigas A, Blanch L. Early physiological and biological features in three animal models of induced acute lung injury. *Intensive Care Med* DOI 10.1007/s00134-009-1695-x, 2009.
- 21.** Guery BP, Nelson S, Viget N, Fialdes P, Summer WR, Dobard E, Beaucaire G, Mason JM. Fluorescein-labeled dextran concentration is increased in BAL fluid after ANTU-induced edema in rats. *J Appl Physiol* 85(3): 842-848, 1998.
- 22.** Minty BD, Scudder CM, Grantham CJ, Jones JG, Bakhle YS. Sequential changes in lung metabolism, permeability, and edema after ANTU. *J Appl Physiol* 62(2): 491-6, 1987.
- 23.** Scott AM, Powell GM, Upshall DG. Pulmonary toxicity of thioureas in the rat. *Environ Health Perspect* 85: 43-50, 1990.
- 24.** Sipahi Yilmaz E, Hodoglugil U, Ustun H, Zengil H, Turker RK, Ercan ZS. An unexpected interaction between NG-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine in alpha-naphthylthiourea-induced pulmonary oedema in rats. *Eur J Pharmacol* 321(1): 45-51, 1997.
- 25.** Sipahi E, Hodoglugil U, Ercan ZS, and Türker RK. Acute effect of endothelin-1 on lung oedema induced by alpha naphthylthiourea (ANTU). *Pharmacol Res* 33(6): 375-378, 1996.
- 26.** O'Brien RF, Makarski JS, Rounds S. Studies on the mechanism of decreased angiotensin I conversion in rat lungs injured with alpha-naphthylthiourea. *Exp Lung Res* 8(4): 243-59, 1985.
- 27.** Ercan ZS, Eren S, Zengil H, Türker RK. Possible involvement of eicosanoids in alpha-naphthylthiourea-induced pulmonary oedema and alteration of angiotensin-converting enzyme activity. *Pharmacology* 46(5): 274-280, 1993.

- 28.** Sipahi EY, Ozel Tekin I, Comert M, Barut F, Ustun H, Sipahi TH. Oxidized low-density lipoproteins accumulate in rat lung after experimental lung edema induced by alpha-naphthylthiourea (ANTU). *Pharmacological Research* 50(6): 585-591, 2004.
- 29.** Comert M, Sipahi EY, Ustun H, Isikdemir F, Numanoglu G, Barut F, Altunkaya H, Ozer Y, Niyazi Ayoglu F, Sipahi TH, Tekin IO, Banoglu ZN. Morphine modulates inducible nitric oxide synthase expression and reduces pulmonary oedema induced by alpha-naphthylthiourea. *Eur J Pharmacol* 511(2-3): 183-189, 2005.
- 30.** Sipahi E, Ustün H, Niyazi Ayoglu F. Acute effects of pentobarbital, thiopental and urethane on lung oedema induced by alpha naphthylthiourea (ANTU). *Pharmacol Res* 45(3): 235-239, 2002.
- 31.** Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt, 10. Basım, s.717-718, Hacettepe Taş Kitapçılık, Ankara, 2002.
- 32.** Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt, 12. Basım, s.644-646, Pelikan Kitapçılık, Ankara, 2009.
- 33.** Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Tedavinin Farmakolojik Temeli, Goodman & Gilman (Çev. Ed: Öner Süzer), s. 407, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul,2009.
- 34.** Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt, 10. Basım, s.828, Hacettepe Taş Kitapçılık, Ankara, 2002.
- 35.** Snyder SH, Verma A, Trifiletti RR. The peripheral-type benzodiazepine receptor: a protein of mitochondrial outer membranes utilizing porphyrins as endogenous ligands. *FASEB J* 1(4): 282-288, 1987.
- 36.** Erne P, Chiesi M, Longoni S, Fulbright J, Hermsmeyer K. Relaxation of rat vascular muscle by peripheral benzodiazepine modulators. *J Clin Invest* 84: 493-498, 1989.

- 37.** Canat X, Carayon P, Bouaboula M, Cahard D, Shire D, Roque C, Le Fur G, Casellas P. Distribution profile and properties of peripheral-type benzodiazepine receptor on human hematopoietic cells. *Life Sci* 52: 107-118, 1993.
- 38.** Bessler H, Weizman R, Gavish M, Notti I, Djaldetti M. Immunomodulatory effect of peripheral benzodiazepine receptor ligands on human mononuclear cells. *J Neuroimmunol* 3881-2): 19-25, 1992.
- 39.** Zavala F, Taupin V, Descamps-Latscha B. In vivo treatment with benzodiazepine inhibits murine phagocyte oxidative metabolism and production of interleukin-1, tumor necrosis factor and interleukin-6. *J Pharmacol Exp Ther* 255(2): 442-450, 1990.
- 40.** Torres SR, Nardi GM, Ferrara P, Ribeiro-do-Valle RM, Farges RC. Potential role of peripheral benzodiazepine receptors in inflammatory responses. *Eur J Pharmacol* 385(2-3): R1-R2, 1999.
- 41.** Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1. Cilt, 12. Basım, s.647-649, Pelikan Kitapçılık, Ankara, 2009.
- 42.** Ben-Abraham R, Guttman M, Flaishon R, Marouani N, Niv D, Weinbroum AA. Mesenteric artery clamping/unclamping-induced acute lung injury is attenuated by N-methyl-D-aspartate antagonist dextromethorphan. *Lung* 184(6): 309-317, 2006.
- 43.** Dickman KG, Youssef JG, Mathew SM, Said SI. Ionotropic glutamate receptors in lungs and airways: molecular basis for glutamate toxicity. *Am J Respir Cell Mol Biol* 30(2): 139-144, 2004.
- 44.** Erdem MK. Alfa-naftiltiyöüre (ANTU) ile oluşturulan deneysel pulmoner ödem modelinde anestezi maddelerin etkileri. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2010.
- 45.** Marchertiene IA, Macas A, Karbonskiene A. Pulmonary edema and hemorrhage as complications of acute airway obstruction following anesthesia. *Medicina (Kaunas)* 44(11): 871-876, 2008.

- 46.** Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, Niwa Y. The inhibitory effects of thiopental, midazolam, and ketamine on human neutrophil functions. *Anesth Analg* 86(1): 159-165, 1998.
- 47.** Kohjitani A, Miyawaki T, Funahashi M, Higuchi H, Matsuo R, Shimada M. Ketamine and midazolam differentially inhibit nonadrenergic noncholinergic lower esophageal sphincter relaxation in rabbits: role of superoxide anion and nitric oxide synthase. *Anesthesiology* 98(2): 449-458, 2003.
- 48.** Sawynok J, Reid A. Peripheral interactions between dextromethorphan, ketamine and amitriptyline on formalin-evoked behaviors and paw edema in rats. *Pain* 102(1-2): 179-186, 2003.
- 49.** Bribes E, Bourrie B, Esclangon M, Galiegue S, Vidal H, Casellas P. Involvement of the peripheral benzodiazepine receptor in the development of rheumatoid arthritis in Mrl/lpr mice. *Eur J Pharmacol* 452: 111-122, 2002.
- 50.** Corsi L, Geminiani E, Baraldi M. Peripheral benzodiazepine receptor (PBR) new insight in cell proliferation and cell differentiation review. *Curr Clin Pharmacol* 3(1): 38-45, 2008.
- 51.** Obame FN, Zini R, Souktani R, Berdeaux A, Morin D. Peripheral benzodiazepine receptor-induced myocardial protection is mediated by inhibition of mitochondrial membrane permeabilization. *J Pharmacol Exp Ther* 323(1): 336-45, 2007.
- 52.** Brown DA, Aon MA, Akar FG, Liu T, Sorrairain N, O'Rourke B. Effects of 4'-chlorodiazepam on cellular excitation-contraction coupling and ischemia-reperfusion injury in rabbit heart. *Cardiovasc Res* 79(1): 141-149, 2008.
- 53.** Said SI. Glutamate receptors and asthmatic airway disease. *Trends Pharmacol Sci* 20(4): 132-135, 1991.

54. Polak MJ, Xiao S, Ashton CA, Baylis C. NMDA alters the development of hypoxic pulmonary vasoconstriction and nitric oxide synthetase activity in the isolated perfused rat lung. *Exp Lung Res* 28(3): 251-263, 2002.

55. Said SI, Pakbaz H, Berisha HI, Raza S. NMDA receptor activation:critical role in oxidant tissue injury. *Free Radic Biol Med* 28(8): 1300-1302, 2000.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 28/01/2010
TOPLANTI NO : 2010/01

- 5- Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, 2010-05-28/01 Protokol nolu "Akut Akciğer Hasarında Periferik Benzodiazepin Reseptörlerinin Rolü" konulu çalışmasının ZKÜ Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliğı ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

9. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Almanya’da doğdu. İlköğrenimini İnönü İlköğretim Okulunda, orta ve lise öğrenimini ise Davut Fırıncıoğlu Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2003-2007 yıllarında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde lisans eğitimini tamamladı. 2007 yılında halen sahibi ve mesul müdürlüğünü yaptığı Deva Eczanesi’ni açtı. 2008 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.