

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

**KRONİK SÜREKLİ HİPOKSİ BOYUNCA BEYİN SAPI NTS
BÖLGESİ ÜZERİNDE PLASTİSİTE BAĞIMLI İNFLAMATUAR
SİNYAL MEKANİZMASININ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Danışmanlar
Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN
Dr. Öğr. Üyesi Taha KELEŞTEMUR

Yüksek Lisans Tezi

Aralık 2019
KAYSERİ

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

**KRONİK SÜREKLİ HIPOKSİ BOYUNCA BEYİN SAPI NTS
BÖLGESİ ÜZERİNDE PLASTİSİTE BAĞIMLI İNFLAMATUAR
SİNYAL MEKANİZMASININ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Danışmanlar

Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN

Dr. Öğr. Üyesi Taha KELEŞTEMUR

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TYL-2018-
8542 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Aralık 2019

KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Seher Berna KIRDÖK TANŞU

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

" Kronik Sürekli Hipoksi Boyunca Beyin Sapı NTS Bölgesi Üzerinde Plastisite Bağımlı İnflamatuar Sinyal Mekanizmasının Sıçanlarda Araştırılması " adlı Yüksek lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Danışman

Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN



Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nurcan DURSUN



Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN danışmanlığında **Seher Berna KIRDÖK TANŞU** tarafından hazırlanan "**Kronik Sürekli Hipoksi Boyunca Beyin Sapı NTS Bölgesi Üzerinde Plastisite Bağımlı İnflamatuar Sinyal Mekanizmasının Sıçanlarda Araştırılması**" adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

24.12.2019

JÜRİ

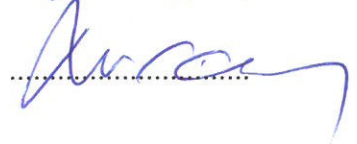
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN
(Erciyes Üniversitesi Fizyoloji ABD)

Üye : Prof. Dr. Nurcan DURSUN
(Erciyes Üniversitesi Fizyoloji ABD)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi. Murat ÇAKIR
(Yozgat Bozok Üniversitesi Fizyoloji ABD)

İmza







ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununve
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı yapan, tez konumun seçilmesi, planlanması ve yürütülmesinde bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN'a şükranlarımı sunarım. Eğitimim sürecinde yardımını esirgemeyen, her zaman destekçim olan ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Esma KIRDÖK ve babam İzzet KIRDÖK'e, her zaman yanımda olan sevgili eşim Dr. Mahmud Sami TANŞU'ya ve kardeşim Dr. Şerife Merve KIRDÖK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Nurcan DURSUN'a ve diğer bölüm hocalarıma, bu çalışmayı yaparken katkılarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Çağlar KARAKAYA'ya ve diğer arkadaşlarıma yardımlarından dolayı tek tek çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam boyunca Ekim 2018- Eylül 2019 tarihleri arasında 1 yıl süre ile '2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurtiçi Yüksek Lisans Burs Programı' kapsamında 1649B021805165 başvuru numaram ile beni destekleyen TÜBİTAK'a şükranlarımı sunarım.

**KRONİK SÜREKLİ HIPOKSİ BOYUNCA BEYİN SAPI NTS BÖLGESİ
ÜZERİNDE PLASTİSİTE BAĞIMLI İNFLAMATUAR SİNYAL
MEKANİZMASININ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2019

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi, Kemal Erdem BAŞARAN

ÖZET

Arteriyal kemoreseptörler, organizmanın hipoksiye verdiği ventilasyon cevabının ilk basamağını oluştururlar ve etki hipoksiye maruz kalmanın sıklığı, şiddeti ve süresine bağlı olan farklı mekanizmaların etkileşimini gerektirir. Bu mekanizmalar, başlıca solunum kontrol merkez nöronlarının plastisitesini gerektirmektedir. Aralıklı hipoksi, respiratuvar nöronların serotonin veya adenozin bağımlı uzun süreli fasilitasyonuna (USF) neden olmaktadır. Bununla birlikte, adenozin 2A reseptörlerinin hipoksiye ventilasyonun aklimitizasyonunun (VAH) oluşumuna ve korunmasına katkısı ve bu katkısının glial hücre aktivasyonuna bağlı olup olmadığı konusunda bilinenler azdır. Bu tez çalışmasının hipotezi, ventilatuvar nöroplastisitenin glial hücre aktivasyonuna bağlı olarak salgılanan adenozinin 2A reseptörleri (A₂AR) üzerinden VAH sürecinin oluşma ve korunmasında etkisinin olacağıdır. Bu tez çalışmasında 72 adet yetişkin Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Bütün sıçanlar deniz seviyesinden 2100 m yükseklikte tutuldu ve Sham (%21 O₂) ve hipoksi grubu (%10 ve %13O₂) olarak ikiye ayrıldı. Yedi gün süreyle sıçanlara ya bir uygulama yapılmadı; ya da DMSO (dimetil sülfoksit) veya A₂AR antagonisti esterdisodyum tuzu (MSX-3, 1mg/kg) verildi. Bu süre boyunca gruplara uygun protokol uygulandıktan sonra tüm vücut pletismografisi (TVP) kullanılarak ventilasyon, solunum frekansı ve tidal hacim ölçümleri yapıldı. Ölçümlerden hemen sonra beyin sapı dokusu çıkartıldı ve immünofloresan görüntüleme protokolü uygulandı. İstatiksel analiz için uygun ANOVA testleri ve gerektiğinde post-hoc testler yapıldı. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi. Sıçanlar kronik sürekli hipoksiye maruz bırakıldığında, A₂AR reseptör blokajı uygulanan gruplarda,

ventilasyon, uygulanmayan gruplara göre şiddetli hipokside daha belirgin olmak üzere daha düşük bulundu. Hipoksi şiddetinin daha yüksek olduğu gruplarda, A₂AR reseptör aktivasyon yoğunluğu, MSX-3 uygulanan gruplarda, hipoksinin daha az şiddette olduğu gruplara göre artmış olarak bulundu.

Sonuç olarak; bu bulgular adenozin 2A reseptörlerinin VAH oluşum ve korunmasında katkısı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Ventilatuvar plastisite, Ventilatuvar inflamasyon, Adenozin, Hipoksik ventulatuvar yanıt, Solunumsal nöral plastisite, Ventilasyonun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH)

**INVESTIGATION OF PLASTICITY DEPENDENT INFLAMMATORY
SIGNALING MECHANISM IN BRAINSTEM NTS REGION DURING
CHRONIC CONTINUOUS HYPOXIA IN RATS**

Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Erciyes University, Health Science Institute, Department of Physiology

Master Thesis, December 2019

Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Advisor: Asst Prof. Kemal Erdem BAŞARAN

ABSTRACT

Arterial chemoreceptors constitute the first step of the ventilation response of the organism to hypoxia and the net effect of this response is the interaction between different mechanisms depending on the frequency, severity and duration of hypoxic stimulation. These mechanisms require the plasticity of mainly respiratory control central neurons. Intermittent hypoxia causes serotonin or adenosine-dependent long-term facilitation (LTF) of respiratory neurons. However, little is known about the contribution of adenosine 2A receptors to the formation and maintenance of acclimatization to hypoxia of ventilation (VAH), and whether this contribution is due to glial cell activation. The hypothesis of this thesis is that the 2A receptors ($A_{2A}R$) secreted by glial cell activation of ventilatory neuroplasticity may have an impact on the formation and maintenance of the VAH process. In this thesis, 72 adult Sprague-Dawley male rats were used. All rats were kept at an altitude of 2100 m above sea level and divided into Sham (21% O_2) and hypoxia group (10% and 13% O_2). During seven days the rats were either not treated or injected with Dimethyl sulfoxide (DMSO) or $A_{2A}R$ antagonist which is ester disodium salt (MSX-3, 1 mg/kg). During this seven days, ventilation (V), respiratory frequency (fR) and tidal volume (TV) measurements were performed using whole body plethysmography (WBP). Brain stem tissue was removed immediately after measurements and immunofluorescence imaging protocol was applied. For statistical analysis, appropriate ANOVA tests were performed and post-hoc tests were performed when necessary. Significance level was accepted as $p < 0.05$. Ventilation was found to be significantly lower in groups which is treated with $A_{2A}R$ receptor blockade than in untreated groups when the rats were exposed to chronic persistent hypoxia. This decline was more pronounced in severe hypoxia. The concentration of $A_{2A}R$ receptor activation was found to be increased in the groups with

higher hypoxia severity and with less hypoxia in MSX-3 treated groups.

As a result; These findings suggest that adenosine 2A receptors may contribute to the formation and maintenance of VAH.

Keywords: Adenosine, hypoxic ventilatory response, ventilatory plasticity, ventilatory inflammation, Ventilatory neural plasticity, Acclimatization to Hypoxia (VAH),



İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xvi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xviii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1.Solunumun Kontrolü.....	5
2.1.1.Solunum Merkezinin Nöro-Anatomik Lokasyonu.....	6
2.1.2.Dorsal Solunum Grubu (DRG).....	7
2.1.3.Ventral Solunum Grubu (VRG)	9
2.1.4.Pons, Pontin Solunum Grubu (PRG) ve Serebral Korteks	10
2.1.5.Solunum Refleksinin Oluşumu.....	11
2.2.Ventilatuvar Kemosensitivite.....	13
2.3. Periferal Kemoreseptör Sistemi.....	14
2.4. Merkezi Kemoreseptör Sistemi	15
2.5. Periferal ve Merkezi Solunumsal Kemoreflekslerin Entegrasyonu	20
2.6. Uzun süreli fasilasyon.....	22
2.7.Ventilasyonun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH).....	27
2.8. VAH Oluşum Teorileri.....	29

2.9. Kronik Hipoksi Boyunca Plastisite Mekanizmaları	30
2.10. Kronik Sürekli Hipoksi ve Adenozin 2A reseptör Aktivasyonu	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1.DENEY HAYVANLARI.....	39
3.2.DENEY GRUPLARI	39
3.2.1.İlaç Dozları:	42
3.3. VENTİLASYON PARAMETRELERİ ÖLÇÜM PROTOKOLLERİ.....	42
3.3.1.Sham Modeli TVP Ölçümü	43
3.3.2. Kronik Sürekli Hipoksi Modeli TVP Ölçümü.....	44
3.4.Doku Perfüzyonu, Dokuların Çıkarılması ve Doku kesitlerinin alınması.....	45
3.5.Floresan Boyama ve Floresan Görüntüleme	45
3.6.İstatistiksel Analiz	46
4.BULGULAR	47
4.1. Orta şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamalarının ventilasyon parametleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi	47
4.2. Şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamalarının ventilasyon parametleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi	54
4.3. Orta şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamasının hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi	61
4.4. Şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamasının hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi.....	67
4.5. Yapılan aynı ilaç uygulamasının gruplar arası hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi.....	74
4.6. İmmünfloresan Boyamalar	79
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	82
6.KAYNAKLAR	87

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR ve SİMGELER

AAH	: Akut aralıklı hipoksi
A₂AR	: Metabotropik adenzin 2A reseptör alt tipi
AC	: Adenilil siklazı
ACh	: Asetil kolin
ANT	: Antagonist
AP	: Postrema alanı
ASH	: Akut sürekli hipoksi
ATP	: Adenzin trifosfat
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BötC	: Bötzinger kompleksi
BDNF	: Beyinden salgılanan nörotrofik faktör
CSN	: Karotid sinüs siniri (hering siniri)
CPG	: Merkezi solunum ritim modeli jeneratörü
cVRG	: Kaudal ventral solunum grubu
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DMN	: Dorsal motor nöron
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DRG	: Dorsal solunum grubu
Erk	: Hücre dışı düzenleyici kinaz
ent-1/2	: Dengeli nükleozid taşıyıcıları
fMF	: Frenik motor fasilitasyon
fUSF	: Frenik uzun süreli fasilitasyon
f_R	: Solunum frekansı
GABA	: Gama (γ) aminobütrik asit
GABA_A	: Gama (γ) aminobütrik asit A reseptör alt tipi

H	: Histamin
HCVR	: Hiperkapnik ventilatuvar cevap
HD	: Hipoksik desensitizasyon
hUSF	: Hipoglossal uzun süreli fasilitasyon
HVC	: Hipoksik ventilatuvar cevap
HVD	: Hipoksik ventilasyon düşüşü
HX	: Hipoksi
iTrkB	: Olgunlaşmamış tropomiyozin bağlantılı kinaz B
KAH	: Kronik aralıklı hipoksi
KF	: Kölliker-fuse nükleus
KSH	: Kronik sürekli hipoksi
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KON	: Kontrol
LC	: Lokus seruleus
MSS	: Merkezi sinir sistemi
MSX-3	: Adenozin 2A reseptör antagonisti (Ester disodium tuzu)
MVb	: Ventilasyon
NA	: Nükleus retroambigualis
NP	: Nükleusu para-ambigualis
NR	: Nükleus retrofasialis
NHE3	: Na ⁺ /H değiştirici protein alt tipi 3
NTS	: Nükleus traktus solitarius (veya nükleus solitari trakt)
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NPBL	: Nükleus parabrakialis lateralis
NPBH	: Nükleus parabrakialis medialis
NX	: Normoksi
oşKSH	: Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi
oşSham	: Orta şiddetli sham

PBS	: Fosfat tamponu
PaO₂	: Arteriyel parsiyel oksijen basıncı
PaCO₂	: Arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı
pERK	: Fosforillenmiş ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz
pAkt	: Fosforillenmiş protein kinaz B
pPKB	: Fosforillenmiş protein kinaz B
pErk	: Fosforillenmiş hücre dışı düzenleyici kinaz
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PRG	: Pontin solunum grubu
RTN	: Retrotrapezoid nükleus
rVRG	: Rostral ventral solunum grubu
şKSH	: Şiddetli kronik sürekli hipoksi
şSham	: Şiddetli Sham
TASK	: TWIK bağlantılı asit duyarlı K ⁺ kanalları
TrkB	: Tropomiyozin bağlantılı kinaz B
TV	: Tidal volüm
TVP	: Tüm vücut pletizmıgrafisi
USF	: Uzun süreli fasilitasyon
vUSF	: Ventilatuvar (Solunumsal) uzun süreli fasilitasyon
VAH	: Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu
VDH	: Ventilasyonun hipoksiye deaklimatizasyonu
VRG	: Ventral solunum grubu
VLM	: Vento lateral medulla
Vi	: Ventilasyon
V_T	: Tidal volüm
yBOS	: Yapay beyin omurilik sıvısı
5-HT	: 5-hidroksitriptamin (serotonin)

5-HT_{2A}R	: Serotonin 2A reseptör alt tipi
5-HT₇	: Serotonin 7
α-1	: Alfa 1 adrenerjik reseptör



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Şiddetli Sham alt grupları.....	41
Tablo 2. Orta şiddetli Sham alt grupları	41
Tablo 3. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi alt grupları	42
Tablo 4. Şiddetli kronik sürekli hipoksi alt grupları.....	42
Tablo 5. Orta Şiddetli Sham grubu ventilasyon bulguları tablosu	51
Tablo 6. Orta Şiddetli KSH grubu ventilasyon bulguları tablosu	51
Tablo 7. Orta Şiddetli Sham grubu frekans bulguları tablosu.....	51
Tablo 8. Orta Şiddetli KSH grubu frekans bulguları tablosu	52
Tablo 9. Orta Şiddetli Sham grubu tidal volüm bulguları tablosu	52
Tablo 10. Orta Şiddetli KSH grubu tidal volüm bulguları tablosu	52
Tablo 11. Şiddetli Sham grubu ventilasyon bulguları tablosu	58
Tablo 12. Şiddetli KSH grubu ventilasyon bulguları tablosu.....	58
Tablo 13. Şiddetli Sham grubu frekans bulguları tablosu	58
Tablo 14. Şiddetli KSH grubu frekans bulguları tablosu	59
Tablo 15. Şiddetli Sham grubu tidal volüm bulguları tablosu.....	59
Tablo 16. Şiddetli KSH grubu tidal volüm bulguları tablosu.....	59
Tablo 17. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının ventilasyon bulguları tablosu.....	63
Tablo 18. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının frekans bulguları tablosu.	64
Tablo 19. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının tidal volüm bulguları tablosu.....	64
Tablo 20. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının ventilasyon bulguları tablosu	69
Tablo 21. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının frekans bulguları tablosu	69
Tablo 22. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının tidal volüm bulguları tablosu	70

Tablo 23: oşSham ve şSham grupları frekans bulguları	74
Tablo 24: oşSham ve şSham grupları tidal volüm bulguları.....	75
Tablo 25: oşSham ve şSham grupları ventilasyon bulguları.....	75
Tablo 26: oşKSH ve şKSH grupları frekans bulguları.....	76
Tablo 27: oşKSH ve şKSH grupları tidal volüm bulguları.....	77
Tablo 28: oşKSH şKSH grupları ventilasyon bulguları.....	78
Tablo 29: Beyin sapı üzerindeki NTS bölgesindeki A ₂ A reseptörlerin normoksi ve hipoksiye maruziyeti sonrasındaki aktivasyon yoğunlukları.	79



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Beyin sapı üzerindeki solunum grubu bölgeleri.	8
Şekil 2. Medulla üzerindeki solunum nöronlarının dorsal ve ventral görünümü.	10
Şekil 3. Solunum Refleksinin oluşması.	13
Şekil 4. Periferel ve Merkezi Kemoreflekslerin etki mekanizması.	22
Şekil 5. Frenik uzun süreli fasilitasyon oluşumunda kullanılan modelin duyarlılığı.	24
Şekil 6. 5-HT ₂ ve A _{2A} / 5-HT ₇ reseptörlerinin aktivasyonu ile USF oluşumu.	26
Şekil 7. Sürekli hipoksi boyunca ventilasyondaki zaman bağımlı değişiklikler.	28
Şekil 8. Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonundaki (VAH) değişiklikler.	29
Şekil 9. Hipoksi şiddetine ve modeline bağlı olarak uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna yol açan Q ve S yolakları arasındaki çapraz cevaplı inhibitör etkileşimler.	33
Şekil 10. Merkezi sinir sisteminde adenzin salınımına hipoksinin etkisi.	37
Şekil 11. Sham modeli için zamana bağlı TVP ölçüm protokolü.	43
Şekil 12. Kronik sürekli hipoksi modeli için zamana bağlı TVP ölçüm protokolü.	44
Şekil 13. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafikleri.	50
Şekil 14. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafikleri.	57
Şekil 15. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH grupları arası zaman bağımlı hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları çizgi grafikleri.	62
Şekil 16. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH grupları arası hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları çizgi grafikleri.	68
Şekil 17. Beyin sapı üzerindeki NTS bölgesindeki A _{2A} reseptörlerin normoksi ve hipoksiye maruziyeti sonrasındaki aktivasyon yoğunlukları çizgi grafiği.	79
Şekil 18: oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A _{2A} reseptör aktivasyon, beyaz işaretli alanlar NTS bölgeleri.	80
Şekil 19: oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A _{2A} reseptör aktivasyonu.	80

- Şekil 20:** şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi. 80
- Şekil 21:** şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu. 80
- Şekil 22:** oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi. 81
- Şekil 23:** oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu. 81
- Şekil 24:** şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi. 81
- Şekil 25:** şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu. 81

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sistemik hipoksi periyodlarına (akciğer hastalıkları, uyku apnesi veya yüksek irtifada yaşayanlar gibi) maruz kalınması, primer olarak karotid organ içerisinde yer alan arteriyel kemoreseptörler aracılığı ile ventilasyonun hipoksiye verdiği cevap, vücudun ilk savunma hattıdır (Fitzgerald ve Lahiri, 2011). Ventilasyonun hipoksiye verdiği cevabın net etkisi, hipoksiye maruz kalmanın modeline (aralıklı veya sürekli nöbet), yoğunluğuna (günler, haftalar veya aylarca sürmesi) ve şiddetine (parsiyel oksijen basıncı değeri) bağlı olarak farklı mekanizmalar arasındaki etkileşimle gerçekleşmektedir (Powell ve ark., 1998). Hipoksik stimülasyonun modeline bağlı olan, hipoksik ventilatuvar cevap (HVC), artan nörotransmitter salınımı gibi geçici sinaptik aktiviteyi değiştiren kısa zamanlı etkilerle sonuçlanır. Bunun yanında reseptör modifikasyonu ve yeni protein sentezinden kaynaklanan solunumun kontrol devresindeki kimyasal sinapslardaki direncin değişmesi gibi uzun zamanlı etkilerle de sonuçlanabilmektedir (Pamenter ve Powell, 2013). Bu değişimler saniyelerden yıllara kadar sürebilen ventilasyonun ya fasilasyonu ya da depresyonu ile sonuçlandığı görülmüştür (Powell ve ark., 1998; Pamenter ve Powell, 2013). Bu gibi mekanizmaların ventilasyonun cevabını zamana bağlı olarak değiştirdiğinin öğrenilmesinden bu yana solunumun kontrol sistemi içerisinde nöroplastisiteye örnek olarak gösterilmişlerdir (Mitchell ve Johnson, 2003). Örneğin, aralıklı hipoksi dilimleri sonrasında, son stimülasyondan 90 dakika sonrasındaki tidal volümdeki artış, ventilasyonda uzun süreli fasilasyon oluşumu ile sonuçlanmıştır (Eldridge ve Millhorn, 1986; Mitchell, 2001a). Bu duruma alternatif olarak, günlerden aylara kadar süren kronik sürekli hipoksi durumunda, hipoksik stimülasyonun kalkmasının ardından daha çok solunum frekansına bağlı ventilasyon artışının görüldüğü ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Powell ve ark., 1998). Hipoksemi ile solunumun hipoksiye verdiği cevap, aralıklı hipoksi ile uyku apnesinde görülen solunumsal uzun süreli fasilasyon (vUSF) ve kronik hipoksemi ile obstruktif pulmoner hastalıklarda

görülen ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) gibi çeşitli plastisite mekanizmaları bu durumların farklı zamanlarının etkileri için bu konuya dahil edilmektedir.

Solunumun kontrolünün fizyolojik temelini, solunum ritminin oluşması ve bu ritmi düzenleyen reflekslerin nörobiyolojisi oluşturur. Bu nöral kontrol sisteminin temel özelliklerinden birisi olan plastisite, solunumun motor kontrolünün adaptasyonunun uzun süre kalıcı veya devamlı olmasını sağlayan bir mekanizmadır. Hücresel ve sinaptik özelliklerdeki uzun dönemli fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler solunum plastisitesinin temelini oluşturmaktadır. Hipoksi tarafından indüklenen solunumsal plastisite; hipoksiye ne sıklıkla (aralıklarla veya sürekli), hangi şiddette (O_2 yüzdesi) ve ne kadar süre ile (zamana bağlı) maruz kalındığına bağlı olarak ventilasyonun bu durumlara verdiği cevaplar yönünden farklılıklar içermektedir. Hipoksiye aralıklarla veya sürekli maruz kalınması, solunumun kontrol sistemi içerisinde farklı mekanizmalarla tanımlanmaya çalışılan plastisite oluşumuna neden olmaktadır. Aralıklı hipoksi, belirli süre dilimleri ile (örneğin 5 dakika 3'er kez hipoksi nöbeti) düşük O_2 seviyesine (%10-%13) maruz kalma ve daha sonra bunu reoksijenizasyonun takibi ile serotonin salınmasını indükleyerek uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olmaktadır. Bir başka durum olarak; hipoksinin şiddetlenmesi (oksijen yüzdesinin azalması) ve/veya hipoksinin süresinin uzamasıyla bağlantılı olarak adenozin birikimi ile yinelenen hücresel olaylar uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olmaktadır. Nöroplastisitenin birçok modelinde, plastisiteyi başlatan faktörler, aracılık eden faktörlerden farklıdır. Aracılık eden faktörler çoğunlukla hücresel kaskadların veya sinaptik mekanizmaların farklı zaman aralıklarında aktive olmasından kaynaklanır. Kısa zaman aralıklarında aktive olan kinazlar, artan sinaptik transmiseyona neden olan mevcut proteinlere modifiye olmaktadır. Fakat uyarıların fazlalaşması, yeni protein sentezi veya protein yıkımının gecikmesi ile tetiklenerek daha uzun ömürlü plastisiteye neden olmaktadır. Hipoksiye maruz kalınma modeline göre uyarıyı başlatan güç (serotonin ve/veya adenozin reseptör aktivasyonu) burada kilit faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Aralıklı hipoksiden farklı olarak sürekli hipoksi ise reoksijenizasyonun uzun süre sağlanamaması nedeniyle ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonunun oluşumuna neden olmaktadır. Hipoksinin şiddetinin artması veya sürekliliği merkezi sinir

sisteminde (MSS) nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden adenozintrifosfat (ATP), adenozin veya adenin nükleotid salınımını arttırdığı bilinmektedir. Bu durumda şiddetli hipoksiye maruz kalınması potansiyel olarak nöronlardan ve glia hücrelerinden daha çok ATP/adenozin salınımını arttıracaktır. Orta şiddetli (%10- %13 O₂) hipoksi boyunca plastisite oluşumunda neden olan serotonin bağımlı yolağın yerine hipoksinin şiddetinin (<%10 O₂) veya sürekliliğinin artması plastisiteye neden olan reseptörler arasındaki çapraz cevap inhibisyonuyla, nükleus traktus solitarius (NTS) üzerinde adenozin bağımlı plastisite mekanizmasının ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu oluşumuna neden olacağı konusuna bu tez çalışmasında değinilmiştir. Bunun yanında adenoze bağımlı ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu oluşumunu sadece uzun süreli fasilitasyon (USF) için önerilen moleküler sinyal yolları ile açıklamak yetersiz kalacaktır. Hipoksiye bağımlı inflamasyon oluşumu ATP' nin yıkılıp sinaptik boşlukta fazla adenozin birikimiyle glial aktivasyona neden olabileceği hipotezi literatürde açık bir şekilde ifade edilmiş ve bu çalışmada üzerinde durulan hususlardan biri olmuştur. Sürekli hipoksi ile indüklenen nöronal plastisite oluşumunu, glial hücre aktivasyonuna bağımlı inflamatuvar sinyallerle birlikte açıklamak ve solunum yetmezliği/düzensizliği olan hastaların tedavisinde A₂AR antagonistlerinin kullanılabilirliğini test ederek hem nöroplastisite oluşumu hem de glial hücre morfolojisi üzerindeki etkisini göstermek istediğimiz bu tez çalışmasının iki amacı vardır.

1. Adenozin bağımlı USF oluşumu için üzerinde çalışılan sinyal mekanizmasının, ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu için potansiyel bir sinyal mekanizması olarak kullanılabilirliğinin test edilmesi ve her iki duruma karşı oluşan nöral plastisite mekanizmalarının benzerlik ve farklılıklarının gösterilmesine katkı sağlamak,
2. Ventilatuvar plastisitenin medulla üzerinde en az bir merkezi kemoreseptör alanı (NTS) üzerinde oluşmasının karşılaştırılması.

Bu çalışma ile birçok araştırmacı tarafından sadece hipoksiye bağımlı olduğu düşünülerek çalışılan, ventilasyonun plastisitesine neden olan potansiyel mekanizmalara ek olarak inflamatuvar mekanizmaların da ventilatuvar plastisite oluşumunda önemli bir yeri olduğuna açıklama getirmek hedeflendi.

Buna bağımlı olarak bu tez çalışmasının hedefi sürekli hipoksi gibi bir deneysel modelin nöroplastisiteye ve nöroinflamasyona yol açan reseptör inhibisyonunu sağlayan antagonist ilaçların uygulama alanlarının geliştirilmesine ve hipoksi boyunca

inflamasyonun gelişmesiyle tedavide anti-inflamatuar ilaç kullanımına yardımcı ek bilgiler elde etmeye yönelik katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Solunumun Kontrolü

Gebeliğin erken dönemlerinde fetal beyin sapında, uzun yıllar kesintisiz olarak ritmik solunum aktivitesi oluşturacak olan "solunum merkezi" gelişir (Blanco, 1994). Solunum işlevi, uterus içerisinde, üçüncü trimester dönemi boyunca aralıklarla başlar ve doğumla birlikte, kısa duraksamalar haricinde, aralıksız olarak devam eder (Feldman ve ark., 2003). Solunum, fiziksel ve kimyasal reflekslerin kombinasyonu ile kontrol edilmesine ve vücutta istemsiz bir mekanizma olmasına rağmen kısa zaman aralıklarında tamamen istemli olarak kontrol edilebilir. Bunun yanında solunum, yutma sırasında kesilebilir ve esneme, kusma, hıçkırma, hapşırma, öksürme gibi olaylarda istemsiz ve ritmik olmayan bir davranış gösterebilir (Davies ve Moores, 2010). İnsan vücudu arteriyel pH' yi, arteriyel parsiyel oksijen basıncını (P_{aO_2}) ve arteriyel parsiyel karbondioksit basıncını (P_{aCO_2}) normal limitlerinde tutmak, dokuların oksijen ihtiyacını karşılamak, solunumun mekanik işini azaltmak ve çevresel ajanların sebep olduğu akciğer hasarlanmasını önlemek için birçok fizyolojik kontrol sistemini içinde bulundurur. Solunumu kontrol eden bu sistemler, arteriyel kan gazlarına ve pH' ye duyarlı olan kemoreseptörlerin, akciğer ve ventilatuvar hava yollarındaki veya iskelet kasındaki ve göğüs kafesi duvarındaki reseptörlerin uyarılmasıyla oluşan refleks cevapları içermektedir. Fakat solunum için gereken ritmik enerji, bu reflekslerden bağımsız olarak oluşur ve beyin sapı (pons ve medulla) üzerindeki nöronlar tarafından üretilir. Bundan dolayı solunumun kontrolünün fizyolojik temelini, solunum ritminin oluşması ve bu ritmi düzenleyen reflekslerin nörobiyolojisi oluşturur (Powell, 2004).

Solunumun önemli fonksiyonlarından biri, kandaki ve beyindeki O_2 , CO_2 ve pH miktarını düzenlemektir. Diğer fonksiyonlarından biri, düzenlenen bu değişkenlerin (sıcaklık da dahil olmak üzere) ventilasyonun ritmik motor aktivitesiyle sürekliliğinin korunmasını sağlayabilmektir. Solunumun başka bir özelliği ise, nefes tutmayı veya

uyku apnesi gibi durumları saymazsak, solunumun hiçbir zaman kesintiye uğramamasıdır. İnsanlar da dahil olmak üzere memeliler, uyku/uyanıklık durumlarında, dinlenme/egzersiz sırasında, panik/korku durumlarında, anestezi altındayken ve bunlar gibi bütün davranış koşulları altında nefes almaya devam eder (Feldman ve ark., 2013). Solunumun kontrolü, sinir bilimciler için özel bir ilgi alanı oluşturmuş ve bu kontrol mekanizması için üç kritik görüş öne sürülüp bu görüşlere açıklama getirme ihtiyacı duyulmuştur (Feldman ve ark., 2003; Funk ve ark., 2002; Richter ve Spyer, 2001). Bunlar kısaca ritmisite, plastisite ve kemosensitivite başlıklarına ayrılır.

Ritmisite: “Solunum ritmi nerede ve nasıl oluşur?” sorusuna cevap arayan görüştür. Solunum gibi ritmik hareketler, temel ve kompleks davranışlardır. Memelilerde solunum ritminin oluşmasının altında yatan mekanizma, deneysel araştırmalarla ayrıntılı olarak elde edilebilir.

Plastisite: “Solunumdaki uzun süreli değişimlerin özellikleri ve bu değişimlerin altında yatan mekanizma nedir?” sorusuna cevap arayan görüştür. Bir solunum enfeksiyonunun başlangıcı veya yüksek irtifalara tırmanış, akciğer ve göğüs kafesinin gelişmesi veya yaşlanma, kilodaki değişim, hamilelik gibi vücuttaki ve çevresel durumlardaki değişiklikler, kan gazlarının homeostazını korumak gibi durumlarda vücutta solunumsal motor çıktı cevabında önemli değişiklikler olması gerekir. Belirlenmiş deney modelleri ve protokolleri için solunum, çalışılmak için kullanışlı ve uyumlanabilen bir davranıştır.

Kemosensitivite: “Vücut tarafından algılanan ve işlenen CO₂ ve pH' daki değişikliklerin solunum tarafından düzenlenmesi beyinde nerede ve nasıl yapılır?” sorusuna cevap arayan görüştür. Merkezi kemoreseptörler ve vücut içerisinde kompleks ve dağılmış halde bulunan diğer reseptörleri içeren merkezi sinir sisteminin (MSS) periferel duyu geri bildirim sistemi, solunumun kontrolünün çalışılması için iyi bir model teşkil etmektedir.

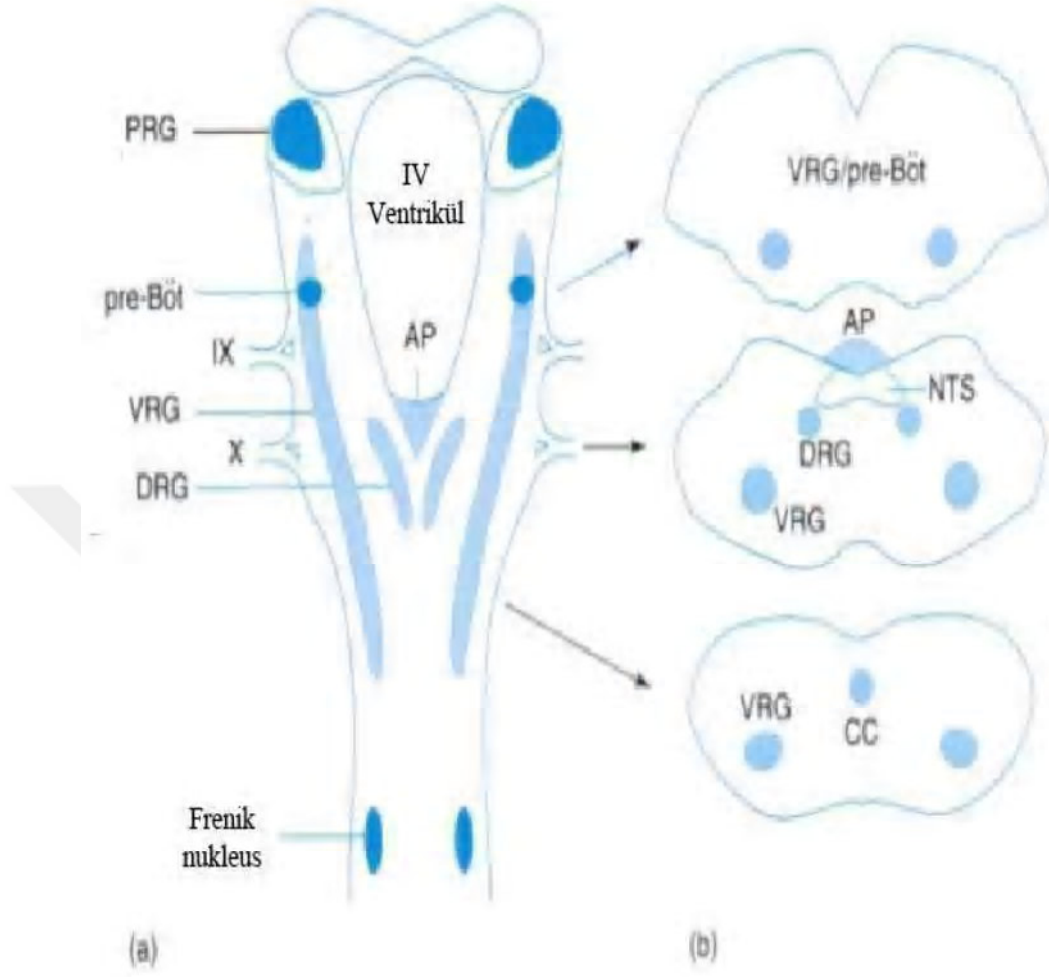
2.1.1.Solunum Merkezinin Nöro-Anatomik Lokasyonu

Solunumun kontrol merkezinin lokasyonunu bulmak için hayvanlar üzerinde yapılan ilk çalışmalarda, beyin sapının özel alanlarının haraplanması ya da uyarılması gibi yöntemler kullanılmıştır. Daha sonra belirli görüntüleme tekniklerinin gelişmesiyle, kemirgenlerle ve sonrasında da normal insan denekleriyle yapılan çalışmalar, solunum merkezinin lokasyonunun bulunmasına izin vermiştir (Corfield ve ark.,1995).

Homeostatik solunum kontrolünün, beyin sapı üzerindeki merkezlerinin organizasyon ve etkileşimini açıklamak için ponstan kaudale ve oradan da medullaya kadar uzanan bir model araştırmacılar tarafından genel anlamda kabul edilmiştir (Smith ve ark., 2007; Rybak ve ark., 2007). Ritmik solunum, MSS' nin motor nöronları ile ilişkili solunum kaslarının periyodik aktivasyonu ile oluşmaktadır. Nöron ağlarından oluşmuş bir merkezi solunum ritim modeli jeneratörü, bu basit solunum ritmini oluşturur. Merkezi solunum ritim modeli jeneratörü (CPG), solunum kaslarına motor çıktı cevabı iletmek için solunum refleksinin afferent bilgisini bütünleyen diğer solunum merkezlerinin yanında, medulla içerisinde lokalize olmuştur (Rybak ve ark., 2007). Medulla, solunum modelinin oluştuğu ve istemli/istemli/siz solunum aktivitesinin koordine edildiği bir beyin bölgesi olarak kabul edilmiştir. Medullanın içerisinde ve dışarısında birçok nöral bağlantı bulunmaktadır. Medulla üzerindeki solunum nöronları çok sayıda ara bağlantılarla birlikte başlıca; dorsal solunum grubu (DRG) ve ventral solunum grubu (VRG) olarak iki anatomik ve fonksiyonel bölgede yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca bu alanlara ek olarak, medullanın üst kısmında yer alan pons üzerinde ise pontin solunum grubu (PRG) bulunur (Guyton ve Hall, 2013; Ganong, 2011).

2.1.2.Dorsal Solunum Grubu (DRG)

Dorsal solunum grubu (DRG), inspirasyon nöronlarını (inspiratuar veya I nöronları) içerir ve nükleus solitari traktın (nükleus traktus solitarius; NTS) bir parçasıdır. DRG, çoğunlukla karşı tarafa, inspiratuar ön boynuz hücrelerine geçen üst motor nöronlar ile inspiratuar nöronlarından oluşmaktadır. Dorsal grup nöronları, solunum döngüsünün zamanlaması ile ilişkilidir. DRG, IX. (glossofaringeal) ve X. (vagus) kranial sinirlerin visseral afferentlerinin sonlandığı NTS bölgesi içindedir. NTS' ye komşu vagus sinirinin dorsal motor nükleusu (DMN) solunumda önemli rolü olan bir başka nükleustur. Vagus siniri daha çok iç organların inerve edilmesinden sorumludur. XII. kranial sinir (hipoglossal nükleus) ise NTS ve DMN gibi medullanın aynı seviyesinde lokalize olmuş ve hemen DMN ve merkezi kanalın ventralinde yer almaktadır. Ayrıca XII. kranial sinir, genioglossus kası üzerinden dil çıkartmayı kontrol ettiğinden dolayı hayvanlarda en geniş solunum yolu obstrüksiyonu gözlenmektedir. Şekil 1(a) ve 1(b)' de yukarıda anlatılan bu anatomik alanların medulla üzerinde yerleşimi gösterilmiştir (Powell, 2004; Guyton ve Hall, 2013; Ganong, 2011).



Şekil 1. Beyin sapı üzerindeki solunum grubu bölgeleri.

(a) Cerebellumun kaldırılması ile pons ve medullanın dorsal görüntüsü. (b) Medullanın 3 farklı seviyesinin transvers kesitleri. (PRG; pontin solunum grubu. pre-BÖT; preBötzingler kompleksi, normal solunum ritminin üretilmesinden sorumludur. DRG; dorsal solunum grubu. VRG; ventral solunum grubu. IX ve X; kranial sinirler. AP; postrema alanı. NTS; nükleus traktüs solitarius. CC; merkezi kanal (Powell, 2004).

2.1.3.Ventral Solunum Grubu (VRG)

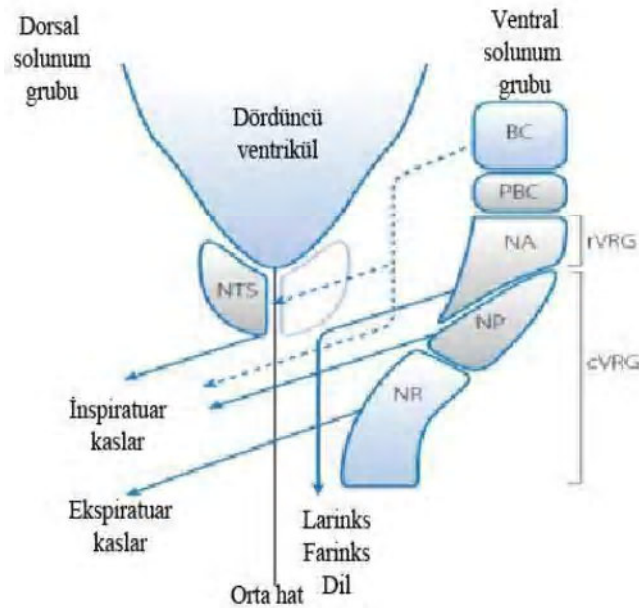
Ventilasyonun aktivasyonu için gerekli merkezi solunum ritim modeli jeneratörü (CPG) bölgesi deney hayvanlarının medullasında, çok küçük bir alan olan ve preBötzinger kompleksi (preBötC) olarak adlandırılan bölgede bulunmaktadır. preBötC, Şekil (1b)' de gösterildiği üzere rostral VRG (rVRG) bölgesi içerisinde yer alır. VRG, respirasyon evresi içerisinde aksiyon potansiyeli ateşleme özelliği olan bir grup kolon nöronlarından oluşmuştur. İspirasyon boyunca depolarize olan I nöronlarını ve ekspirasyon nöronlarını (ekspiratuvar veya E nöronlarını) içerir. VRG solunum nöronları, bir grup kolon solunum nöronlarından oluşur. Şekil 2' de bu nöron gruplarının yerleşimi gösterilmiş ve öncesinde hangi bölgeleri içerdiği anlatılmıştır. (Guyton ve Hall, 2013; Ganong, 2011; Rekling ve ark., 1998).

Kaudal ventral solunum grubu (cVRG): Nükleus retroambigualisi ve ekspirasyon kaslarını kontralateral olarak geçen üst motor nöronları ile ağırlıklı olarak kontralateral inspirasyon kaslarının kontraksiyon gücünün kontrolünden sorumlu olan ekspirasyon ve inspirasyon nükleusu para-ambigualisi (NP) de içeren nöron gruplarından oluşur.

Rostral ventral solunum grubu (rVRG): Büyük bir kısmını nükleus ambiguus (NA) oluşturur ve larinks, farinks ve dil için solunum hava yollarının dilatör fonksiyonu ile ilgilidir.

preBötzinger kompleksi (preBötC): VRG üzerinde bulunur ve CPG' nin anatomik lokasyonu olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda inspirasyon ritminin oluşumundan sorumludur.

Bötzinger kompleksi (BötC): Nükleus retrofasiyalis içerisinde bulunur ve çoğunlukla ekspiratuvar fonksiyondan sorumludur.



Şekil 2. Medulla üzerindeki solunum nöronlarının dorsal ve ventral görünümü.

Orta hattın sol tarafı DRG nöronlarını (DRG nöronları; Nükleus traktüs solitariusu (NTS) göstermektedir. Orta hattın sağ tarafı VRG nöronlarını, preBötzingere kompleksini (preBötC), rostral VRG alanı (rVRG) içerisinde nükleus ambiguus (NA) ve kaudal VRG (cVRG) içerisinde nükleus para-ambiguus (NP) ve nükleus retroambiguus (NR) göstermektedir. Ekspiratuar aktiviteden sorumlu alanlar mavi renk, inspiratuar aktiviteden sorumlu alanlar gri renk ile gösterilmiştir. Kesik çizgiler inspirasyon nöronlarını inhine eden ekspiratuar yolağı göstermektedir (Davies ve Moores, 2010).

2.1.4. Pons, Pontin Solunum Grubu (PRG) ve Serebral Korteks

Pons, pontin solunum grubu (PRG) içerisinde inspirasyon ve ekspirasyon arasındaki faz geçişini sağlayan nöronlar ve ventilasyon sırasında akciğer mekanoreseptörlerinin refleks etkisi ile ilgili bir grup nöron içerir. Pons üzerinde lokalize olan solunumla ilgili nöron grupları; nükleus parabrakialis medialis (NPBH), nükleus parabrakialis lateralis (NPBL) ve kölliker-fuse (KF) nükleuslarından oluşmaktadır (Bray ve ark., 1999). Pons üzerinde bulunan PRG nöronlarından NPBL ve KF nükleusu, inspiratuar premotor aktiviteyi artırır. Ayrıca MSS' nin başka bölgelerinden gelen uyarılar da söz konusu nöronların aktivitesini etkilerler. PRG içerisinde, hipotalamusla, korteksle ve NTS ile

bağlantısı olan birçok afferent yolak vardır. Bu bağlantıların, kortikal kontrol, periferel duyu bilgisi (koku, sıcaklık gibi) ve visseral/kardiyovasküler girdileri kapsayan çeşitli MSS aktivitelerinin solunuma olan etkilerinin pons tarafından koordine edildiği düşünülmektedir (Bianchi ve ark., 1995). Bunun yanında parabrakial kompleks ise solunum plastisitesinin oluşması için inspirasyonun rampa sinyalini sona erdiren Hering-Breuer refleksi (solunumun baskılanması) ile ilişkilidir. Pons üzerindeki solunum ritim jenerasyonunun meydana gelip gelmediği ve bu oluşuma katkı sağlayıp sağlamadığı halen araştırmacılar tarafından tartışılmaktadır (Bolton ve ark., 2004).

Daha önce de belirtildiği üzere solunum istemli olarak kesilebilir. Bu olay, konuşma, şarkı söyleme, koklama veya solunum fonksiyon testlerinin yapılması gibi olaylarda zorunludur. Bu gibi durumlarda istemli yapılan solunum hareketinde uyarılar, solunum merkezine uğramadan serebral korteksten gelir. Aynı zamanda solunum sırasında, serebral korteks üzerindeki nöronlar, solunumdan sorumlu olan diğer nöronlara göre daha aktif olabilir. Serebral korteks, hipotalamus ve DRG' ye inhibitör uyarı sağlayarak da solunumu etkileyebilir. Serebral korteks tarafından kontrol edilen ve istemli gerçekleşen, konuşma gibi olaylarda solunumun refleks kontrolünün açıklanması oldukça karmaşık bir durum teşkil etmektedir (Winkworth ve ark., 1995). Serebral korteks ve limbik sistem, emosyonel ve ağırlı uyarıyı hipotalamusla entegre ederek solunum merkezi üzerinde inhibitör veya eksitatör etkiye neden olabilmektedir (Bray ve ark., 1999).

2.1.5.Solunum Refleksinin Oluşumu

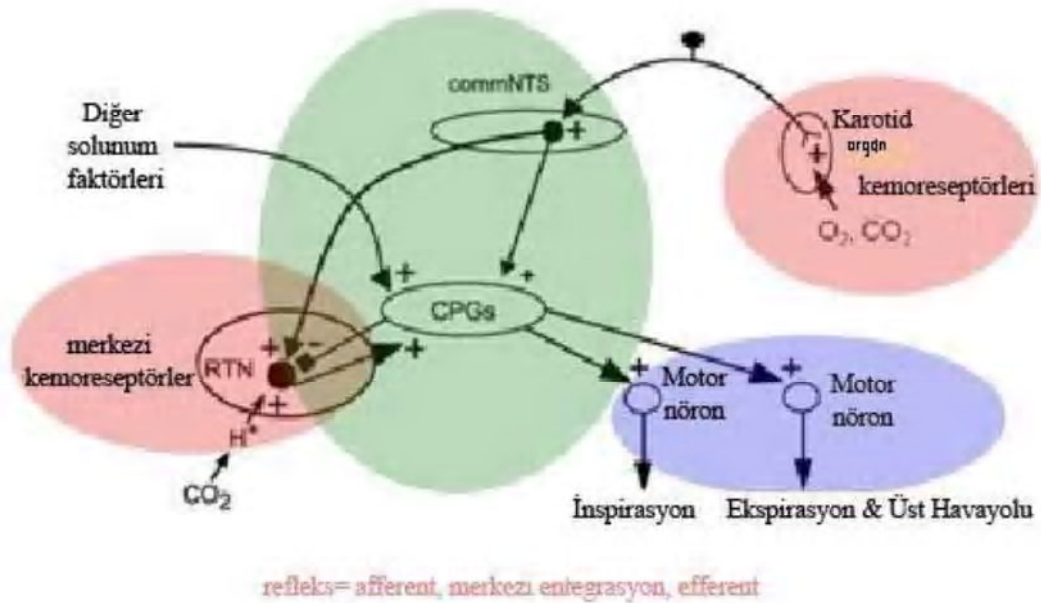
Solunumu kontrol eden negatif geribildirim refleksleri genel olarak üç kısımdan meydana gelir. Şekil 3' de solunum refleksi oluşumu şematize edilmiştir.

Afferent Duysal Sistem (Sensörler): Bir duysal sistem fizyolojik uyarı adı altında kemoreseptörlerden, akciğerler ve diğer reseptörlerden bilgiyi alır ve beyin sapı üzerindeki solunumun kontrol merkezine iletir. Oluşan aksiyon potansiyeli uyarısının yoğunluğunu ve frekansını kodlayan bu duysal bilgiye "afferent girdi" denir. Solunum sistemi fonksiyonuyla ilgili iki ana duyu sistemi afferent bilgiyi taşır. Birincisi; arteriyel kan gazlarının değişimine duyarlı reseptörler ve ikincisi; akciğerlerdeki ve solunum yollarındaki reseptörlerdir. Kemoreseptörler arteriyel kan gazlarındaki değişimi monitörize eder ve arteriyel kan gazları normal değerlerine dönene kadar ventilasyonda

refleks değişikliğine neden olurlar. Merkezi ve arteriyel olmak üzere kemoreseptörler iki ana sınıfa ayrılırlar. Birincisi, vagal mekanoreseptörleri içeren akciğerlerdeki ve solunum hava yollarındaki reseptörlerdir. Bu reseptörler pulmoner mekanikle ilgili afferent bilgiyi sağlamak için bu bölgelerdeki basınç ve hacim değişikliklerini algırlar. Genellikle mekanoreseptörler farklı mekanik koşullarda ve ventilasyonun farklı seviyelerinde solunum derinliğine ve oranına göre refleks değişimini uyarırlar. İkincisi ise akciğerlerdeki diğer vagal afferentler, solunan havadaki iritanlara karşı veya histamin (H) gibi endojen kimyasal uyarılara duyarlı reseptörleri içerir. Akciğerlerden veya solunum hava yollarından gelen duysal sinirler, akciğerleri çevresel etkilerden korumak için hem solunum yolu kaslarının kas tonusunda hem de bronşiyal sekresyonda refleks değişikliğine neden olurlar (West, 2012).

Kontrol merkezi: Solunumun merkezi kontrol bölgesi olan pons ve medullaya, afferent yolla iletilen bilgi işlenir ve solunum ritminin yeniden düzenlenmesi için efektörler olan solunum kaslarına uyarı gönderirler (Şekil 3) (West, 2012).

Efferent Yolak: Afferent bilgiyi işleyen kontrol merkezi, gelen uyarıya cevap vermek amacıyla efferent çıktı oluşturur ve ventilasyonda değişiklik gerçekleştirir. Ventilasyon refleksi için efektörler, iskelet solunum kaslarıdır. İnsan vücudundaki primer efferent yolak, diyaframa giden frenik sinirdir. Ekspirasyon dinlenme anında, akciğerin ve göğüs duvarının pasif hareketi oluşurken, diyaframın ritmik kasılması inspirasyona neden olmaktadır. Solunum ritmi bilgisi spinal kordun üçüncü ve beşinci servikal seviyesinde frenik motor nöronlar üzerinden yapılan birçok sinapsla iletilir. Frenik sinir aktivitesi, solunum ritmi oluşumu için temel refleks özelliği göstermektedir. Ekspirasyon başlangıcındaki düşük seviyedeki frenik sinir aktivitesi, diyafram kasından diğer düz kaslara geçiş ile pasif ekspirasyona izin verir. Diğer solunum kasları ise inspirasyon ve ekspirasyon interkostal kaslarını içermektedir ve spinal kordun tüm torasik seviyelerinde innerve olur. Eksternal interkostal kaslar, frenik sinir benzeri elektriksel aktivite gösterir fakat internal interkostal kaslar ekspirasyon boyunca aktive olmaktadır (West, 2012; Hlastala ve Berger, 1996).



Şekil 3. Solunum Refleksinin oluşması.

Merkezi kemoreseptörlerden, karotid organ ve diğer solunum kaynaklı reseptörlerden afferent bilginin, solunum kontrol merkezine ulaşmasıyla bilginin burada işlenmesi ve inspirasyon ve ekspirasyon motor nöronlarının efektör organı uyarıp, refleks oluşumunun gerçekleşmesi şematize edilmiştir (Şekil 3). Pembe renk; kemoreseptör alanları, Yeşil renk; kontrol merkezini, Mor renk; inspirasyona veya ekspirasyona neden olan motor nöronları göstermektedir. (commNTS: kommissural nükleus solitarius traktus, CPG: solunum ritmi model jenerasyonu, RTN: retrotrapezoid nükleus) (Takakura, 2006).

2.2.Ventilatuvar Kemosensitivite

Solunum aktivitesi, kanın O_2 , CO_2 ve pH seviyeleri hakkında temel bilgiler sağlayan kemoreseptörlerden gelen uyarılara bağlıdır. Homeostazı korumak için her zaman ve çeşitli koşullara karşı uygun arteriyel parsiyel oksijen basıncı (PaO_2) ve arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (PaCO_2) seviyelerinin korunması gerekmektedir (Ballantyne ve Scheid, 2001). Solunum sistemi havadaki O_2 ' ni inspire edip ve metabolik artık olan CO_2 ' i ekspire ederek, ventilasyondaki değişimle bu değişkenleri sürekli kontrol altında

tutmaktadır. Vücut içerisinde CO_2 ve suyun bağlanma reaksiyonu ile karbonik asit formuna dönüşmesi, arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (PaCO_2) seviyesini arttırarak direkt olarak arteriyel pH' ya etki eder. Bu olay düzenlenmezse normal koşullardaki protein bağlanması üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (Nattie,1998). O_2 duyarlı kemoreseptörler, beynin dışında karotid organ üzerinde yer almaktadır. CO_2/pH duyarlı kemoreseptörler de karotid organ üzerinde yer alır fakat büyük çoğunluğu beynin içerisinde yerleşmişlerdir ve merkezi kemoreseptörler olarak tanımlanırlar. CO_2/pH sinyalleri, kanın ve beynin asit-baz durumu ile bağlantılıdır ve metabolizmaya bağlantılı solunumun yeterliliğini yansıtır. CO_2/pH değerlerindeki küçük değişimler solunumu etkilemektedir.

İntraselüler ve ekstrasellüler pH' nın her ikisi de merkezi kemoresepsiyona, uyarıcı olarak hizmet eder. İntraselüler pH, Lokus seruleus (LC) ve medullar rafenin nöronlarına daha duyarlıdır (Filosa ve ark., 1992; Wang ve ark., 2001). Ekstrasellüler pH ise solunumu düzenleyen nöronlara daha duyarlıdır (Bayliss ve ark., 2001). pH duyarlı proteinleri içinde bulunduran birçok kemoresptör lokasyonu; TWIK bağlantılı asit duyarlı K^+ kanallarını (TASK) , düşük dirençli oluklu bağlantıları (gap junctionları), kalsiyumu hücre içine yönlendirici K^+ kanallarını ve intraselüler pH değişimlerinin derecesini ve zamanlamasını değiştirerek kemosensitiviteyi etkileyen Na^+/H^+ değiştirici protein alt tipi 3 (NHE3) gibi pH duyarlı membran iyon taşıyıcı proteinlerini içermektedir (Washburn ve ark., 2002; Dean ve ark., 2001; Solomon ve ark., 2001; Jiang ve ark., 2001). Ayrıca birden fazla pH duyarlı fonksiyon, aynı anda işlev görebilmektedir. Kısacası, periferal ve merkezi kemoreseptör sistemi arteriyel kanda O_2 , CO_2 ve pH değişikliğine duyarlıdır ve solunumun değişmesi bu önemli kan gazı parametrelerinin sabit değerlerde tutulmasına aracılık etmektedir (Putnam, 2001; Wiemann ve Bingmann, 2001).

2.3. Periferal Kemoreseptör Sistemi

Periferal kemoreseptörler; aortik ve karotid organ kemoreseptörlerini içermektedir. Birçok fizyolojik koşul altında, karotid organ kemoreseptörleri en önemli ve üzerinde en çok tartışılan reseptör tiplerinden biri olmuştur. Karotid organ hem kardiyovasküler hem de solunum kemorefleksi oluşumuna aracılık etmektedir. Arteriyel parsiyel oksijen basıncı (PaO_2), arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (PaCO_2) ve pH değişiklikleri

karotid organ tarafından algılanmaktadır. Afferent bilgi, karotid sinüs siniri (CSN) aracılığı ile beyin sapına iletilir ve daha sonra solunumdan sorumlu diğer bölgelerle entegre olarak ventilasyonun düzenlenmesine yardımcı olurlar. Arteriyel parsiyel oksijen basıncı (P_{aO_2}) ve pH' ın normal seviyesinin altına düşmesi ve P_{aCO_2} ' nin yükselmesi, ventilasyonun stimülasyonuna neden olan dinamik değişkenlerdir. Karotid organ P_{aO_2} ' nin sensörüdür ve bunun yanında arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (P_{aCO_2}) ve pH, merkezi kemoreseptörlere duyarlıdır. Karotid organlar, ortak karotid arterin çatallanma yerinde bilateral olarak lokalize olmuştur. Karotid organ kemoreseptörleri, nöral glial ve vasküler hücrelerle birlikte bağ dokusu ile paketlenmiş bir halde bulunur. Karotid organlar oldukça vaskülarize olmuştur ve büyüklüğü göz önünde bulundurulduğunda vücut içerisindeki diğer tüm organlara göre dakikada, kilogram başına 1.5 ile 2 litre arasında değişen en yüksek kan akımına maruz kalan organdır (Acker ve O'Regan, 1981; De Burgh Daly ve ark., 1954). Bu da karotid organların arteriyel parsiyel oksijen basıncı (P_{aO_2}), arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (P_{aCO_2}) ve pH' ın sistemik değişimlere duyarlı olmasına izin vermektedir. Karotid organ tip 1 glomus hücreleri, depolarize olup uyarıldığında ve karotid sinüs afferent sinir lifleri aktif hale geldiğinde elektriksel olarak uyarılmaktadır. Ayrıca glomus hücreleri ve karotid sinüs afferentleri arasındaki eksitator nörotransmitterler halen tam olarak tespit edilebilmiş değildir (Iturriaga ve Alcayaga, 2004).

2.4. Merkezi Kemoreseptör Sistemi

Karotid organ kemoreseptörlerine ek olarak, beyin sapı arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (P_{aCO_2}) değişimlerine duyarlı hücreleri de içerir. Merkezi solunum kemorefleksi, MSS' nin asidifikasyonu ile solunumun stimüle edilmesi olarak da tanımlanabilir (Guyenet ve ark., 2008). Bu konu hakkındaki ilk öneri, anestezi altındaki köpeklerin ve uyanık haldeki keçilerin serebral ventrikülleri içerisine asidik sıvılar perfüze edilerek, beyin sapının CO_2 ' ye duyarlı olup olmadığının araştırılması ile ortaya atılmıştır (Leusen, 1954; Pappenheimer ve ark., 1965; Fencel ve ark., 1966). Yapılan çalışmalarla, ventrolateral medullanın (VLM) subaraknoid bölgesinin asitlenmesi, ventilasyonda büyük bir artışa neden olmuş ve böylelikle beyin sapı kemosenitivitesi için ventral medullar yüzeyin önemi vurgulanmıştır. Kaudal ventro lateral medulla (Mitchell' in alanı) içerisindeki ve rostral ventro lateral medulla (Loeschke' nin alanı) içerisindeki kemosenitif bölgeler üzerinde yapılan çalışmalarla da bu kemosenitif bölgelerin

lokasyonları daha çok aydınlatılmaya çalışılmıştır (Loeschcke ve ark., 1963; Schlaefke ve ark., 1970; Mitchell ve ark., 1963). Bu iki alan arasındaki ara bölgenin de (Schlaefke'nin alanı) kemosensitif olduğuna dair bir kanıt ulaşılmamasına rağmen, bu alanının soğutulmasının, solunumu ve kemosensitiviteyi baskıladığı görülmüştür (Schlaefke ve ark., 1970; Cherniack ve ark., 1979; Millhorn ve ark., 1982). Bu bölgeler üzerinde daha sonra yapılan çalışmalarda ise kemosensitif alanın ventro lateral medulla (VLM) üzerinde, 800 µm' lik bir kısmında, retrotrapezoid nükleus (RTN) üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Coates ve ark., 1993; Mulkey ve ark., 2004).

Kemosensitif nöronların sinyal aktivasyonunun CO₂' in kendisinden kaynaklandığı düşünülüyor olsa da, intraselüler veya ekstrasellüler olarak algılanan H⁺ iyonları veya bikarbonat iyonlarının hücrel aktivasyonu nasıl sağladığı da halen tam olarak bilinmemektedir. Bu durum tartışmalı olmasına rağmen, bu uyarıların hepsinin kemosensitivasyonda rol oynayabildiği düşünülmektedir. Putman ve ark. merkezi kemosensitif sinyallerin, CO₂/H⁺ iyonlarına nöral cevap veren birçok hücrel sinyal ve iyon kanalı hedefi içeren çoklu faktör teorisini öngörmüştür (Putnam ve ark., 2004). Merkezi bir kemoreseptörün, gerçekten de kemoreseptör olduğunun kabul edilebilir olması için CO₂/H⁺ duyarlı hücrelerin solunumu etkilediğini yansıtmalı ve stimüle edilirken ventilasyonda değişiklik yapmalıdır. Bir hücrenin merkezi kemoreseptör olduğunu ispatlamak kesinlikle zordur. Fakat bir hücrenin kemoreseptör olduğunun kabul edilmesi için birkaç koşulu sağlaması gerektiği araştırmacılar tarafından önerilmiştir (Putnam ve ark., 2004). Buna göre; ilk olarak, CO₂/H⁺ değişimlerine göre hücrenin ateşleme derecesinin de değişmesi gerektiği, ikinci olarak da bu değişimlerin sinaptik çıktıdan bağımsız olarak oluşması ve son olarak da hücreler fokal olarak asidifiye olurken ventilasyonda değişime sebep olan bölgeler içerisinde bulunması gerektiği önerilmiştir. Bu koşulları sağlayan kemoreseptif nöronlar, beyin kesitleri üzerinde; retrotrapezoid nükleus (RTN), medullar rafe, nükleus tractus solitarius (NTS), lokus seruleus ve nükleus ambiguus (NA) bölgeleri içerisinde bulunmuştur (Mulkey ve ark., 2004; Wellner-Kienitz ve Shams, 1998; Richerson, 1995).

Daha sonra yapılan çalışmaların sonucunda, tahmini kemoreseptör alanlar için in vitro olarak yapılan deneylerle elde edilen kanıtlar, fokal olarak asidifiye olan kemoreseptör alanları gerçekten belirlemiştir. Fokal asidifikasyon için karbonik anhidraz inhibitörünün, asetazolamid mikroenjeksiyonu ve %25' lik CO₂ ile dengelenmiş bir

solüsyonun mikrodializi ile iki farklı yöntem kullanılmıştır. Anestezi edilmiş ratlarda ve kedilerde, retrotrapezoid nükleus (RTN), NTS, Lokus seruleus (LC), orta hat rafe ve fastigial nükleusu da içeren ventral medulla üzerinde asetazolamid ile asidifikasyon uygulaması frenik sinir aktivitesinde artmaya neden olduğu görülmüştür (Coates ve ark., 1993; Bernard ve ark., 1996; Xu ve Frazier, 2001; Coates ve Nattie, 1991). Uyanık durumdaki hayvanlarda da retrotrapezoid nükleus (RTN), medullar rafe ve NTS üzerine, CO₂ mikrodializ yöntemiyle stimülasyonunun da, solunumda bir artmaya neden olduğu görülmüştür (Li ve Nattie, 1999; Nattie ve Li, 2001; Nattie ve Li, 2002). Bu bölgelere ek olarak, solunum ritminin oluşmasından sorumlu preBötzinger kompleksi alanı içerisinde de CO₂ duyarlı hücrelerin olduğuna dair kanıtlar vardır (Solomon ve ark., 2000). Fokal asidifikasyon çalışmaları, benzer kemoreseptör alanları in vitro çalışmalarla tanımlamış fakat potansiyel olarak kompleks bir organizasyonu ve bu alanların CO₂' e cevabının bağımlılık durumunu da göstermiştir (Li ve Nattie, 1999). retrotrapezoid nükleus (RTN) içerisine, CO₂ mikrodializi, uyanıklık durumu boyunca ventilasyonda artmaya sebep olduğu halde uyku durumunda sebep olmadığı görülmüştür (Li ve Nattie, 1999). Bunun tam tersi bir model olarak CO₂ mikrodializinin, sadece uyku durumu boyunca ventilasyonu stimüle ettiği medullar rafe üzerinde gösterilmiştir (Nattie ve Li, 2001). NTS bölgesi üzerine CO₂ mikrodializi ise hem uyku da hem de uyanık durumda ventilasyonu arttırdığı görülmüştür (Nattie ve Li, 2002). Anestezi altındaki ratların sadece retrotrapezoid nükleus (RTN) nöronlarından yapılan kayıtlar, RTN' nin in vivo olarak kemosensitif olduğuna dair ek kanıtlar sağlamıştır. Retrotrapezoid nükleus (RTN) nöronlarının bir alt kümesi içerisinde, inspire edilen CO₂' e verilen cevabın artmasını sağlayan bir ateşleme şarjı kayıt edilmiştir. Merkezi solunum ritim modeli jeneratörünün (CPG) inhibe edilmesi veya periferik kemoreseptör girdinin kaldırılması hiperkapnik cevabı bloke etmediği gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak da hiperkapninin rafe içerisinde serotonerjik hücreleri aktive etmediği gösterilmiştir (Mulkey ve ark. 2004.). Genel anestezinin kemoresepsiyon üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğundan dolayı, anestezi altındaki ve uyanık ratlar arasındaki kemoreseptör stimülasyonun derecesinin karşılaştırılması oldukça zordur. Retrotrapezoid nükleus (RTN) içerisinde, kemosensitivite indeksi anestezi durumuna göre uyanık durumda 7.3 kez daha fazla olduğu görülmüştür (Nattie ve Li, 2006). Buna ek olarak, anestezi altında %25' lik CO₂' in fokal diyalizini takiben, pH' da daha büyük bir değişim oluşmaktadır (Fencl ve ark., 1966). Çalışmalarda

kullanılan bu yöntemlerle, anestezi ve uyanıklık durumlarının her ikisinde de ventilasyonu uyarabilen birçok muhtemel kemoreseptör alanları gösterilmiştir.

Stimülasyon çalışmalarına ek olarak, lezyon çalışmaları da merkezi kemoreseptör alanlarının rollerinin aydınlatılmasında kullanılmıştır. Retrotrapezoid nükleus (RTN) üzerindeki lezyonların bir çok tipi hiperkapniye olan cevabı etkilemektedir. Anestezi altındaki ratlarda ve kedilerde, unilateral kainik asit veya elektrolitik retrotrapezoid nükleus (RTN) lezyonlarının, frenik sinir genliğini düşürdüğü ve karotid organ denervasyonunu takiben değişmeyen etkilere göre neredeyse hiperkapnik yanıtı ortadan kaldırdığı görülmüştür (Nattie ve Li ,1994; Nattie ve ark., 1994). Farklı bir çalışmada ise uyanık ratlarda aynı unilateral retrotrapezoid nükleus (RTN) lezyonları bazal ventilasyona hiçbir etki göstermemiş fakat solunumun CO₂' e cevabını %39' dan %7' ye düşürdüğü görülmüştür (Akilesh ve ark., 1997). Bu çalışmaya ek olarak, GABA_A reseptör agonisti musimolünün, retrotrapezoid nükleus (RTN) içerisine mikrodializi, inspire edilen CO₂' e cevabı düşürdüğü görülmüştür (Nattie ve Li, 2000).

NTS, anatomik ve elektrofizyolojik kayıtlara göre karotid organdan ilk sinapları alan medullar bölgedir (Donoghue ve ark., 1984; Housley ve ark., 1987; Housley ve Sinclair, 1988; Vardhan ve ark., 1993). Aynı zamanda MSS' de sinyal entegrasyonu için ideal bir lokasyon olarak CO₂ duyarlı kemoreseptör hücreleri de içerir (Coates ve ark.,1993; Dean ve ark., 1989). Yapılan bir çalışmada, NTS içerisine musimolün mikrodializi her iki non- REM uyku ve uyanıklık durumlarında benzer olarak hiperkapnik cevabı inhibe ettiği görülmüştür (Marchenko ve Sapru, 2000; Nattie ve Li, 2008). Bir başka çalışma da ise aynı ortam sıcaklıklarında musimol mikrodializi, hipoksiye değil sadece hiperkapniye verilen cevabı düşürmüştür. Bu da musimol ile periferik CO₂ kemosensitivitesi değil, merkezi kemosensitivitenin etkilendiğini göstermiştir. Fakat 30°C' de hem hiperkapnik ve hem de hipoksik cevap düşmüştür. İlginç olarak NTS üzerine musimolününün oluşturduğu hiperkapnik cevap RTN' nin oluşturduğu cevaba göre 2 kat daha fazla bir düşmenin oluşmasına neden olmuştur (Nattie ve Li, 2000; Nattie ve Li, 2008). Kaudal NTS içindeki nöronlar, kainik asit ile işlem gördüğünde solunumun hipoksiye cevabının %67 oranında düştüğü ve fonksiyonel bir azalmanın olduğu görülmüştür (Housley ve Sinclair, 1988). NTS bölgesi afferentlerden bilgi alsa da kemosensitif nöronlara da sahiptir. NTS üzerinde asetazolamid mikroenjeksiyonu ve CO₂ mikrodializinin her ikisi de frenik sinirde cevap oluşumunu sağlamıştır (Nattie ve

Li, 2002). Bir başka çalışmada ise ratların lokus seruleus içerisinde, noradrenerjik nöronlarının bloklanması tidal volumü azaltarak solunumun hiperkapniye olan cevabını düşürdüğü görülmüştür ve bunun yanında bazal ventilasyonda ise bir değişim gözlenmemiştir (Biancardi ve ark., 2008).

Bu çalışmalar retrotrapezoid nükleus (RTN), nukleus traktus solitarius (NTS), lokus seruleus (LC) ve medullar rafe içerisinde merkezi kemoreseptif alanlarının varlığının kanıtını sağlamıştır. Bu alanların varlığı söz konusu olmasına rağmen nasıl organize oldukları ve anlamlılıkları halen tam olarak bilinmemektedir. Bunun için merkezi kemoreseptör alanlarının nasıl organize olduğuna dair 2 teori geliştirilmiştir. Bunlar; özelleşmiş kemoreseptörler ve dağıtılmış nöral ağ teorileridir. Özelleşmiş kemoreseptörler teorisi in vivo ve en eski olanıdır. Bu teori, merkezi solunum ritim modeli jeneratörünün (CPG) pH duyarlı olmadığı ve merkezi kemorefleksi bir ana grup özelleşmiş asit duyarlı nöronların, nöral ağı sinaptik olarak sürüklemesinden kaynaklanmakta olduğunu savunur (Guyenet ve ark., 2008; Loeschcke ve ark., 1963). Dağıtılmış ağ teorisi ise buna zıt olarak büyük miktardaki kemoreseptör alanların ve kemosensitivitenin olması nedeniyle birçok pH duyarlı kanal tipi ve reseptör olduğunu savunmaktadır. Buna ek olarak, dağıtılmış nöral ağ teorisi farklı alanlara hiyerarşiyi devretmediğini ve farklı alanların farklı durumlar boyunca belki de daha önemli olabildiğini savunur (Putnam ve ark., 2004; Nattie ve Li, 2006).

Özelleşmiş kemoreseptör teorisini savunanlar RTN' nin kemoresepsiyonun en büyük alanı olduğunu ve eğer bundan başka bir şey varsa diğer muhtemel kemoreseptör alanlarının sadece RTN' nin aktivitesini düzenlediğini tartışmaktadır (Guyenet ve ark., 2008). İlk kemoreseptör alan ventromedullar yüzeyde tanımlanmıştır (Loeschcke ve ark., 1963; Mitchell ve ark., 1963). Bu tanımlamadan sonra ventrolateral medulla içerisinde kemosensitivitenin özellikle RTN' de lokalize olduğu ve RTN' nin CO₂ duyarlılığında büyük bir rol oynadığına dair birçok kanıt bulunmuştur (Mulkey ve ark., 2004; Putnam ve ark., 2004) RTN nöronları üzerinde hem in vivo hem de in vitro olarak yapılan çalışmalarda sadece respirasyon ile modüle edildiği ve güçlü bir şekilde pH değişikliği ile aktive olabildiği görülmüştür (Mulkey ve ark., 2004; Putnam ve ark., 2004). Buna ek olarak, RTN kemosensitivitesinin Merkezi solunum ritim modeli jeneratörü (CPG) oluşumu bloklansa bile devam ettiği bulunmuştur (Mulkey ve ark., 2004). Ayrıca RTN kemoreseptör hücreleri; medullar yüzey üzerindeki özelleşmiş

katman içerisinde dendritlerin uzunluğu boyunca ve kan damarlarının yakınında pH değişimlerine duyarlı olacak şekilde ideal olarak lokalize olmuş görünmektedirler (Ballantyne ve ark., 2001; Mulkey ve ark., 2004). Daha önce de anlatıldığı gibi NTS, medullar rafe ve LC' nin dahil olduğu spesifik alanların stimülasyonu ventilasyonda bir artmaya neden olabildiği görülmüştür. Guyenet ve ark. mikrodializ probunun nöral çevreyi ve çevresindeki hücrelerin pH tampon kapasitesini bozduğunu ve böylece normal koşullarda meydana gelmeyen solunum cevabının oluşmasına neden olduğunu söylemektedir (Guyenet ve ark., 2008). Fakat başka bir çalışmada yapay beyin-omurilik sıvısının (yBOS) tek başına ventilasyonda hiçbir değişikliğe neden olmadığını ve bunu çevreleyen alanın da ventilasyonun değişimine etkisi için gerekli olmadığını bulmuştur (Nattie ve Li, 2006).

Dağıtılmış nöral ağ teorisi savunucuları ise CO₂ duyarlılığının beklenenden daha fazla önemli bir fonksiyon olduğunu savunmaktadır (Nattie ve Li, 2006). Bu nöron popülasyonunun farklı mekanizmalarla CO₂ duyarlılığı kabiliyeti olduğuna dair hücresel kanıtlar da vardır (Putnam ve ark., 2004). Örneğin, TWIK bağlantılı asit duyarlı K⁺ kanallarının (TASK) CO₂ duyarlılığı in vitro olarak medullar rafe hücrelerinde görüldüğü halde retrotrapezoid nükleus (RTN) üzerinde görülmemektedir (Mulkey ve ark., 2007).

2.5. Periferik ve Merkezi Solunumsal Kemoreflekslerin Entegrasyonu

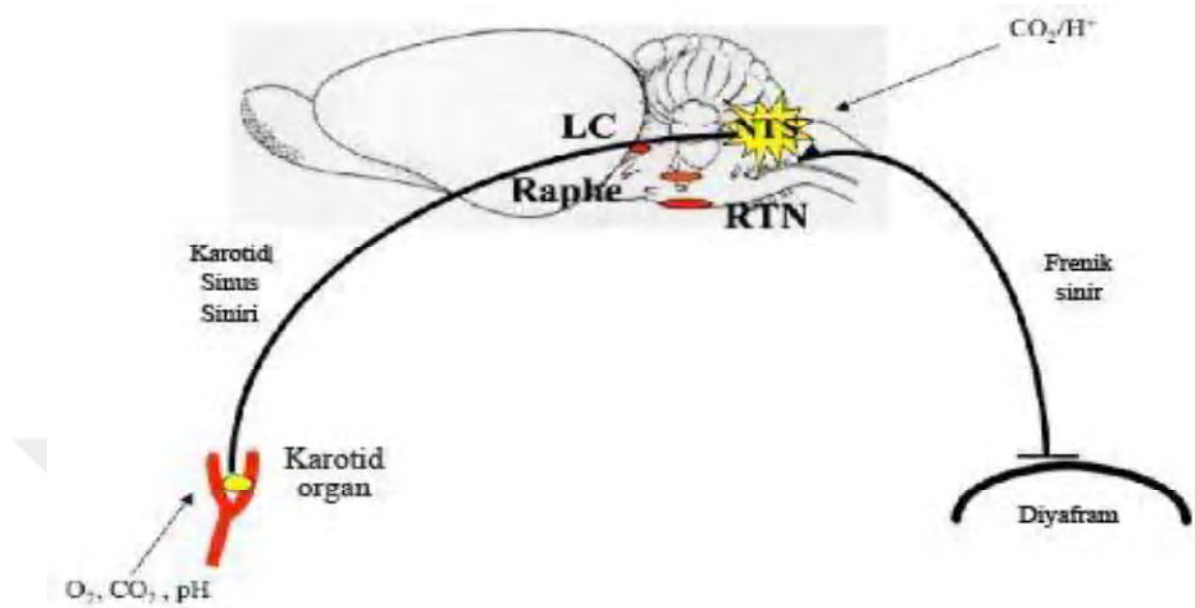
Periferik ve merkezi kemoreseptörler homeostazın korunması için birlikte çalışırlar ve her iki sistem, arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (P_aCO₂) seviyesindeki değişime duyarlıdır. Hiperkapnik ventilatuvar cevabın (HCVR) oluşmasında, periferik ve merkezi kemoreseptörlerin katkılarına görebilmek için Smith ve ark. (2006)'nın yaptığı bir çalışmada, denek olarak kullanılan köpeklerde, CO₂ stimülasyonunu ayrı ayrı kontrol etmek için, bir ekstrakorporeal perfüzyon devresi implantasyonu yapılmıştır. Smith ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmanın sonucunda HCVR' nin üçte ikisinin merkezi kemoreseptörlerle, üçte birinin periferik kemoreseptörler nedeniyle oluştuğunu gösterilmiştir. Aynı zamanda yaptıkları çalışma, merkezi kemoreseptör stimülasyonun tek başına periferik cevaptan yaklaşık 11 saniyelik bir gecikmeyle solunumun cevabına neden olduğunu göstermiştir (Smith ve ark., 2006).

HCVR oluşumunda, periferik ve merkezi kemoreseptör etkileşiminin hangisiyle olduğu

hala çok iyi bir şekilde bilinmemektedir. Periferal merkezi etkileşimin olmadığı hiperadditif ilişki; bir sistemin aktivasyonunun diğer sistemin kazancını arttırdığının ve hipoadditif ilişki; bir sistemin aktivasyonunun diğer sistemin kazancını azalttığına katkı ilişkisini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır (Van Beek ve ark., 1984; Daristotle ve Bisgard, 1989; Clement ve ark., 1992; St Croix ve ark., 1996). Bir hipoadditif ilişkiye örnek olarak yapılan çalışmada, arteriyel olarak perfüze edilmiş in situ, vagotomize ve deserebre rat preperasonunda beyin sapı ve periferal kemoresptörler ayrı ayrı perfüze edilmiştir (Adams ve ark., 1978; Robbins, 1988). Day ve Wilson (2009)'un yaptığı çalışmada hem hipoksi için hem de hiperkapni için beynin aşağı seviyelerinde, P_{aCO_2} , periferal kemoresptör stimülasyonu ile frenik sinir cevabının frekans ve genliğini arttırmıştır (Day ve Wilson, 2009). Benzer bir hipoadditif sonuç, yapay olarak perfüze edilmiş uyanık keçi modelinde gösterilmiş olmasına rağmen Daristotle ve Bisgard uyanık keçilerde additif bir merkezi-periferal etkileşim göstermiştir (Daristotle ve Bisgard, 1989). Aynı zamanda insan deneklerinde de ayrı ayrı yapılan periferal ve merkezi CO_2 duyarlılığı çelişkili ve varsayımlara bağlı veriler içermektedir (Dahan ve ark., 1990; Clement ve ark., 1995). Bazı araştırmalar ise periferal ve merkezi kemoreseptörler arasında hiçbir etkileşim bulamamıştır ve bazıları addatif bir etkileşim bulmuşlardır (Clement ve ark., 1992; Robbins, 1998; Bellville ve ark., 1979).

Periferal ve merkezi kemoreseptörler arasındaki etkileşim ne olursa olsun karotid organ ile oluşan tonik girdiler tam bir merkezi cevap için gereklidir. Karotid organ reseksiyonu yapılan hastalarda cerrahi sonrası CO_2 cevabı 3-6 gün arasında %75 düşmüştür ki bu da hayvan çalışmalarının önerdiği periferal kemoreseptörlerin HCVR'ye yalnızca üçte birine cevap sağlayabilmesinin çok üzerinde bir miktardır (Smith ve ark., 1984). İki yıl sonra ise bu duruma bir plastisite olduğu ve hastaların cerrahi öncesi HCVR değerlerine tekrar döndükleri görülmüştür (Dahan ve ark., 1990). Karotid organ reseksiyonunu takiben CO_2 sensitivitesinin merkezi bileşenleri içerisindeki düşüşü başka bir grup araştırmacı tarafından ayrıca gözlenmiştir. Fakat denekler üzerinde yapılan çalışma, cerrahi işlem ve çalışma süresinin 1 ile 26 yıl gibi uzun bir zaman aralığında olmasından dolayı sonuçların karşılaştırılmasını oldukça güçleştirmiştir (Fatemian ve ark., 2003). Keçilerde ise karotid organ denervasyonu CO_2 sensitivitesini başlangıçta %60 azaltsa da, insanlardan daha kısa süre içerisinde (15 günde) normale geri döndüğü görülmüştür (Pan ve ark., 1998). Şekil 4' te periferal ve merkezi kemoreseptörlerin aktivasyonu ile solunum refleksinin oluşumu ve birbirleri ile

entegrasyonu gösterilmiştir.



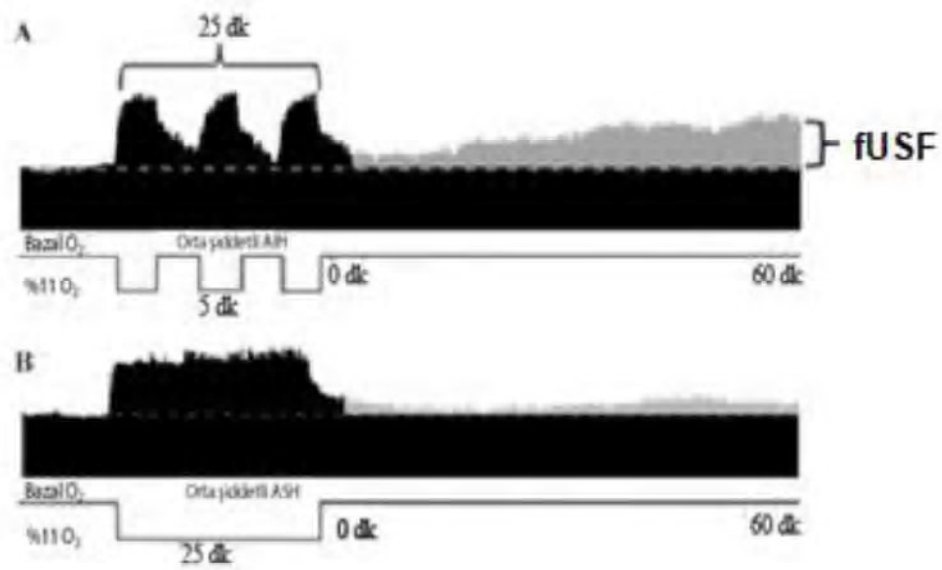
Şekil 4. Periferel ve Merkezi Kemoreflekslerin etki mekanizması.

Periferel Kemorefleks: Karotid organ arteriyel O₂, CO₂ ve pH değışimlerine duyarlıdır ve NTS ile sinaps yapan karotid sinüs siniri ile afferent bilgiyi gönderir. Merkezi Kemorefleks: NTS, Lokus seruleus (LC), rafe ve retrotrapezoid nükleusun (RTN) dahil olduğu CO₂ duyarlı birçok alan beyin sapında lokalize olmuştur. Frenik sinir üzerinden diyaframı da içeren solunum kaslarının aktivitesini sağlar (Şekil 4).

2.6. Uzun süreli fasilitasyon

USF; akut aralıklı hipoksiye (AAH) maruz kalınmasının ardından hipoksiye karşı solunumun yanıtı olarak ventilatuvar motor sinir cevabın genliğinde uzun bir süre (>1 saat) sonrasındaki artışıdır. AAH, klasik olarak arteriyel parsiyel O₂ basıncının (PaO₂) 45-55 mmHg düzeyinden, normoksik (PaO₂> 90 mmHg) aralıklarla kesildiği bir durumunu yansıtır (Bach ve Mitchell, 1996; Baker ve Mitchell, 2000; Devinney, 2013). USF'yi tanımlamaya yönelik yapılan ilk çalışmalarda aralıklı hipoksi modeli olarak üç kez, beşer dakikalık hiperoksik (inspire edilen O₂ fraksiyonu; FiO₂= 0.50) aralarla bölünmüş, beşer dakikalık hipoksik zaman bölümleri ile uyarılan, üretan anestezisi yapılmış, vagus siniri kesilmiş ve yapay olarak ventilasyonu sağlanmış sıçanlarda, aralıklı hipoksik nöbetler uyarı olarak kullanılarak frenik uzun süreli fasilitasyon

(fUSF) ve hipoglossal sinir USF (hUSF) oluşumu ilk defa rapor edilmiştir (Bach ve Mitchell, 1996). Şekil 5(A)' da anestezi altındaki sıçanlarda üç kısa hipoksi dilimini takiben frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF) oluşumu şematize edilmiştir. AAH' yi takiben, son hipoksik dilimden 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde kalıcı bir artış olup frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF), bu uzun süreli artışı ifade etmek için kullanılmıştır (Devinney, 2013). Aralıklı hipoksik uyarıların uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olduğunu gösteren deneysel çalışmaların yanında genel 5-HT₂R antagonisti olan metiserjid veya spesifik 5-HT_{2A}R antagonisti olan ketanserin kullanarak 5-HT_{2A}R blokajı oluşturmuş ve bu uygulamaların aralıklı hipoksi tarafından indüklenen frenik USF'yi veya karotid sinus sinirinin (CSN) uyarımını önlediği görülmüştür (Baker ve Mitchell, 2000). Aynı zamanda serotonin biyosentezinin enzim değerini sınırlamak için kullanılan triptofan hidrosilaz inhibitörü (paraklorofenilalanin) ve serotonerjik nörotoksin (5,7-dihidroksitriptamin) uygulanması ile de uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu azaltılmıştır. Frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF) oluşumuna akut sürekli hipoksinin (ASH) toplamda aynı süre (25 dk) içerisinde tek bir periyodunun (Şekil 5(B)) değil aralıklı hipoksi dilimlerinin neden olduğu gösterilmiştir (Baker ve Mitchell, 2000; Devinney, 2013). AAH tarafından indüklenen solunumsal uzun süreli fasilitasyon (vUSF) oluşumu, bilinci açık, spontan nefes alan, serbestçe hareket eden hayvanlarda pletismograf ile dakikada yaptıkları ventilasyonları ölçülmüş ve bu durumda da solunumsal uzun süreli fasilitasyon (vUSF) oluşumunun AAH tarafından uyarılabildiği görülmüştür (McGuire ve ark., 2002). Uyanık ve anestezi altındaki değişik hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda uzun süreli fasilitasyon (USF) hem bazal ventilasyondaki artma hem de frenik sinir aktivitesi genliğinin artması olarak gözlenmiştir (Fuller ve ark., 2000; Mitchell, 2001a; Mitchell, 2001b; Morris ve Gozal, 2004; Terada ve ark., 2008). Yapılan çalışmalar solunumsal uzun süreli fasilitasyon (vUSF) oluşumunun, hipoglossal motor sinir ve interkostal motor sinirlerinin cevapları ile frenik sinir cevabın oluşturduğu toplam plastisiteyi düşündürmektedir (Fregosi ve Mitchell, 1994; McKay ve ark., 2004; Mateika ve Sandhu, 2011; Baker-Herman ve Strey, 2011).

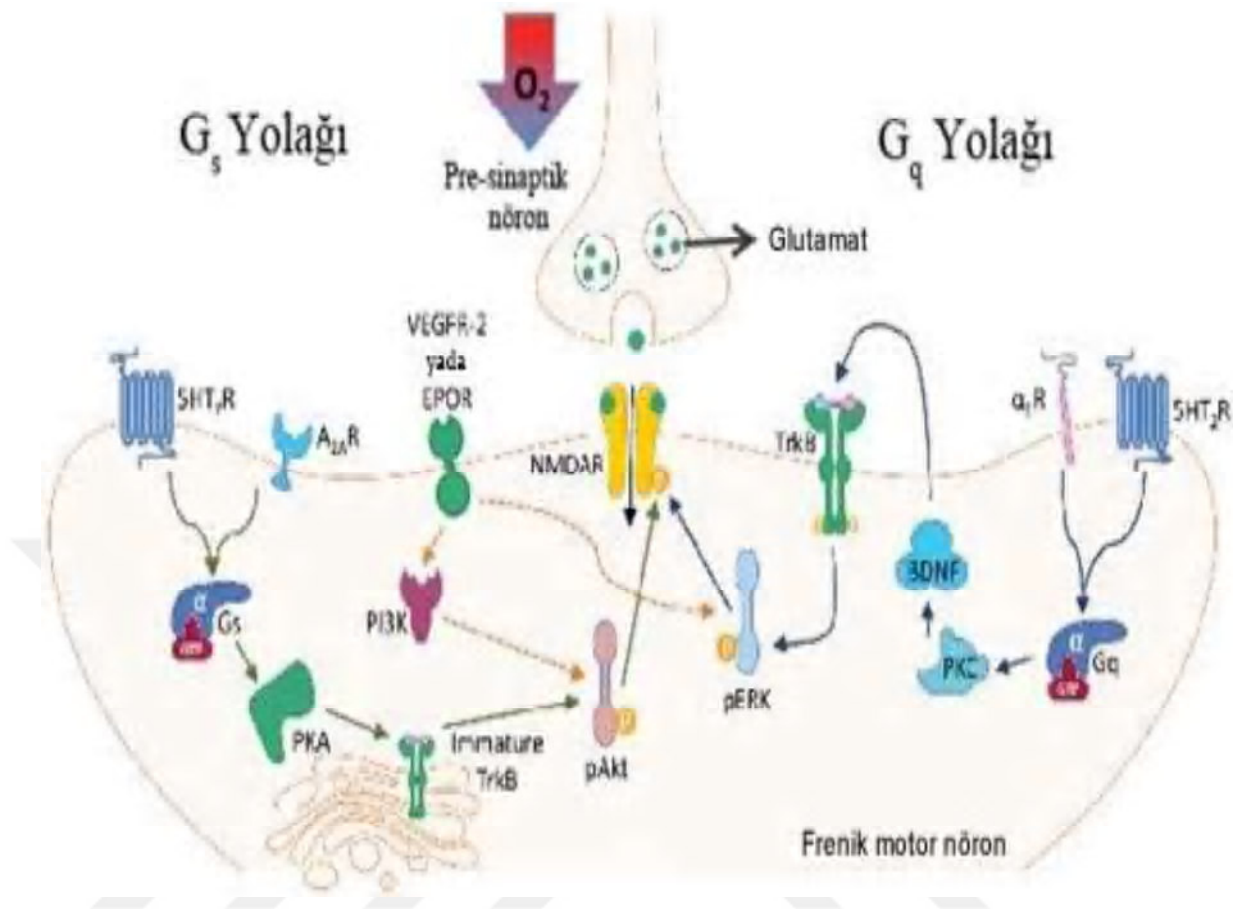


Şekil 5. Frenik uzun süreli fasilitasyon oluşumunda kullanılan modelin duyarlılığı. (Devinney, 2013' den modifiye edilmiştir.)

Frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF) orta şiddetteki akut aralıklı hipoksi (AAH) (%11 O₂) ile oluşurken orta şiddetli akut sürekli hipoksi (ASH) (%11 O₂) ile oluşmaz. (A) AAH nöbetlerinden 60 dakika sonra frenik sinir genliğinde artma olur. (B) Aynı süredeki ASH nöbetini takip eden 60. dakikada frenik sinir genliğinde çok az artma olur. Bu da USF oluşumunun aralıklı hipoksi ile daha çok indüklendiğini göstermektedir.

Literatürde uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu tanımlanırken serotonin (5-HT) bağımlı bir mekanizma olduğu bildirilmiştir (Olson ve ark., 1979; Kinkead ve ark., 1998; Fuller ve ark., 2001; Ling ve ark., 2001; Baker ve Mitchell, 2002; Pena ve Ramirez, 2002; Zhang ve ark., 2004; McGuire ve ark., 2004). 5-HT_{2A} reseptörünün (5-HT_{2A}R) aktivasyonu, yeni protein sentezini başlatmak için protein kinazları ve glutamaterjik nörotransmisyonu arttırmak için sinyal mekanizmasının alt sinyal yolağını aktive eder (Şekil 6 / G_q yolağı) (Baker-Herman ve ark., 2004; Dale-Nagle ve ark., 2010; Pamenter ve Powell, 2016). Muhtemelen bu olay diğer glutamaterjik sistemlerde tanımlandığı gibi presinaptik girdinin duyarlılığını yükseltmek için glutamat reseptörlerinin, postsinaptik membrana eklenmesini ve/veya fosforillenmesini de içerir (Sanchez-Perez ve ark., 2005; Llansola ve ark., 2005; Lisman ve Raghavachari, 2006).

Uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olan bu sinyal mekanizması içerisinde 5-HT_{2A}R alt tipi G_q protein çiftini indüklediği için "Q yolağı" olarak adlandırılmaktadır (Dale-Nagle ve ark., 2010; Pamerter ve Powell, 2016). Akut aralıklı hipoksi durumdan farklı olarak hipoksiye maruz kalma süresinin uzadığı kronik aralıklı hipoksi (KAH) ile kuvvetlenen USF, hipoksik stimulus ile hem yükselmiş karotid organ kemoreseptör cevabını (duysal USF) hem de HVC oluşumunda merkezi sinir sisteminin (MSS) kazancının artmasını içerir (Peng ve Prabhakar, 2004). KAH, uzun süreli fasilitasyon (USF) yolağına aracılık eden yeni protein sentezine ve uzun süreli fasilitasyonun (USF) güçlenmesini sağlar. KAH sonrası oluşan uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu da AAH' de olduğu gibi 5-HT_{2A}R' nün aktivasyonuna bağlıdır (Ling ve ark., 2001, McGuire ve ark., 2004). Fakat KAH boyunca USF' deki artış AAH ile kıyaslandığında 5-HT_{2A}R' nden farklı reseptör alt tiplerinin merkezi (karotid organ ile kıyaslarsak) etkisiyle oluştuğu görülmektedir. Bu bulgu uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumunun birçok mekanizma ile düzenlendiğinin kanıtı olarak karşımıza çıkmaktadır (Golder ve ark., 2008; Hoffman ve ark., 2010; Hoffman ve Mitchell, 2011). 5-HT_{2A}R' nden bağımsız olarak adenosin tip 2A (A_{2A}R) ve serotonin 7 (5-HT₇R) reseptörleri aktivasyonu ile de uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna duyarlı olan bir başka sinyal yolağı tanımlanmıştır (Dale-Nagle ve ark., 2010; Pamerter ve Powell, 2016; Hoffman ve Mitchell, 2011; Hoffman ve ark., 2010). A_{2A}R' leri, metabotropik reseptör çifti G_s protein bağlantılı olduğu için bu yolak "S yolağı" olarak adlandırılmıştır (Şekil 6 / G_s yolağı) (Dale-Nagle ve ark., 2010; Pamerter ve Powell, 2016). Uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumunun moleküler mekanizması, solunumun kontrolünde görev alan tüm motor nöronlar ve beyin sapı üzerinde solunumla ilişkili nükleusların sinapslarında henüz kesin olarak ispat edilememiştir.



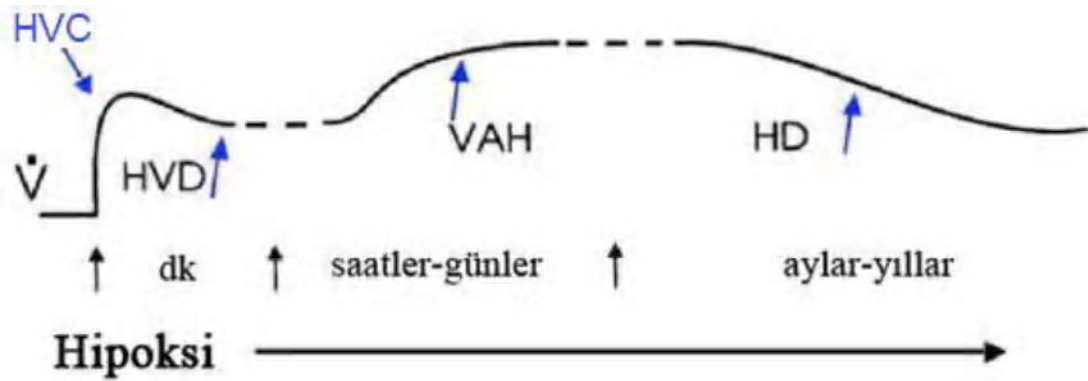
Şekil 6. 5-HT₂ ve A_{2A} / 5-HT₇ reseptörlerinin aktivasyonu ile USF oluşumu. (Pamenter ve Powell, 2016' dan modifiye edilmiştir.)

G_q yolağı (mavi oklar): akut aralıklı hipoksi (AAH) ile karotid organ stimülasyonu nöromodülatör rafe nöronlarından 5-HT_{2A} reseptörüne bağlanacak olan 5-HT salgılar. 5-HT, G_q sinyal kaskadını protein kinaz C (PKC)' yi aktive eder ve beyinden salgılanan nörotrofik faktörü (BDNF) indükler. BDNF, fosforillenmiş ekstrasellüler sinyal düzenleyici (pERK) aktive etmek için tirozin kinaz reseptörüne (TrkB) bağlanır. pERK, postsinaptik nöronlardaki glutamaterjik N-metil-D-aspartat reseptörlerini (NMDAR) fosforilize eder ve presinaptik glutamat salınımını duyarlılığını arttırarak uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olur. G_s yolağı (yeşil oklar): A_{2A}R veya 5-HT₇ reseptörlerinin aktivasyonu ile indüklenir. G_s sinyali, protein kinaz A (PKA)' yı aktive ederek immature TrkB (iTrkB) stimüle eder ve fosfo-protein kinaz B (pAkt) modüle edilmesini sağlayarak NMDAR'lerini fosforilize eder ve presinaptik glutamat salınımının duyarlılığını arttırır.

2.7.Ventilasyonun Hipoksiye Aklimatizasyonu (VAH)

Ventilasyon, solunum frekansı (f_R) ve nefes alıp-verme başına gaz volümünü tanımlayan tidal volümün (V_T) bir ürünüdür. Akut hipoksiye maruz kalınmasıyla karotid organ uyarılır ve merkezi sinir sistemi hem f_R ' de hem de V_T ' de gerçekleştirdiği bir artışla ventilasyonun artmasına neden olmaktadır. Hipoksinin hiperbolik bir fonksiyonu olarak solunum artması ve P_{aCO_2} ' nin arka planda olmasına bağlı olarak, belli bir dönüm noktasına kadar P_{aO_2} ' deki değişiklikler, ventilasyonda değişimlere neden olmaktadır (Weil ve ark., 1970).

Kronik hipoksiyi takiben HVC' de bir plastisite oluşur. Ventilasyonun hipoksiye cevabı zamana ve hipoksik stimulusun modeline bağlıdır. Şekil 7' de gösterildiği üzere, sürekli hipoksiyi takip eden 5. dakikadan 30. dakikaya kadar ventilasyon azalır ve hipoksik ventilasyon düşüşü (HVD) meydana gelir. HVD, akut cevapla bağlantılı olarak ventilasyonda bir düşüşle karakterize edilmektedir ve bu durum normoksik koşulların tekrar sağlanmasından sonra bir saate kadar devam eder. Eğer hipoksi saatlerden günlere kadar devam ederse ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) olarak adlandırılan, ventilasyonda ikinci bir artma meydana gelir. Hipoksinin yıllarca devam etmesiyle hipoksik desensitizasyon (HD) oluşur ve böyle bir durum, hipoksiye daha kısa bir zaman maruz kalan deneklerle karşılaştırıldığında, ventilasyonda düşüş olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, ventilasyonun akut hipoksik cevabı körelmiş olarak nitelendirilir (Powell ve ark., 1998). Bu tez çalışmasının bir amacı da, hipoksinin saatlerden günlere kadar sürmesinin ardından oluşan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) için geçerli potansiyel mekanizmanın, uzun süreli fasilitasyon (USF) için çalışılan moleküler sinyal mekanizması ile karşılaştırarak benzerliklerinin ve farklılıklarının gösterilmesine katkı sağlamaktır.

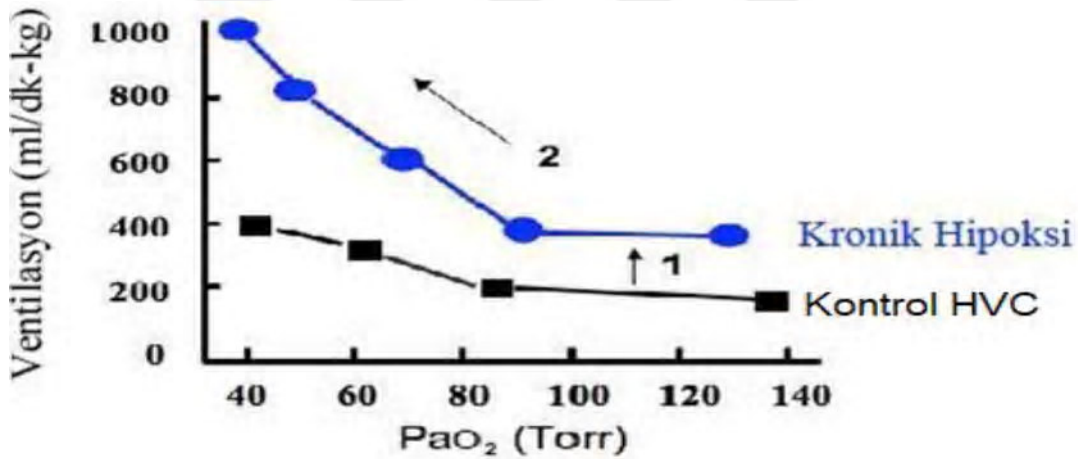


Şekil 7. Sürekli hipoksi boyunca ventilasyondaki zaman bağımlı değişiklikler.

Hipoksik ventilatuvar cevap, hipoksik uyarının uzunluğuna bağlıdır. Hipoksiye maruz kalınmasının ilk anlarında ventilasyon artar (akut hipoksik ventilatuvar cevap). Hipoksiyi takiben birkaç dakika içerisinde ventilasyonda düşme gerçekleşir (hipoksik solunumsal düşüş veya HVD). Ventilasyondaki ikinci bir artış (solunumun hipoksiye aklimatizasyonu veya VAH) hipoksik koşullarda saatlerce veya günlerce kalınmasıyla oluşur. Hipoksik koşullarda aylarca veya yıllarca kalınmasıyla hipoksik azalış (HD) oluşur. Mavi oklar her zaman noktasındaki HVC' yi göstermektedir.

Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunun gelişmesi için zaman süreci hipoksinin şiddetine ve aynı zamanda canlı türlerine de bağlıdır. Keçilerde ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH), 6 saat gibi küçük bir zaman aralığında geliştiği gözlenmiştir ve buna karşın midillilerde 24 saat sonra ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunun tamamlandığı bulunmuştur (Forster ve ark., 1981; Forster ve ark., 1976). Bu zaman süreci, insalarda 2900 metrede 4 gün içinde ve 4300 metrede 10 gün içinde gerçekleşebildiği gibi oldukça geniş bir zaman sürecinde oluşur (Rahn ve Otis, 1949; Forster ve ark., 1975). 8000 metrenin üzerindeki yerlerde ise VAH oluşumu için 30 gün üzerinde bir zaman gerekli olduğu bulunmuştur (West, 1988). Kronik hipoksi boyunca ve sonrasında ratlar da insanlar gibi ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu için benzer bir zaman süreci sergilemeleri nedeniyle ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu üzerinde yapılan araştırmalar için en çok kullanılan hayvan modeli olmuştur (Olson ve Dempsey, 1978). Şekil 8' da gösterildiği üzere, izokapnik HVC' nin yükselen eğimiyle ve aynı zamanda normoksik seviyeye dönüldüğünde kalıcı bir hiperventilasyon oluşturmasıyla ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu karakterize edilmektedir. Eğer ölçüm

poikilokapnik koşullarda yapılırsa HVC' in eğimi değişmediği fakat Pa_{O_2} ' nin bütün seviyelerinde ventilasyonun yüksek olarak kaldığı görülmüştür. Eğer izokapnik koşullar korunursa HVC' in oluşan eğimi kronik hipoksida yüksek olarak kalmaktadır (Aaron ve Powell, 1993). Ventilasyondaki değişim, kontrol grubunda da ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunun zaman sürecine benzer bir şekilde geri döner ve bu da ventilasyonun hipoksiye deaklimatizasyonu (VDH) olarak adlandırılmaktadır (Dempsey ve ark., 1979). Oluşan bu hiperventilasyon arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (Pa_{CO_2}) düşüşüne yol açar ve bu da bir normoksik deneyeğin apne eşiğinden anlamlı olarak daha düşük bir seviyede bulunmaktadır. Kronik hipoksi boyunca oluşan plastisite gibi aynı zamanda kronik hiperkapni de ventilasyonu stimüle etmektedir. Hiperkapniye maruz kalınmasını takip eden birkaç gün hem hiperkapni koşullarının hem de normoksi koşullarının ventilasyonun azalmasına yol açtığı bulunmuştur (Lai ve ark., 1981). Bu da kronik hipoksi boyunca ventilasyondaki değişikliğin tam tersidir.



Şekil 8. Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonundaki (VAH) değişiklikler.

VAH normoksik koşullara göre solunumun aktivitesindeki artma (1) ile ve izokapnik hipoksik solunum cevabı eğiminin artmasıyla (2) karakterize edilir.

2.8. VAH Oluşum Teorileri

Ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunu açıklamak için önerilen ilk teorilerden biri; arteriyel ve merkezi kemoreseptörler için CO_2 stimülasyonundaki potansiyel değişiklikler üzerine odaklanılmıştır. Severinghaus ve ark. bikarbonatın beyin omurilik sıvısı (BOS) içerisinde aktif taşınmasının, serebrospinal sıvı pH' sını normalize ettiğini ve merkezi kemoreseptör hücrelerinde solunum aktivasyonu için

gerekli enerjinin sürekliliğine izin verdiğini öne sürmüşlerdir (Severinghaus ve ark., 1963). Kemoresptörlerden kaynaklanan hipoksik enerjinin, solunum için gerekli ve ventilasyonun artmasına neden olması akut hipoksinin tersine kronik hipoksi ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Aynı zamanda düşük arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı (P_{aCO_2}) ve alkaloid beyin omurilik sıvısının (BOS) olduğu yerlerde solunum inhibe olduğu gözlenmiştir. Bu durumun devam ettiği daha sonraki zaman noktalarında, arteriyel pH' nın renal kompenzasyonu, serebrospinal sıvının pH kompenzasyonunu tamamen tamamlanmasına izin verdiği hipotez olarak sunulmuştur (Severinghaus ve ark., 1963). Yüksek irtifada kalan deneklerde bir haftayı takiben ve bir grup yüksek irtifada yaşayan yerlilerde, serebrospinal sıvı pH' sı normal seviyedekine benzer olarak ölçülmüştür (Severinghaus ve ark., 1963; Severinghaus ve Carcelen, 1964). Bu çalışmanın, bir önceki çalışmayı desteklemediği görülmektedir ve ayrıca serebrospinal sıvı pH' sı kronik hipoksiye maruz kalmış deneklerde alkalik olarak gösterilmiştir (Forster ve ark., 1975). Aynı zamanda diğer kimyasal stimülasyonlar, hipoksik durumda zamanla solunumu inhibe etmektedir ve bu durumda ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunu açıklamak mümkün olmamaktadır. Yapılan bir çalışmada, kronik hipoksidede arteriyel pH seviyesinin değişiminin, akut hipoksi boyunca oluşan arteriyel pH seviyesinin değişiminden farklı olmadığı da görülmüştür (Dempsey ve Forster, 1982). Bu da kemoresptör duyarlılığının veya kemoreseptör stimülasyonu sürecinin, kimyasal stimülasyonun kendisinin değil, kronik hipoksi boyunca görülen ventilasyondaki artmanın zamana da bağlı olduğunu açıklamaktadır.

2.9. Kronik Hipoksi Boyunca Plastisite Mekanizmaları

Kronik hipoksi boyunca solunum motor nöronlarında ve kas fonksiyolarında bir değişim gözlenmektedir. Fakat bu olasılığın, aralıklı hipoksiyi takiben frenik sinir motor havuzunda oluşan plastisite için de gözardı edilemeyeceği düşünülmektedir. Aralıklı hipoksi sırasında birçok hipoksik nöbetle frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF) kuvvetlendirilerek hipoksinin şiddetine ve sürecine bağlı olarak serotonin veya adozin bağımlı plastisiteye neden olduğu görülmektedir. Benzer fasilitasyon, hipoksiye maruz kalınmasının aynı zaman periyodu içerisinde ve sürekli nöbet halinde olması ile gerçekleşmediği görülmektedir (Baker ve ark., 2001). Bu incelemeyi takiben merkezi kemoreseptör aktivasyonunun stimülasyonunun kronik hipoksi boyunca değişmediği anlaşılmış ve ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunu göstermek

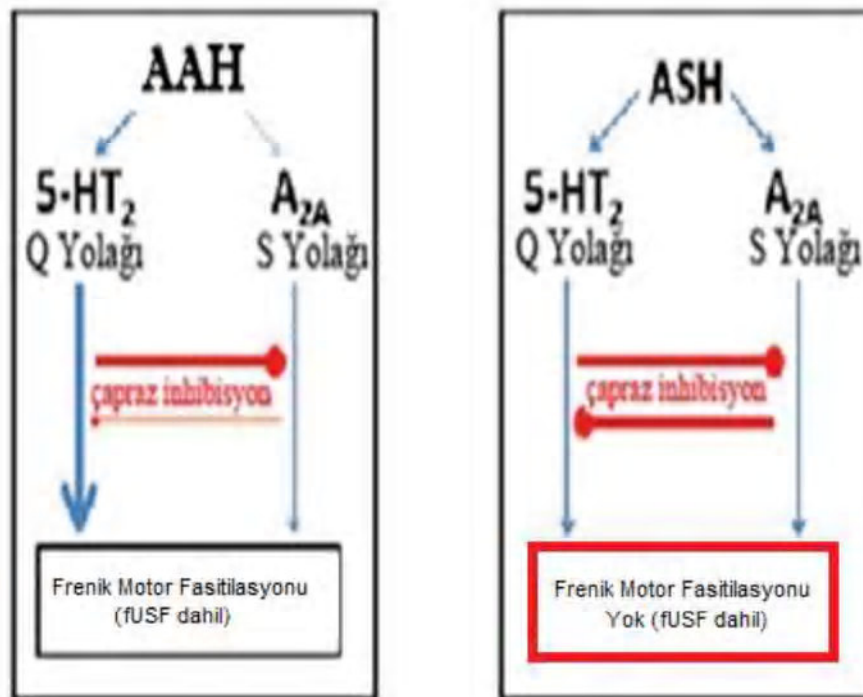
için merkezi kemoreseptörlerin rolü büyük ölçüde çalışılmamış olarak kalmıştır (Forster ve ark., 1975). Kronik hipoksi ile birlikte ventilasyon enerjisi her iki hipoksik ve normoksik durum için artmış ve P_{aCO_2} 'nin normalden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum bu şekilde olmasına rağmen CO_2 'nin set noktası değişmiş ve de hem insanlarda hem de ratlarda ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu tamamen geliştiği halde ventilasyonun hiperkapniye cevabının eğiminde hiçbir değişiklik görülmemiştir. İnsanlarda kronik hipoksiyi takiben 5 gün içerisinde HCVR eğimi normoksik kontrol grubuyla aynı olmasına rağmen, eğri kronik hipoksik grubunda sola kaymış bir şekilde bulunur (Somogyi ve ark., 2005). Sürekli hipoksiyi takiben 8 saat sonra insanlarda HCVR eğimi artmış ve sadece periferale bileşenler CO_2 duyarlılığına anlamlı bir artış göstermiştir (Fatemian ve Robbins, 2001). CO_2 değişimine cevabın eğimi kronik hipoksi ile zamanla değişebilir olması, belki de kronik hipoksi boyunca merkezi CO_2 kemosenitivitesi değişikliğinden kaynaklıyolabileceği düşünülmektedir.

2.10. Kronik Sürekli Hipoksi ve Adenozin 2A reseptör Aktivasyonu

Hipoksinin MSS içerisinde nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden adenozin trifosfat (ATP), adenozin ve/veya adenin nükleotid salınımını indüklediği yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Phillis ve ark., 1993; Wallman-Johansson ve Fredholm, 1994; Gourine, 2005; Martin ve ark., 2007). Ekstrasellüler ATP'nin arttığını bildiren bir çalışmada, ATP'nin ektonükleotidazlarla adenozine dönüştüğü ve ekstrasellüler adenozin konsantrasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (Parkinson ve ark., 2005). Bulunan bu sonuca göre şiddetli hipoksiye ($P_{aO_2}=25-30$ mmHg) maruz kalınması potansiyel olarak nöronlardan ve/veya glia hücrelerinden daha çok ATP/adenozin salınımını arttıracak düşüncesi, plastisite oluşumunda serotonin bağımlı Q yolağı yerine, daha çok adenozine bağımlı S yolağının aktive olduğu öngörülmektedir. Ventilasyonun hipoksiye verdiği cevap için bu iki G protein mekanizmasının fizyolojik önemi, farklı şiddetlerdeki ve süreklilikteki hipoksinin farklı yollar üzerinden plastisite oluşumunu indüklemesidir. Daha şiddetli hipoksi epizodlarının ($P_{aO_2}=25-30$ mmHg) tercihen S yolağını indüklediği ve buna karşın orta şiddetli hipoksi epizodlarının ise ($P_{aO_2}=45-55$ mmHg) Q yolağını indüklediği gösterilmiştir (Satriotomo ve ark., 2009; Vinit ve ark., 2010; Nichols ve ark., 2012; Pamerter ve Powell, 2016). Q ve S yolları aralıklı hipoksi ile aynı anda başlatılabilir fakat birbirlerine sınırlamaları

nedeniyle uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu ve kuvvetlenmesi sadece bir yolak tarafından sağlanmaktadır (Devinney, 2013). Bu etkileşim solunum dışında diğer sistemler içerisinde tanımlanmış çapraz cevaplı inhibisyon mekanizmaları üzerinden birbirlerine müdahale eden Gs ve Gq proteinlerine özgüdür (Roy ve ark., 2006). Şiddetli akut aralıklı hipoksi (AAH) boyunca uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu değişerek S yolağına bağımlı olmasına rağmen bu değişimin nasıl meydana geldiği hala anlaşılammıştır (Nichols ve ark., 2012). Muhtemelen şiddetli hipoksi boyunca büyük ölçüde adenozin oluşumu veya birikmesi A₂AR aktivasyonunu arttırarak güçlü S yolağı aktivasyonunu oluşturur ve daha sonra yolakların baskınlığı aralarındaki yarışma ile Q yolağının baskılanmasıyla sonuçlanır. Akut sürekli hipoksi (ASH) gibi uzun süreli hipoksiye maruz kalınma durumlarında büyük ölçüde adenozin oluşumu veya birikimi Q ve S yolaklarının dengelenmiş aktivasyonuna neden olarak uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir (Şekil 9) (Conde ve Monteiro, 2004; Griffin ve ark., 2012). Bu reseptör aktivasyon dengesi hangi yolun baskın olduğunu ve hangi yolağın plastisite ifadesinin büyüklüğünü titreştiren bir "fren" görevi göreceğini belirleyecektir. Q ve S yolakları arasındaki denge ve çapraz cevap etkileşimlerinin kuvveti, farklı motor nöron veya solunum merkezleri üzerindeki nöron popülasyonları arasında farklılık gösterebilir. Bu tür nöron heterojenliği, farklı nöron havuzlarına (motor veya duysal nöronlar) farklı özellikler kazandırabilir ve böylece nefes alma sırasında olduğu gibi bir uyarana karşı oluşturdukları cevaplar, nöron davranışlarının kritik hareketlerdeki rollerine uygundur. A₂AR aktivasyonu, hipoksi sırasında hücre dışı adenozin arttığı için AAH kaynaklı frenik uzun süreli fasilitasyon (fUSF) oluşumuna katkıda bulunur (Hoffman ve ark., 2010). Seçici bir A₂AR antagonisti ile önceden muamele edilen sıçanlarda fUSF' in kuvvetlendiği, intratekal ve intravenöz selektif antagonistlerin verilmesiyle doğrulanmıştır. Kuvvetlenmiş fUSF' nin hala serotonin bağımlı olup olmadığını test etmek için, geniş spektrumlu serotonin antagonisti metiserjid, intratekal olarak ve ardından orta şiddetli AAH' ye maruz bırakılmadan önce intratekal Adenozin 2A reseptör antagonisti (MSX-3) uygulanmıştır. Hem 5-HT₇R hem de A₂AR' leri bloke edildiğinde, orta şiddetli AAH fUSF' yi uyandırmak için yeterli olmamış ve bu da USF' nin serotonin bağımlı olduğunu teyit etmiştir (Hoffman ve ark., 2010). Reseptörlerin alt tiplerine bağlı olarak serotoninin hem Gq hem Gs protein çiftini indüklediği vurgulamak önemlidir. Bu çalışmanın sınırlarından ilki; şiddetli hipoksi boyunca 5-HT₇R ve/veya A₂AR aktivasyonuna bağlı

olarak oluşan ventilatuvar nöroplastisitenin sadece A_2AR aktivasyonundaki değişimler göz önünde bulundurularak limitlerimiz belirlenmiştir. A_2AR antagonistleri de kronik spinal kord yaralanması gibi uzun dönemli spinal hasarlanma sürecince ventilatuvar plastisite oluşumuna yol açmaktadır. AAH' ye maruz bırakılan A_2AR antagonistleri uygulanan ve uygulanmayan ratlarda ratlarda bu fikir test edilmiştir. Akut hipoksiye her maruziyet günü intraperitoneal (i.p.) A_2AR inhibitörü (KW6002) kullanılmış ve tidal volüm de anlamlı bir artma meydana gelmiştir (Navarrete-Opazo ve ark., 2017).



Şekil 9. Hipoksi şiddetine ve modeline bağlı olarak uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna yol açan Q ve S yollarındaki çapraz cevaplı inhibitör etkileşimler. (Devinney, 2013' ten modifiye edilmiştir.).

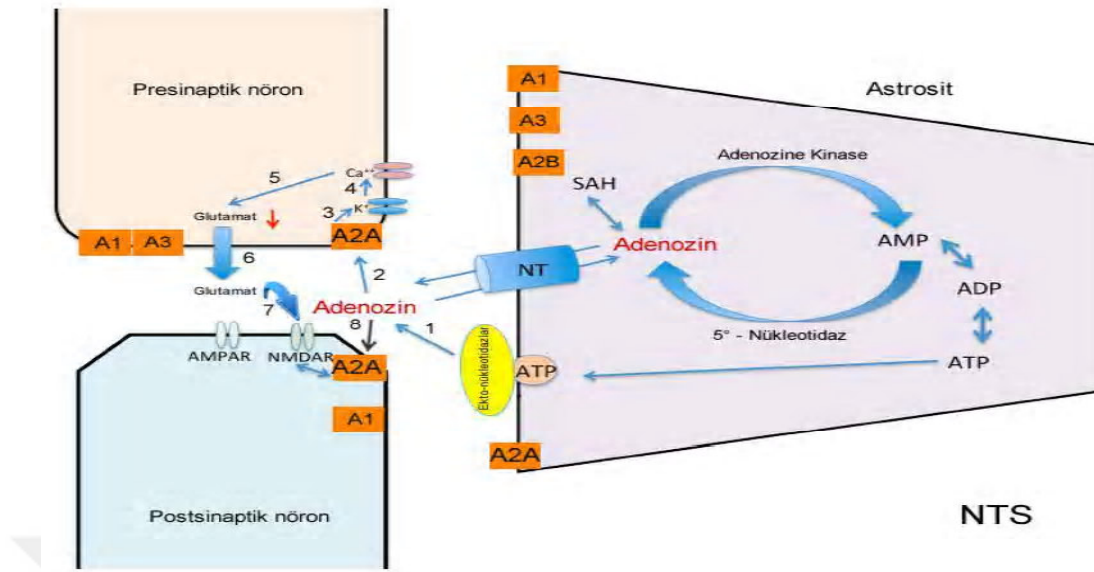
AAH boyunca serotonin reseptör aktivasyonu ile Q yolağı baskın olması adenozin birikiminin az olmasından kaynaklanmaktadır (sol). Akut sürekli hipoksi (ASH) boyunca ise çok miktardaki adenozin salınımı veya birikmesiyle S yolağı aktive olur ve Q yolağı aktivasyonunu baskılar (sağ). Dengelenmiş çapraz cevap inhibisyonu ile her iki yolağın aktivasyonu AAH sonrasında uzun süreli fasilitasyonu (USF) sağlar fakat akut sürekli hipoksi (ASH) boyunca her iki yolağın da uzun süreli fasilitasyonu (USF) oluşumu gözlenmez.

Aralıklı hipoksi sırasında birçok hipoksik nöbetle frenik nöral aktivite kuvvetlendirilerek hipoksinin şiddetine ve süresine bağlı olarak serotonin veya adenozin bağımlı plastisiteye neden olmaktadır. Benzer fasilitasyon, hipoksiye maruz kalınmasının aynı zaman periyodu içerisinde ve sürekli nöbet halinde olması ile gerçekleşmediği görülmektedir (Şekil 9) (Baker, 2001; Devinney, 2013). Bu incelemeyi takiben merkezi kemoreseptör aktivasyonu stimülasyonunun sürekli hipoksi boyunca değişmediği anlaşılmış ve hipoksinin sürekliliğine bağlı olan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumunu göstermek için merkezi kemoreseptörlerin rolü büyük ölçüde çalışılmamış olarak kalmıştır (Forster, 1975). Bu yüzden kronik sürekli hipoksi (KSH) sonrasında oluşan plastisitenin beyin sapında en az bir merkezi kemoreseptör alanı (nükleus traktus solitarius; NTS) üzerindeki değişimlere bağlı olabilme ihtimalini araştırdık. Şekil 7’ de kronik sürekli hipoksi (KSH) boyunca HVC’deki değişimler (mavi oklar) gösterilmiştir. Eğer hipoksi saatlerden günlere kadar devam ederse ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) olarak adlandırılan, ventilasyonda ikinci bir artma meydana gelir (Powell ve ark., 1998; Pamerter ve Powell, 2016). VAH oluşumunun gelişmesi için zaman süreci hipoksinin şiddetine de bağımlıdır. Bu zaman süreci, Rahn, H. ve Otis, A.B. (1949)’ye göre insanlarda 2900 metre yükseklikte 4 gün ve Forster, H.V. vd. (1975)’e göre 4300 metrede 10 gün içinde gerçekleşebildiği gibi oldukça geniş bir zaman sürecinde oluşur. 8000 metrenin üzerindeki yerlerde ise 30 gün üzerinde bir zaman gerekli olduğu bulunmuştur (West, 1988). Kronik hipoksi boyunca ve sonrasında sıçanlar da insanlar gibi ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu için benzer bir zaman süreci sergilemeleri nedeniyle ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) oluşumu üzerinde yapılan araştırmalar için en çok kullanılan hayvan modeli olmuştur (Olson ve Dempsey, 1978). Bu çalışmanın bir amacı da şiddetli AAH sonrasında A₂AR aktivasyonu ile oluşan uzun süreli fasilitasyonu (USF) için geçerli moleküler sinyal mekanizmasının şiddetli KSH

boyunca oluşan ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonu (VAH) için de geçerli bir potansiyel mekanizma olma ihtimalini test ederek, benzerliklerinin ve farklılıklarının gösterilmesine katkı sağlamaktır.

VAH, akut hipoksiye göre, periferik kemoreseptörlerde ve kemoreseptif afferent girdiyi beyin sapı çekirdeğinde işleyerek oluşan plastisiteden kaynaklanan ventilasyonu daha da arttırarak Pa_{O_2} ' yi artırır ve Pa_{CO_2} ' yi düşürür. Karotid organın periferik kemoreseptörleri Pa_{O_2} ve Pa_{CO_2} ' deki akut değişikliklere duyarlıdır fakat sürekli hipoksiye maruziyet karotid organ O_2 duyarlılığını arttırmaktadır (Kumar ve Prabhakar, 2012). Bu olay beyin sapı üzerinde solunumun kontrol merkezlerinden biri olan NTS' deki afferent girdiyi ve MSS üzerinde plastisite oluşumu için belirli bir kemoreseptör girdisiyle ventilatuvar motor çıktıyı daha da arttırmaktadır (Dwinell ve Powell, 1999; Pamerter ve ark., 2014a; Pamerter ve ark., 2014b; Pamerter ve Powell 2016; Wilkinson ve ark., 2010). NTS' deki bu plastisitenin mekanizmaları uzun süreli fasilitasyon (USF) ile benzer olarak glutamaterjik nörotransmisyonu gerektirir (Pamerter ve ark., 2014a; Pamerter ve ark., 2014b). Ancak bu plastisite oluşumu için gerekli olan sinyal yolları henüz bilinmemektedir. Glial hücrelerin nöronal iletimi ve merkezi solunum kontrolünü etkilediği literatürde açık bir şekilde ifade edilmektedir (Hülsmann ve ark., 2000; Erlichman ve ark., 2010; Huxtable ve ark., 2010; Fikushi ve ark., 2016; Lorea-Hernández ve ark., 2016). Bu nedenle, aklimatizasyon boyunca bu duruma yol açan hücre içi sinyal kaskadında önemli bir yeri olabilir. Beyin sapı solunum merkezlerinde mevcut olan glial hücreler nöral sinapsları ve komşu kan damarlarını çevreler ve nöral sinyalizasyon ve sinaptik transmisyonunda yer alan kritik oyuncular olarak rol alır (Bezzi ve Volterra, 2001). Glial hücreler nörotransmitter salınımı ile aktive edilebilirler ve buna karşılık sinaptik iletimi düzenleyen kendi gliotransmitterlerini serbest bırakabilirler (Accorsi-Mendonça ve Machado, 2013). Astrositler, glial hücreler içerisinde heterojen bir popülasyon olarak yer alır ve bazıları kemosenitif olmakla beraber sinapslarda nörotransmitter kullanılabilirliğini düzenlerler (Vesce ve ark., 1999; Gourine ve ark., 2010; Panatier ve ark., 2011). Nörotransmitterler tarafından aktive edilen astrosit kaynağının yakınında bulunan mikroglia hücreleri az miktarda ATP salgılayarak komşu astrositleri aktive eder ve nöronal sinyalizasyonu güçlendirir (Pascual ve ark., 2012). Özellikle adenosin A_1 ve A_2A reseptörleri nörotransmitter salınımı değiştirmede rol oynamaktadır ve MSS boyunca geniş ifade seviyelerine sahiptir. Her iki adenosin reseptörü tarafından bu inhibitör nöromodülasyon, proteine

bağlı metabotrofik Gs reseptörlerini aktive eder. Şekil 10' de gösterildiği ve aşağıda açıklandığı üzere bu reseptörlerin aktivasyonu NTS' nin de dahil olduğu MSS üzerinde adenilil siklazı uyararak, hücre içerisinden K^+ kanallarını rektifiye eder, böylece Ca^{2+} kanallarının ve fosfolipaz C' nin aktivasyonu inhibe edilmiş olur. Bu olay plastisite oluşumu için gereken serotonerjik, dopaminerjik veya noradrenerjik reseptör aktivasyonu engellediği gibi bu reseptörlerin aktivasyonunu sağlayan glutamat, serotonin, dopamin ve asetilkolin içeren bir dizi nörotransmitterin salınmasını engeller ve böylece adenozin resptörleri birincil nöroprotektif reseptör olarak görev yapar (Mukandala ve ark., 2016; Feldman ve ark., 2003). Adenozin, astrosit hücreleri içerisinde ATP' nin enzimatik katabolizması yoluyla adenozin monofosfata (AMP) dönüşür ve daha sonra ekzo-nükleotidaz ile adenozin haline dönüştürülür. Adenozin kinaz esas olarak AMP' ye fosforilasyon yoluyla adenozinin çıkarılmasından sorumludur. Hipoksik koşullar altında, ekstrasellüler ortamda adenozin birikimi olduğunda, hipoksi ile indüklenen hipoksi indüklenebilir faktör 1 alfa (HIF-1 α) gibi faktörler, ekzo-5 nükleotidaz enziminde bir artışa neden olarak hücre dışı ATP' nin adenozine parçalanmasını sağlar. Hipoksi sırasında, HIF-1 α ' nın, nöronların ve glianın membranlarında bulunan, nöronal hücrenin adenozin geri alımını engelleyen equilibratif (dengeli) nükleozid taşıyıcılarını (ent-1/2) engellediği bilinmektedir (Morote-Garcia ve ark., 2009). MSS üzerinde bulunan çok miktardaki ekstrasellüler adenozin bu çalışmanın ana bölgesi üzerinde (NTS bölgesi) postsinaptik ve presinaptik membranlarda bulunan A_2AR ' lerine bağlanır. Bu olay sonrasında ise postsinaptik aktivasyonu, presinaptik nöron üzerinde bulunan A_2AR ' lerine adenozin bağlanması ve glutamaterjik N-metil-D-aspartat reseptörlerinin (NMDAR) aktivasyonunun inhibe edilmesiyle glial hücre aktivasyonuna bağlı plastisite oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir (Mukandala ve ark., 2016).



Şekil 10. Merkezi sinir sisteminde adenosin salınımına hipoksinin etkisi. (Mukandala, 2016' dan modifiye edilmiştir).

Hipoksik ortamda NTS üzerinde bulunan astrofit hücrelerinden ATP' nin yıkımı ile adenosin oluşur. (1) Astrofit hücrelerinden hücre dışına adenosin salgılanır ve sinaptik boşlukta adenosin birikimi gerçekleşir. (2 ve 8) Ekstrasellüler ortamda bulunan adenosin presinaptik / postsinaptik nöron üzerindeki A₂A reseptör aktivasyonuna neden olur. Hücre içi sinyal kaskadındaki olaylar sonucu (3) K⁺ kanalları rektifiye olur ve (4) Ca²⁺ kanalları aktive olarak presinaptik nörondan (5) glutamat salgılanır. (6) Ekstrasellüler ortamdaki glutamat postsinaptik nöronda NMDAR' lerine bağlanarak sürekli hipoksi boyunca plastisite oluşumunda rol alır.

Beyin sapının solunum merkezlerinde, hem mikroglia hem de astrofitler, immüno Floresan boyama ile gösterildiği gibi, sürekli hipoksi ile aktive edilmiş gibi görünmektedir (Tadmouri ve ark., 2014). Minosiklin gibi geniş spektrumlu bir antibiyotik ile mikroglial aktivasyonu inhibe etmek, 24 saatlik sürekli hipoksi sonrası VAH' ı ve ayrıca astrofit aktivasyonunu inhibe ederek astrofit aktivasyonunun mikroglial aktivasyonla modüle edildiği fikrini desteklemektedir (Tadmouri ve ark., 2014). Ayrıca bu tez çalışmasında adenosin birikimine bağlı glial hücre aktivasyonunun ventilasyonun sürekli hipoksiye aklimatizasyonu için kritik bir sinyal olduğu ve bu sinyalin NTS' de glial aktivasyonu ilerlettiği adenosin A reseptör aktivasyonunun immüno Floresan görüntülemesi yapılarak göstermek istenildi. Yukarıda da anlatıldığı

üzere inflamasyon, ventilasyonun hipoksiye aklimatizasyonunda nöral plastisite oluşumu için başka bir sinyal yolu olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada KSH boyunca anti-inflamatuar ilaçların karotid organın artmış O₂ duyarlılığını bloke ettiği görülmektedir (Liu ve ark., 2009). Buna benzer olarak KSH boyunca steroid olmayan anti-inflamatuar ilaç (NSAID) uygulamasının MSS' nde plastisite oluşumunu bloke ederek HVC' yi arttırdığı da bulunmuştur (Popa ve ark., 2011). Aynı zamanda bir NSAID olan ibuprofenin yüksek irtifada (3,800 m) iki gün gibi geçici bir süre kalan insanlarda izokapnik HVC artışını körelttiği bulunmuştur (Basaran ve ark., 2016). Sonuç olarak, inflamasyon ve sitokin ekspresyonu ile ilişkili olarak NTS' de glial aktivasyonunun bloke edilmesi kronik hipoksi boyunca ventilatuvar aklimatizasyonu bloke etmektedir (Stokes ve ark., 2017). Bu çalışmaların hepsinde başlangıçta ve kronik hipoksiye maruz kalma süresinin tamamı boyunca anti-inflamatuar ilaç uygulaması yapılmıştır. HVC' de kronik hipoksi ile nöral plastisitenin indüksiyonu veya korunması için inflamatuvar sinyallerinin gerekli olup olmadığı henüz net değildir.

Tüm bu bilgiler ışığında, bu çalışmada şiddetli kronik hipoksiye maruz bırakılan sıçanlarda adenezine bağımlı ventilatuvar plastisite oluşumuna neden olan VAH oluşumunda inflamatuvar sinyallerin de rolü olduğu ve VAH mekanizmasının korunmasında etkili olup olmadığını test etmek hipotez olarak sunulmuştur. Henüz üzerinde yeterince çalışma yapılmamış bu konudaki araştırmalar, solunum merkezindeki mekanizmalar veya etkileşimleri anlamak için, solunum yetmezliği ve diğer motor fonksiyon bozuklukları olan hastaların tedavisinde yeni yöntemlerin gelişmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile kullanılacak olan hipoksi modelinin kronik obsrükatif akciğer hastalığı (KOA) gibi hastalıklarda, dokulara ulaşan O₂ miktarındaki değişiklikleri taklit ederek veya nörolojik hastalıklarda (amyotrofik lateral skleroz; ALS, multiple skleroz; MS gibi) ve spinal kord yaralanması/zedelenmesinde görülen uzun süreli motor sinir fonksiyon kayıplarına neden olan sebeplerin ventilatuvar nöroplastisiteye yol açan reseptör aktivasyonu/inhibisyonunu sağlayan agonist-antagonist ve anti-inflamatuar ilaçların geliştirilmesine yönelik katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada, her bir grup (Toplamda 4 grup ve her grubun 3 alt grubu bulunmaktadır) için 18 adet olmak üzere toplamda 72 adet, erkek, 2 aylık Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde üretilmiş olup, 12 saat ışık 12 saat karanlık bir saat döngüsü içerisinde standart sıçan kafeslerinde, standart oda sıcaklığında, musluk suyu ve standart sıçan yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Testler gündüz yapıldı ve bütün vücut pletismografisi (TVP) ile ventilasyon (V) ve ventilasyon bileşenleri olan solunum frekansı (fR) ve tidal volüm (TV) ölçümleri sırasında besin ve su verilmedi. Bir deney sonunda ağırlığı ölçülen sıçanlar, inhalasyon yoluyla %100 O₂ içerisinde %5 izofloran bulunan anestezi odasına konularak anestezi altına alındı ve ölüm kardiyak ventriküler insizyon yoluyla açık göğüs anevrizması ile doğrulandı.

3.2.DENEY GRUPLARI

Çalışmada Sham ve Kronik Sürekli Hipoksi (KSH) olmak üzere temel olarak 2 grup oluşturuldu. Sham grubu sıçanlar, normoksik %21 O₂ seviyesine 7 gün boyunca normobarik oda içerisinde maruz kaldılar. Ancak Sham grubu, normobarik odalarının bulunduğu ve aynı zamanda tez çalışmasında ventilasyonda parametreleri ölçümlerinin yapıldığı kuruluş olan Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nin deniz seviyesinde olmayışı yönünden normoksik şartlardan farklıdır. Bu sebeple grup isimlendirilmesinde normoksi ifadesi yerine Sham ifadesi tercih edildi. Yedi gün boyunca normobarik oda içerisinde farklı O₂ seviyelerinde tutulan hayvanlardan 36 tanesi Sham grubu için ve 36 tanesi ise kronik sürekli hipoksi grubu için ayrıldı. Sham grubu sıçanları 12 tanesi kontrol grubu olarak, 12 tanesi dimetil sülfoksit (DMSO) uygulaması yapılan grup olarak ve 12 tanesi ise adenozin 2A reseptör antagonisti olan MSX-3 uygulaması yapılan grup olmak üzere ayrıldı. Kontrol grubunda

olan 12 hayvana normobarik oda içerisinde kaldığı süre boyunca herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. 12 adet sıçan bulunan dimetil sülfoksit (DMSO) uygulaması yapılan gruba ve 12 adet sıçan bulunan adenozin 2A reseptör antagonisti (MSX-3) uygulaması yapılan gruba her gün 'İlaç Dozları' kısmında belirtilen şekilde ilaç enjeksiyonları yapıldı. Yedi günün sonunda tüm vücut pletizmografi (TVP) ölçümü yapılmak üzere Sham grubu kontrol hayvanları orta şiddetli Sham (oşSham_KON) için 6 adet ve şiddetli Sham (şSham_KON) için 6 adet olmak üzere kontrol grupları için ikiye ayrıldı. Aynı şekilde Sham grubu dimetil sülfoksit (DMSO) uygulaması yapılan ve adenozin 2A reseptör antagonisti (MSX-3) uygulaması yapılan gruplar 6'şar adet sıçan olacak şekilde orta şiddetli Sham DMSO (oşSham_DMSO), şiddetli Sham DMSO (şSham_DMSO), orta şiddetli Sham MSX-3 (oşSham_MSX-3) ve şiddetli Sham MSX-3 (şSham_MSX-3) grupları olarak ayrıldı. Sham grupları tüm vücut pletizmografi ölçümü için Sham modeli TVP ölçüm protokolü kullanıldı (Şekil 11). Tüm vücut pletizmografi ölçümü sırasında orta şiddetli Sham grubu (oşSham) için hipoksik maruziyette %13 O₂ seviyesi kullanılırken şiddetli Sham grubu (şSham) için hipoksik maruziyette %10 O₂ seviyesi kullanıldı.

Kronik sürekli hipoksi (KSH) grubu sıçanları 18 tanesi orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu (oşKSH) için ve 18 tanesi şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu (şKSH) için olmak üzere ayrıldı. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grubunda (oşKSH) 18 sıçandan 6 tanesi orta şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu (oşKSH_H) olarak, 6 tanesi orta şiddetli kronik sürekli hipoksi dimetil sülfoksit (DMSO) uygulaması yapılan grup (oşKSH_DMSO) olarak ve 6 tanesi ise orta şiddetli kronik sürekli hipoksi adenozin 2A reseptör antagonisti olan MSX-3 uygulaması yapılan grup (oşKSH_MSX-3) olmak üzere ayrıldı. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grupları (oşKSH) 7 gün boyunca normobarik oda içerisinde %13 O₂ seviyesine maruz bırakıldı. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubuna (oşKSH_H) normobarik oda içerisinde kaldığı süre boyunca herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubuna (oşKSH_DMSO) ve orta şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubuna (oşKSH_MSX-3) her gün 'İlaç Dozları' kısmında belirtilen şekilde ilaç enjeksiyonları yapıldı. Kronik sürekli hipoksi (KSH) grupları tüm vücut pletizmografi ölçümü için kronik sürekli hipoksi modeli TVP ölçüm protokolü kullanıldı (Şekil 12). Protokol boyunca normoksik nöbet ve hipoksik ventilatuvar cevap oluşum sürelerinde %13 O₂ seviyesi kullanılırken bunların dışında kalan zaman boyunca %21 O₂ seviyesi

kullanıldı.

Şiddetli kronik sürekli hipoksi grubunda (şKSH) 18 sıçandan 6 tanesi şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu (şKSH_H) olarak, 6 tanesi şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO uygulaması yapılan grup (şKSH_DMSO) olarak ve 6 tanesi ise şiddetli kronik sürekli hipoksi adenozin 2A reseptör antagonisti olan MSX-3 uygulaması yapılan grup (şKSH_MSX-3) olmak üzere ayrıldı. Şiddetli kronik sürekli hipoksi grupları (şKSH) 7 gün boyunca normobarik oda içerisinde %10 O₂ seviyesine maruz bırakıldı. Şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubuna (şKSH_H) normobarik oda içerisinde kaldığı süre boyunca herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubuna (şKSH_DMSO) ve şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubuna (şKSH_MSX-3) gruba her gün ‘İlaç Dozları’ kısmında belirtilen şekilde ilaç enjeksiyonları yapıldı. Kronik sürekli hipoksi (KSH) grupları tüm vücut pletizmografi ölçümü için kronik sürekli hipoksi modeli TVP ölçüm protokolü kullanıldı (Şekil 12). Protokol boyunca normoksik nöbet ve hipoksik ventilatuvar cevap oluşum sürelerinde %10 O₂ seviyesi kullanılırken bunların dışında kalan zaman boyunca %21 O₂ seviyesi kullanıldı. Oluşturulan tüm gruplar tablo halinde verilmiştir (Tablo1,2,3,4).

Tablo 1. Şiddetli Sham alt grupları.

Durum	şSham_KON	şSham_DMSO	şSham_MSX-3	
GRUPLAR	şSham_KON	şSham_DMSO	şSham_MSX-3	
Tedavi	tedavi yok	DMSO	MSX-3	
O ₂ yüzdesi	21%	21%	21%	
tedavi günleri	Yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
TVP ölçümü	7. gün sonu	7. gün sonu	7. gün sonu	
NGrup_Toplam	6	6	6	18

Tablo 2. Orta şiddetli Sham alt grupları

Durum	oşSham_KON	oşSham_DMSO	oşSham_MSX-3	
GRUPLAR	oşSham_KON	oşSham_DMSO	oşSham_MSX-3	
Tedavi	Tedavi yok	DMSO	MSX-3	
O ₂ yüzdesi	21%	21%	21%	
Tedavi günleri	Yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
TVP ölçümü	7. gün sonu	7. gün sonu	7. gün sonu	
NGrup_Toplam	6	6	6	18

Tablo 3. Orta şiddetli kronik sürekli hipoksi alt grupları

Durum	oşKSH_KON	oşKSH_DMSO	oşKSH_MSX-3	
GRUPLAR	oşKSH_KON	oşKSH_DMSO	oşKSH_MSX-3	
tedavi	tedavi yok	DMSO	MSX-3	
O ₂ yüzdesi	13%	13%	13%	
tedavi günleri	Yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
TVP ölçümü	7. gün sonu	7. gün sonu	7. gün sonu	
NGrup_Toplam	6	6	6	18

Tablo 4. Şiddetli kronik sürekli hipoksi alt grupları

Durum	şKSH_KON	şKSH_DMSO	şKSH_MSX-3	
GRUPLAR	şKSH_KON	şKSH_DMSO	şKSH_MSX-3	
tedavi	tedavi yok	DMSO	MSX-3	
O ₂ yüzdesi	10%	10%	10%	
tedavi günleri	Yok	7 gün boyunca	7 gün boyunca	
TVP ölçümü	7. gün sonu	7. gün sonu	7. gün sonu	
NGrup_Toplam	6	6	6	18

3.2.1. İlaç Dozları:

Oluşturulan deney gruplarında belirtilen günlerde yapılan **enjeksiyon dozları** aşağıda açıklanmıştır.

1. **A₂AR antagonisti:** Ester disodium tuzu; **MSX-3** (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). 50µM DMSO içerisinde çözülmüş intraperitoneal (i.p.) 1 µg .kg-1 dozu belirtilen günlerde enjeksiyon yapıldı.
2. **Dimetil Sülfoksit:** %40'lık DMSO çözeltisi intraperitoneal (i.p.) 1 µg .kg-1 dozu belirtilen günlerde enjeksiyon yapıldı.

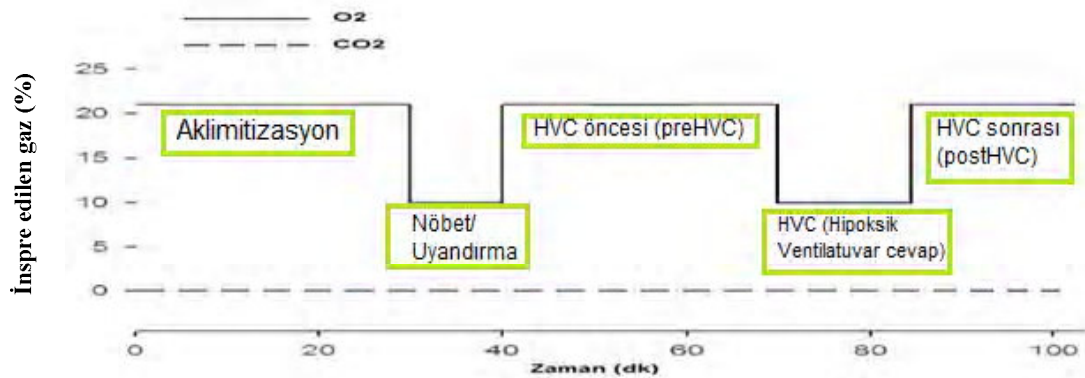
3.3. Ventilasyon ve Ventilasyon Parametreleri Ölçüm Protokolleri

Sıçanların chamberda tutulduğu süre boyunca pletismografi cihazı (Biosystems XA software; Buxco Electronics, Wilmington, NC) ile Ventilasyon (Vt,Vi,fr), pletismografi odalarının içerisinde sıcaklığının ölçümü, solunan havadaki nem miktarı, ortam sıcaklığı ve basınç ölçümü yapıldı. Pletizmografi odalarına giden basınçlı havanın 3L/dk'lık akım göstermesi sağlanarak inspire edilen havanın gaz kompozisyonunun kontrol edilmesi, O₂ ve CO₂ miktarlarının değiştirilmesi için akış kontrolörü (Sable Systems MFC-4) kullanıldı. Fizyolojik ölçümlere başlarken öncelikle sıçanlara 30 dk

aklimatizasyon uygulandı. Bu sayede solunum parametreleri sürekli olarak ölçülürken sıçanların uyanık ve sakin olması sağlandı. Sıçanların uyanık ve sakin olduğu zamanlar analiz için kullanıldı.

3.3.1. Sham Modeli TVP Ölçümü

Sham modeli uygulanan, solunum parametreleri ölçülen sıçanların, ölçüm yapılacağı gün plestismografi odası içerisinde ilk **30 dk** boyunca %21 O₂ seviyesinde aklimatize olmalarına izin verildi. Aklimatizasyon işleminden sonra **10 dk** boyunca hipoksik koşullardaki orta şiddetli veya şiddetli hipoksiyi model alan (FIO₂= 0.13 / 0.10 ve FICO₂= 0.03 (N₂ ile balans) gaz fraksiyonlarına maruz bırakılarak uyandırma (hipoksik nöbet) işlemi yapıldı. Uyandırma işleminden sonra **30 dk** boyunca normoksik koşullardaki (FIO₂= 0.21 ve FICO₂= 0.003 (N₂ ile balans)) gaz fraksiyonunda, reoksijenizasyon tekrar sağlanarak, bazal ventilasyon ölçümü yapıldı. (Şekil 11) Normoksik koşullardaki bazal ventilasyon ölçümünden sonra HVC' nin etkisini görmek için **15 dk** boyunca (FIO₂= 0.13 / 0.10 ve FICO₂= 0.03 (N₂ ile balans) hipoksiye maruz bırakılarak ventilasyon ölçümü yapıldı. Daha sonra tekrar reoksijenizasyon sağlanarak **15 dk** boyunca normoksik gaz fraksiyonlarında ventilasyon ölçümü yapılarak **toplamda 100. dakikada** ölçüm sonlandırıldı (Wilkinson ve ark., 2010; Wilkinson ve ark., 2011).

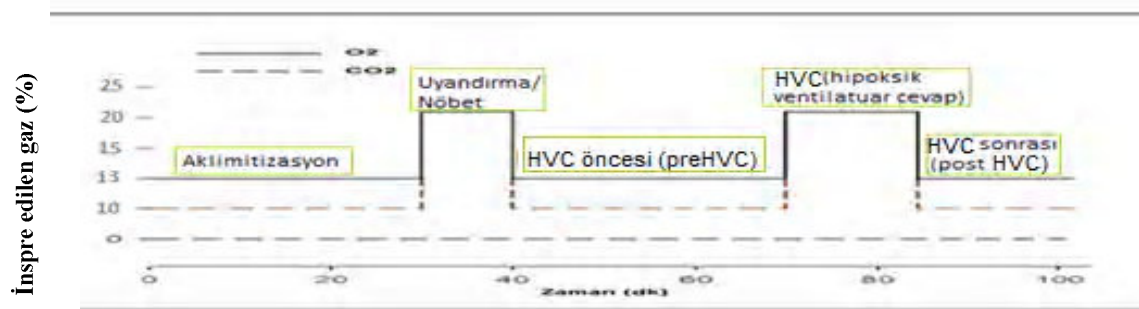


Şekil 11. Sham modeli için zamana bağlı TVP ölçüm protokolü.

Denekler tüm vücut pletizmografi (TVP) odası içerisinde ilk 30 dk aklimatize edilecektir. Protokolde belirtilen siyah düz çizgiler inspire edilecek O_2 değişimini, siyah kesikli çizgiler ise CO_2 değişimini göstermektedir.

3.3.2. Kronik Sürekli Hipoksi Modeli TVP Ölçümü

Kronik sürekli hipoksi modelleri uygulanan, solunum parametreleri ölçülecek sıçanlar, ölçüm yapılacağı gün pletizmografi odası içerisinde ilk **30 dk** boyunca %13 / %10 O_2 seviyesinde aklimatize olmalarına izin verilecektir. Aklimatizasyon işleminden sonra **10 dk** boyunca normoksi koşullardaki ($FIO_2= 0.21$ ve $FICO_2= 0.03$ (N_2 ile balans)) gaz fraksiyonlarına maruz bırakılarak uyandırma (normoksik nöbet) işlemi yapılacaktır. Uyandırma işleminden sonra **30 dk** boyunca hipoksik koşullardaki ($FIO_2= 0.13 / 0.10$ ve $FICO_2= 0.03$ (N_2 ile balans) gaz fraksiyonunda, hipoksik bazal ventilasyon ölçümü yapılacaktır. (Şekil 12) Hipoksik koşullardaki bazal ventilasyon ölçümünden sonra HVC oluşumunu görmek için reoksijenizasyon tekrar sağlanarak **15 dk** boyunca ($FIO_2= 0.21$ ve $FICO_2= 0.03$ (N_2 ile balans) normoksik koşullarda ventilasyon ölçümü yapılacaktır. Daha sonra tekrar hipoksik koşullar ($FIO_2= 0.10 / 0.13$ ve $FICO_2= 0.03$ (N_2 ile balans) sağlanarak **15 dk** boyunca hipoksik gaz fraksiyonlarında ventilasyon ölçümü yapılarak **toplamda 100. dakikada** ölçüm sonlandırılacaktır (Wilkinson ve ark., 2010; Wilkinson ve ark., 2011).



Şekil 12. Kronik sürekli hipoksi modeli için zamana bağlı TVP ölçüm protokolü.

Denekler TVP odası içerisinde ilk 30 dk aklimatize edilecektir. Protokolde belirtilen siyah düz çizgiler inspire edilecek %13' lük hipoksi için O_2 değişimini, kesikli kırmızı çizgiler ise %10 ' luk hipoksi için O_2 değişimini, siyah kesikli çizgiler ise CO_2 değişimini göstermektedir.

3.4.Doku Perfüzyonu, Dokuların Çıkarılması ve Doku kesitlerinin alınması

Sıçanların tüm vücut pletizmografi ölçümleri yapıldıktan hemen sonra sıçanlara sakrifiye öncesinde intraperitoneal (ip) heparin 0.4ml (1000 ünite/ml) uygulanarak birkaç dakika beklenildi. İzofloran ile inhalasyon anestezisi uygulandı. Sakrifikasyon işlemi yapıldıktan sonra sıçanlara sol ventrikül /aortik kateterizasyon işlemi yapıldı. Kateterizasyon işleminden sonra 200ml serum fizyolojik ile vücutdaki tüm kan uzaklaştırıldı ve hemen sonrasında %4' lük paraformaldehit (Paraformaldehit Granular, MERK) ile perfüze edildi. Daha sonra spinal kord ve beyin sapı çıkartılarak immunofloresan boyama için işleme alındı. Çıkarılan dokular +4⁰C' de bir gün veya iki gün %4' lük paraformaldehit tamponu içerisinde tutuldu. Daha sonra %30'luk sükröz çözeltisi içerisine transfer edilerek batana kadar +4⁰C' de 2 gün muhafaza edildi. Dokular battıktan sonra izomatrikse gömüldü. Daha sonrasında dokular nitrojen dolu kaba sarkıtılarak donduruldu. Dondurulan dokular -80 ⁰C' de saklandı ve sonra donduruculu karyostat (CM 1860 UV, LEICA) kullanılarak -20 ⁰C' de 30 µm kalınlığında transvers kesitler alındı. Dokular seriler halinde toplandı. Toplanan dokular daha sonra immunofloresan boyama yöntemi çalışılmak üzere antifriz solüsyonuna (%50 PBS, %30 etilen glisöl, %20 gliserol) konuldu. Antifriz çözeltisine konulan dokular -20 ⁰C derecede saklandı (Wilkinson ve ark., 2010, Wilkinson ve ark., 2011; Nichols ve ark., 2012; Satriotomo ve ark., 2009; Satriotomo ve ark., 2012).

3.5.Floresan Boyama ve Floresan Görüntüleme

Her gruptan sadece MSX-3 enjeksiyonu yapılan sıçanlardan seriler (A, B, C, D, E) halinde alınan beyin sapı dokusu kesitleri için birer seri (her boyama için bir seri olacak şekilde) seçilip kullanıldı. Seçilen seriler 4 kez 5'er dakika 35-40 rpm'de çalkalanarak PBS solüsyonu ile yıkandı. Doku kesitleri PBS içinde çözünmüş %0.5 Triton X-100 içerisinde 2 saat bekletildi. Permeabilizasyondan sonra doku kesitleri PBS ile 4 kez 5'er dakika yıkandı. Kesitler blok tamponu (PBS içinde %5 serum) kullanılarak 2 saat boyunca 40 rpm'de çalkalanarak bloklandı. Bloklanan dokular 4 kez 5 dakika PBS solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra slaytlara primer antikör adenzin reseptör A_{2A} (Millipore, 1:400, Burlington, Massachusetts) kullanılarak 1gece +4 ⁰C' de inkübe edildi. Primer antikorda inkübe edilen slaytlar PBS ile 4 kez 5'er dakika 40 rpm'de çalkalanarak yıkandı. Daha sonra örnekler ışıktan zarar görmemesi için

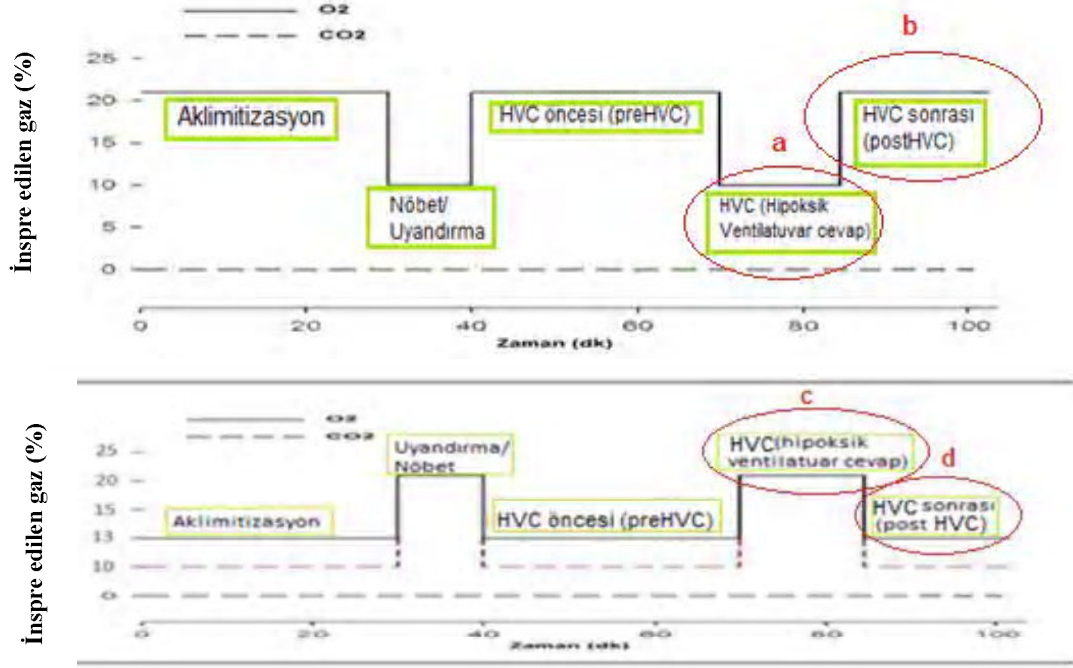
alüminyum ile kaplandı. Floresan işaretli sekonder antikorla Alexa Flour 532 (ThermoFisher, 1:400, Waltham, Massachusetts) 2 saat 40 rpm'de çalkanarak inkübe edildi. İnkübe edilen slaytlar 4 kez 5'er dakika 40 rpm'de çalkanarak PBS solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra slaytlara alınan dokuların etrafı pap pen kalem ile çizilerek 5 dakika 4'6-diamidino-2-fenildol (DAPI) ile inkübe edildi. DAPI işleminden sonra 2 kez 5 dakika PBS solüsyonu ile yıkanılan dokular flouromount ile kapatıldı. Kapatılan dokular kuruması için 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra karanlık ortamda -20 °C'de saklandı.

3.6.İstatistiksel Analiz

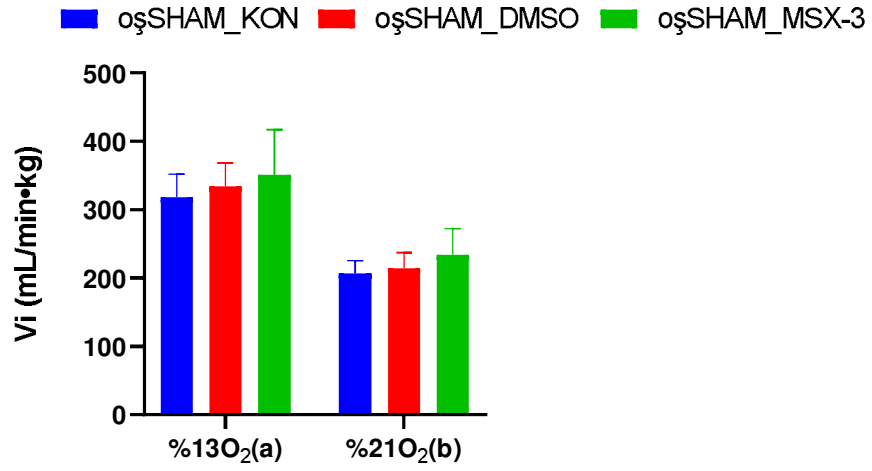
Verilerin analizi GraphPad Prism (Versiyon 8.0.2) programı ile gerçekleştirildi. Ventilasyon (V_I) ve ventilasyon bileşenleri (f_R, V_T) değişkenlerinin gruplar arası karşılaştırmaları için TWO-WAY ANOVA analiz ve Dunn-Bonferroni testi, zamana göre olan karşılaştırmalarda ve hipoksi şiddeti karşılaştırmalarında TWO-WAY ANOVA ve Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. İmmünofloresan boyama sonuçlarında ONE WAY ANOVA ve Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

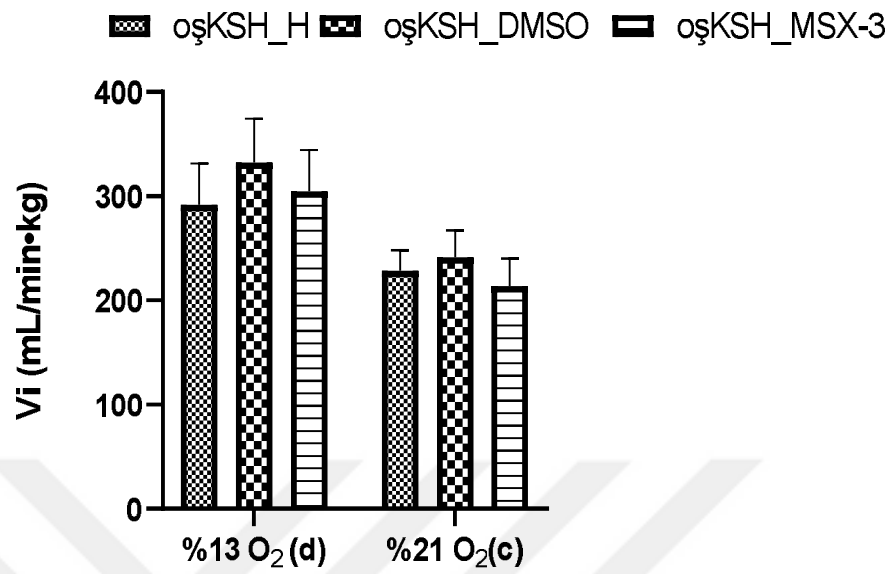
4.1. Orta şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamalarının ventilasyon parametreleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi



A

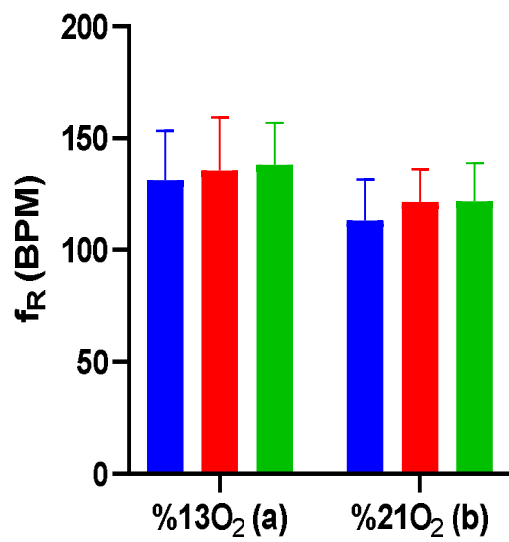


B

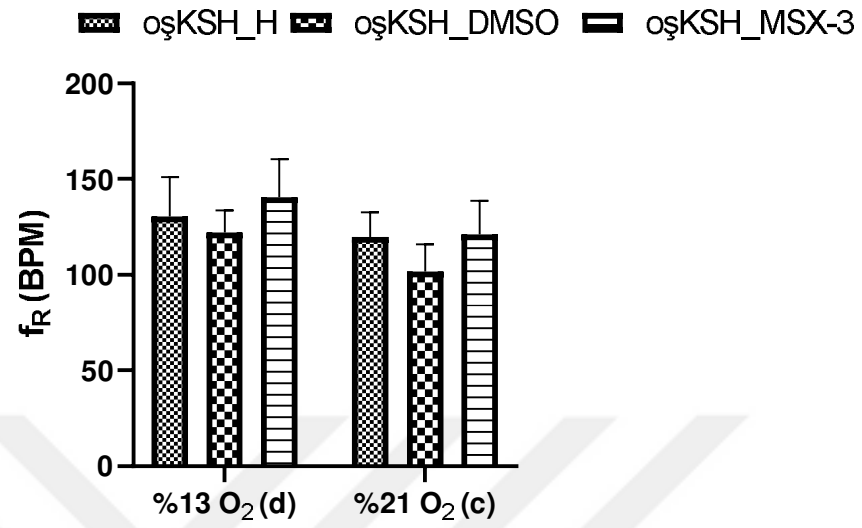


C

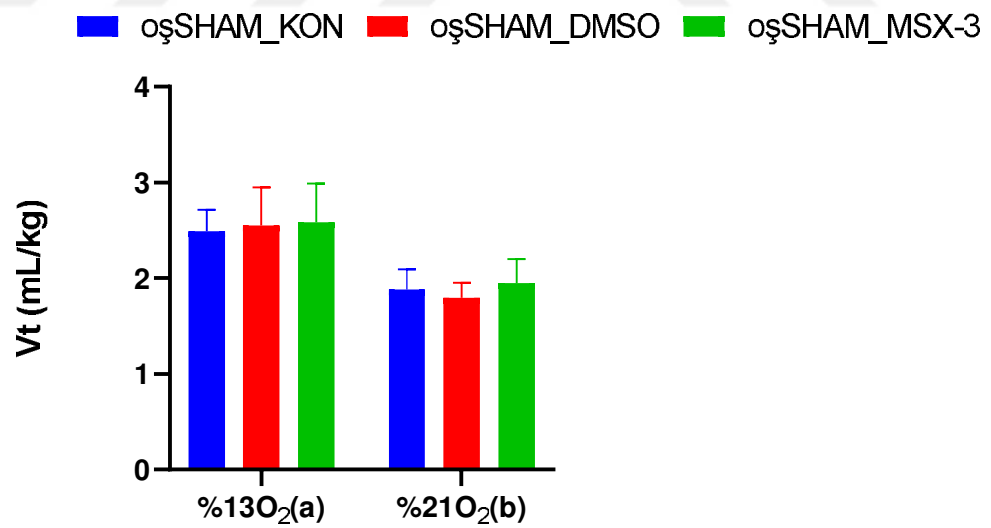
oşSHAM_KON (blue) oşSHAM_DMSO (red) oşSHAM_MSX-3 (green)



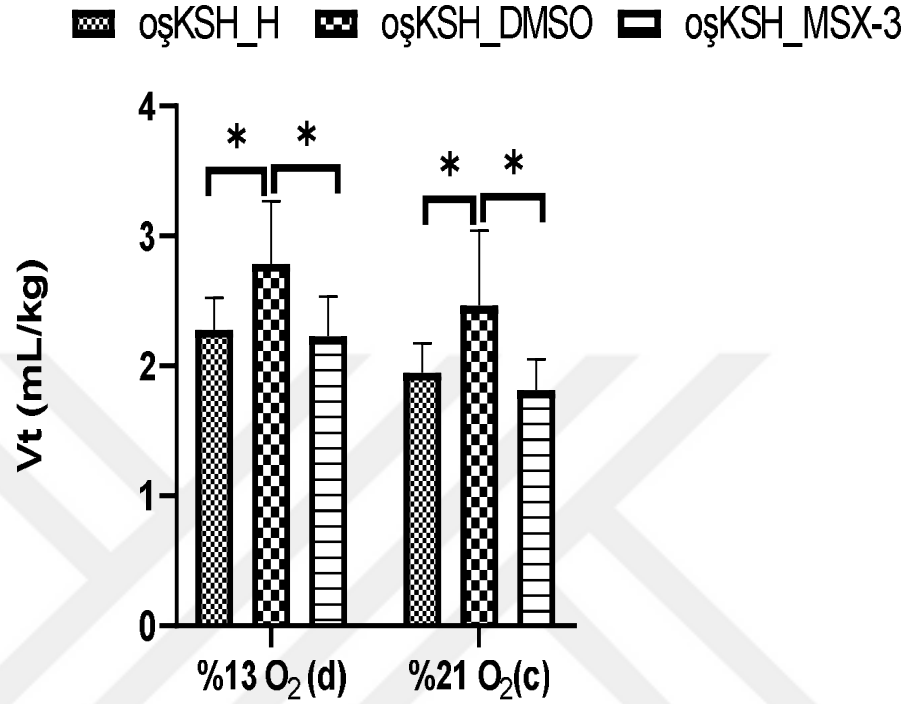
D



E



F



Şekil 13. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafikleri

Sham grupları için kullanılan tüm vücut pletizmografisi (TVP) ölçüm protokolünde hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ölçüm kısmı (a) ile ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm kısmı (b) ile gösterildi. Kronik Sürekli Hipoksi grupları için kullanılan TVP ölçüm protokolünde hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ölçüm kısmı (c) ile ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm kısmı (d) ile gösterildi. Şekil 11 ve Şekil 12’de TVP ölçüm protokolleri detaylı şekilde anlatıldı. Grafiklerde anlamlılık (*) işareti ile gösterildi. oşSham_KON: Orta şiddetli Sham kontrol grubu, oşSham_DMSO: orta şiddetli Sham DMSO grubu, oşSham_MSX-3: orta şiddetli Sham MSX-3 uygulaması yapılan grup. oşKSH_H: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu. oşKSH_DMSO: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubu, oşKSH_MSX-3: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubu. Orta şiddetli kronik

sürekli hipoksi grubunda tidal volümde hem HVC'de hem postHVC'de istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p<0,005$).

Tablo 5. Orta Şiddetli Sham grubu ventilasyon bulguları tablosu

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P değeri
<i>13% (HVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	318,2±33,76	333,9±39,66	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	318,2±33,76	351,3±65,47	0,1765
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	333,9±39,66	351,3±65,47	0,9495
<i>21% (postHVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	206,8±19,05	214,1±22,55	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	206,8±19,05	234,3±37,98	0,3434
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	214,1±22,55	234,3±37,98	0,7371

Tablo 6. Orta Şiddetli KSH grubu ventilasyon bulguları tablosu

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P değeri
<i>13% (postHVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	291,9±39,31	332±42,08	0,0595
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	291,9±39,31	305±39,28	>0,9999
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	332±42,08	305±39,28	0,2594
<i>21% (HVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	228,5±19,64	241,3±25,82	>0,9999
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	228,5±19,64	213,7±26,55	>0,9999
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	241,3±25,82	213,7±26,55	0,2412

Tablo 7. Orta Şiddetli Sham grubu frekans bulguları tablosu

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>13% (HVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	131,2±22,0	135,5±27,31	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	131,2±22,0	138±18,84	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	135,5±27,31	138±18,84	>0,9999
<i>21% (postHVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	113,2±18,48	121,4±14,47	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	113,2±18,48	121,9±16,87	0,9175
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	121,4±14,47	121,9±16,87	>0,9999

Tablo 8. Orta Şiddetli KSH grubu frekans bulguları tablosu

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>13% (postHVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	130,3±20,80	121,9±11,64	0,9787
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	130,3±20,80	140,4±19,82	0,6108
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	121,9±11,64	140,4±19,82	0,0678
<i>21% (HVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	119,5±13,12	101,6±14,19	0,1184
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	119,5±13,12	120,9±17,79	>0,9999
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	101,6±14,19	120,9±17,79	0,0529

Tablo 9. Orta Şiddetli Sham grubu tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>13% (HVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	2,493±0,22	2,554±0,45	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	2,493±0,22	2,589±0,40	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	2,554±0,45	2,589±0,40	>0,9999
<i>21% (postHVC)</i>			
oşSham_KON vs. oşSham_DMSO	1,88±0,21	1,797±0,18	>0,9999
oşSham_KON vs. oşSham_MSX-3	1,88±0,21	1,949±0,25	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşSham_MSX-3	1,797±0,18	1,949±0,25	0,7175

Tablo 10. Orta Şiddetli KSH grubu tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>13% (postHVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	2,279±0,24	2,786±0,47	0,0209
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	2,279±0,24	2,225±0,30	>0,9999
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	2,786±0,47	2,225±0,30	0,0047
<i>21% (HVC)</i>			
oşKSH_H vs. oşKSH_DMSO	1,944±0,23	2,463±0,57	0,0177
oşKSH_H vs. oşKSH_MSX-3	1,944±0,23	1,81±0,23	>0,9999
oşKSH_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	2,463±0,57	1,81±0,23	0,0009

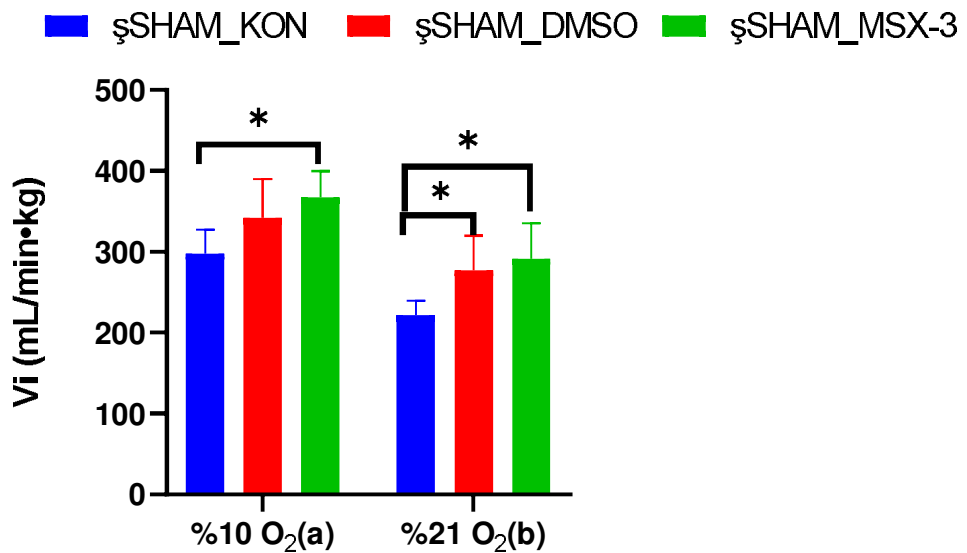
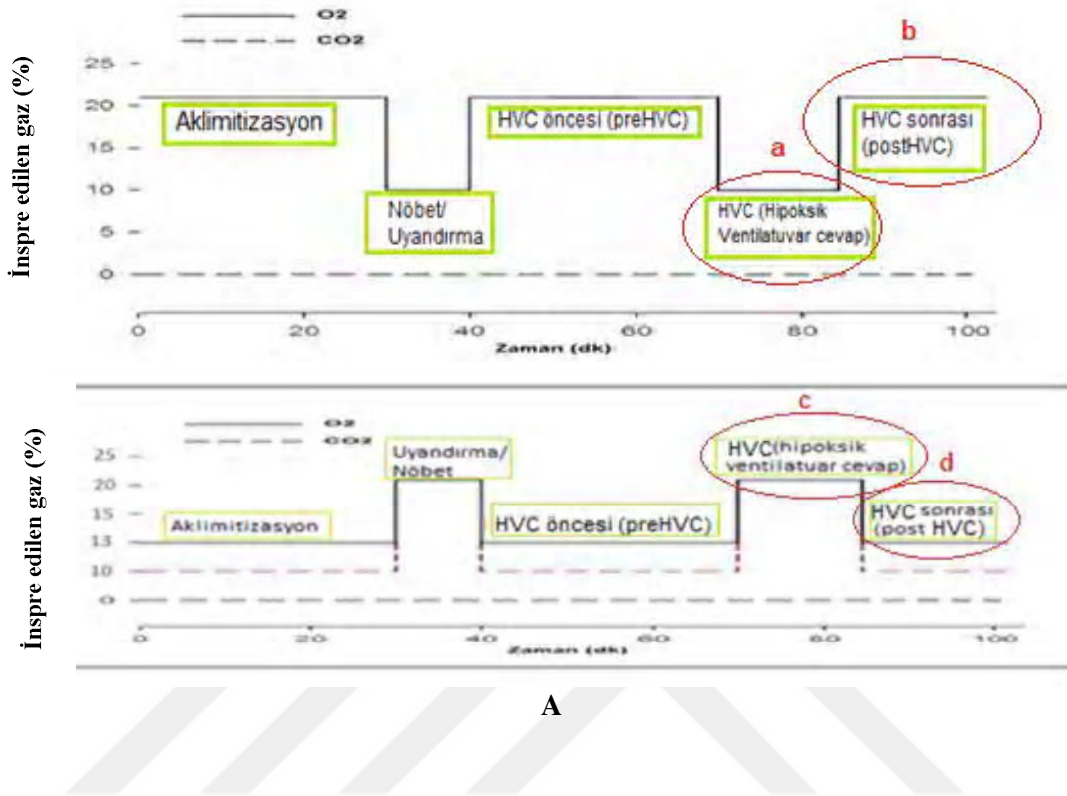
Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafiklerinde (Şekil 13) istatistiksel analiz için kullanılan veriler tablolar halinde gösterildi (Tablo 5,6,7,8,9,10). Kırmızı renkte görülen değerler istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,005$) bulundu.

Adenozin 2A reseptör aktivasyonunun VAH üzerindeki etkisini belirlemek için normoksi ve kronik sürekli hipoksiye farklı şiddetlerde maruz bırakılan sıçanlarda

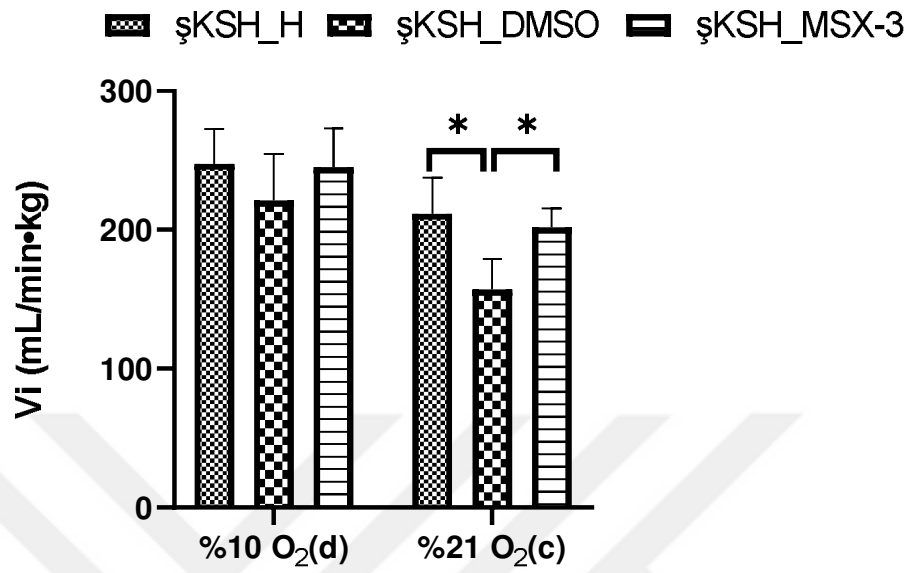
sürekli olarak uygulanan adenozin 2A reseptör antagonisti olan MSX-3 uygulamasının etkisini inceledik. Tidal volüm, Sham gruplarında akut HVC ve ventilasyonun hipoksiye aklimitezasyonu (VAH) için akut hipoksi (%10-13) ve kronik sürekli hipoksi ile artmıştır (Şekil 13F). %13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu sıçanlar ile oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0,0209) bir artış bulundu (Şekil 13F). %13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubunda DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0,0047) bir azalma bulundu (Şekil 13F). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu sıçanlar ile oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p<0.0177) bir artış bulundu (Şekil 13F). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0,0009) bir azalma bulundu (Şekil 13F). Posthvc analizinde tidal volüm, kronik hipoksi maruziyeti ve MSX-3 uygulaması ile birlikte anlamlı şekilde azaldı (Şekil 13F).

%13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekans, ventilasyon ve tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 13 ACE). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ve oşSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlarda normoksik koşullarda frekans, ventilasyon ve tidal volüm değerlerinde orta şiddetli sham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 13 ACE). %13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu sıçanlarda hipoksik koşullarda frekans ve ventilasyonda oşKSH grubu DMSO ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 13 BD). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH kontrol grubu sıçanlarda ve oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlarda normoksik koşullarda frekans ve ventilasyon değerlerinde oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 13 BD).

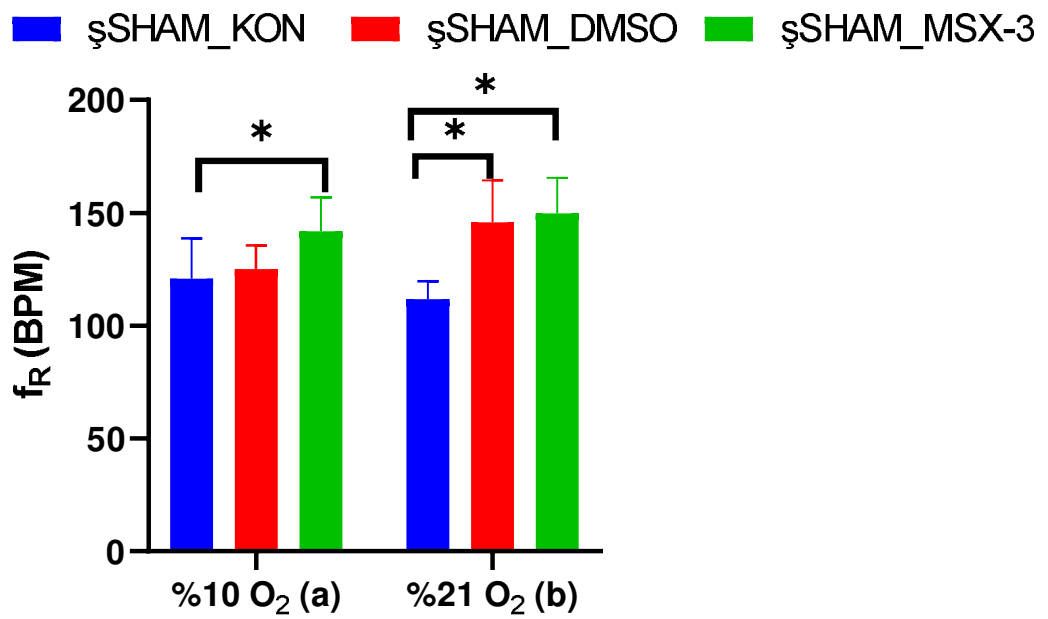
4.2. Şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamalarının ventilasyon parametreleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi



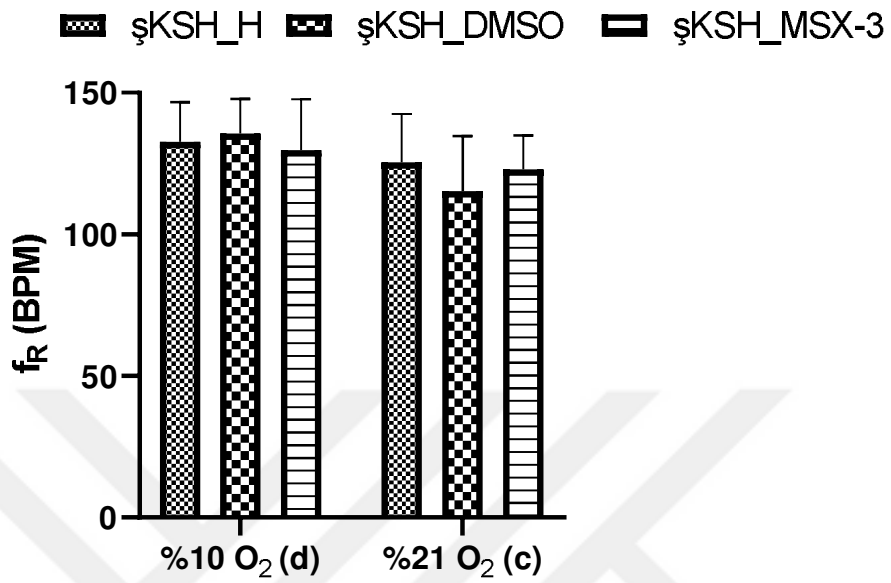
B



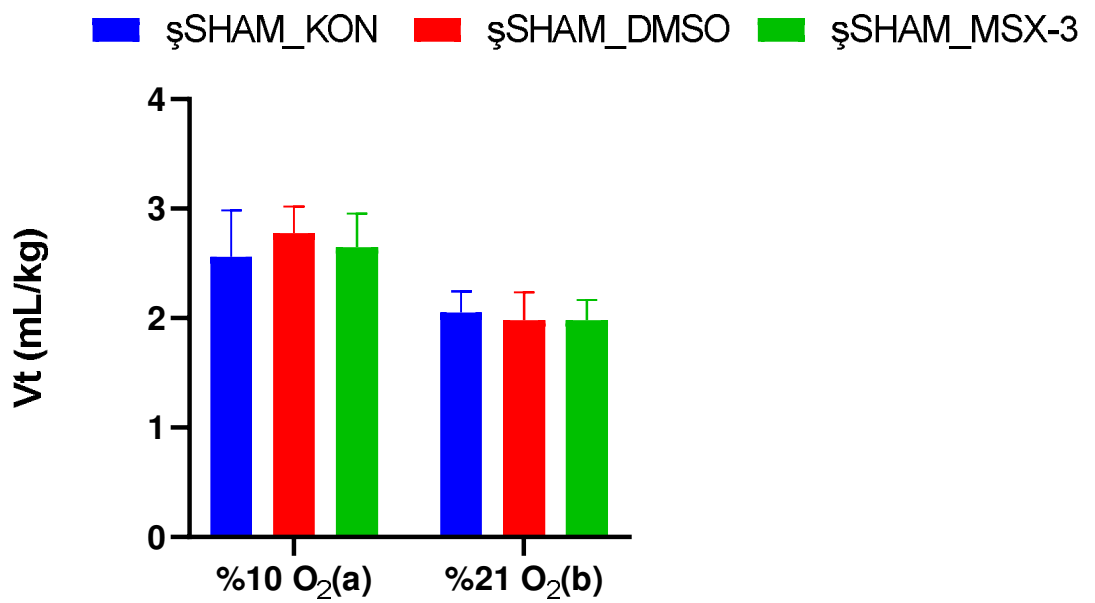
C



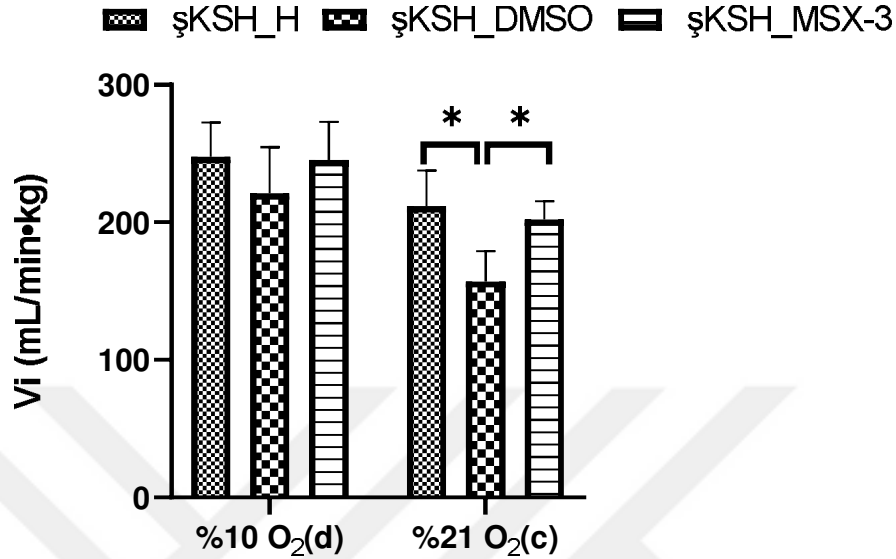
D



E



F



Şekil 14. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafikleri

Sham grupları için kullanılan tüm vücut pletizmografisi (TVP) ölçüm protokolünde hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ölçüm kısmı (a) ile ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm kısmı (b) ile gösterildi. Kronik Sürekli Hipoksi grupları için kullanılan TVP ölçüm protokolünde hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ölçüm kısmı (c) ile ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm kısmı (d) ile gösterildi. Şekil 11 ve Şekil 12’de TVP ölçüm protokolleri detaylı şekilde anlatıldı. Grafiklerde anlamlılık (*) işareti ile gösterildi. şSham_KON: Şiddetli Sham kontrol grubu, şSham_DMSO: şiddetli Sham DMSO grubu, şSham_MSX-3: şiddetli Sham MSX-3 uygulaması yapılan grup. şKSH_H: şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu. şKSH_DMSO: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubu, şKSH_MSX-3: şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubu. Şiddetli Sham grubunda ventilasyonda ve frekansta hem HVC’de hem postHVC’de istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p < 0,005$). Şiddetli kronik sürekli hipoksi grubunda ventilasyonda HVC’de istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu ($p < 0,005$).

Tablo 11. Şiddetli Sham grubu ventilasyon bulguları tablosu

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P değeri
<i>10% (HVC)</i>			
şSham_KON vs. şSham_DMSO	297,9±29,23	341,9±54,41	0,1483
şSham_KON vs. şSham_MSX-3	297,9±29,23	367,1±29,30	0,0065
şSham_DMSO vs. şSham_MSX-3	341,9±54,41	367,1±29,30	0,7020
<i>21% (postHVC)</i>			
şSham_KON vs. şSham_DMSO	221,7±17,51	341,9±57,92	0,0449
şSham_KON vs. şSham_MSX-3	221,7±17,51	367,1±17,61	0,0062
şSham_DMSO vs. şSham_MSX-3	277,1±57,92	367,1±17,61	>0,9999

Tablo 12. Şiddetli KSH grubu ventilasyon bulguları tablosu

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P değeri
<i>10% (postHVC)</i>			
şKSH_H vs. şKSH_DMSO	247,7±24,91	221±33,72	0,2242
şKSH_H vs. şKSH_MSX-3	247,7±24,91	245,1±27,67	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	221±33,72	245,1±27,67	0,2922
<i>21% (HVC)</i>			
şKSH_H vs. şKSH_DMSO	211,6±26,00	157,1±27,89	0,002
şKSH_H vs. şKSH_MSX-3	211,6±26,00	201,8±13,57	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	157,1±27,89	201,8±13,57	0,01

Tablo 13. Şiddetli Sham grubu frekans bulguları tablosu

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>10% (HVC)</i>			
şSham_KON vs. şSham_DMSO	120,8±17,96	125,0±16,19	>0,9999
şSham_KON vs. şSham_MSX-3	120,8±17,96	141,9±11,51	0,0480
şSham_DMSO vs. şSham_MSX-3	125,0±16,19	141,9±11,51	0,1491
<i>21% (postHVC)</i>			
şSham_KON vs. şSham_DMSO	111,7±0,08	145,8±1,52	0,0011
şSham_KON vs. şSham_MSX-3	111,7±0,08	149,9±13,37	0,0002
şSham_DMSO vs. şSham_MSX-3	145,8±1,52	191,9±13,37	>0,9999

Tablo 14. Şiddetli KSH grubu frekans bulguları tablosu

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>10% (postHVC)</i>			
şKSH_H vs. şKSH_DMSO	132,7±19,92	135,6±12,15	>0,9999
şKSH_H vs. şKSH_MSX-3	132,7±13,92	129,8±17,96	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	135,6±12,15	129,8±17,96	>0,9999
<i>21% (HVC)</i>			
şKSH_H vs. şKSH_DMSO	125,3±17,18	115,2±19,51	0,8357
şKSH_H vs. şKSH_MSX-3	125,3±17,18	122,9±12,01	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	115,2±19,51	122,9±12,01	>0,9999

Tablo 15. Şiddetli Sham grubu tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>10% (HVC)</i>			
şSham KON vs. şSham DMSO	2,562±0,42	2,775±0,07	0,5786
şSham KON vs. şSham MSX-3	2,562±0,42	2,649±0,05	>0,9999
şSham DMSO vs. şSham MSX-3	2,775±0,07	2,649±0,05	>0,9999
<i>21% (postHVC)</i>			
şSham KON vs. şSham DMSO	2,048±0,19	1,982±0,36	>0,9999
şSham KON vs. şSham MSX-3	2,048±0,19	1,981±0,07	>0,9999
şSham DMSO vs. şSham MSX-3	1,982±0,36	1,981±0,07	>0,9999

Tablo 16. Şiddetli KSH grubu tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>10% (postHVC)</i>			
şKSH_KON vs. şKSH_DMSO	1,899±0,22	1,668±0,31	0,4407
şKSH_KON vs. şKSH_MSX-3	1,899±0,22	1,954±0,36	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	1,668±0,31	1,954±0,36	0,2021
<i>21% (HVC)</i>			
şKSH_H vs. şKSH_DMSO	1,716±0,11	1,418±0,33	0,1911
şKSH_H vs. şKSH_MSX-3	1,716±0,11	1,668±0,18	>0,9999
şKSH_DMSO vs. şKSH_MSX-3	1,418±0,33	1,668±0,18	0,3246

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarında yapılan ilaç uygulamaları sütun grafiklerinde (Şekil 14) istatistiksel analiz için kullanılan veriler tablolar halinde gösterildi (Tablo 11, 12, 13, 14, 15, 16). Kırmızı renkte görülen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,005$).

%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulaması yapılan grup arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel

olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 14A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan grup arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0065) bir artış bulundu (Şekil 14A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 14C).

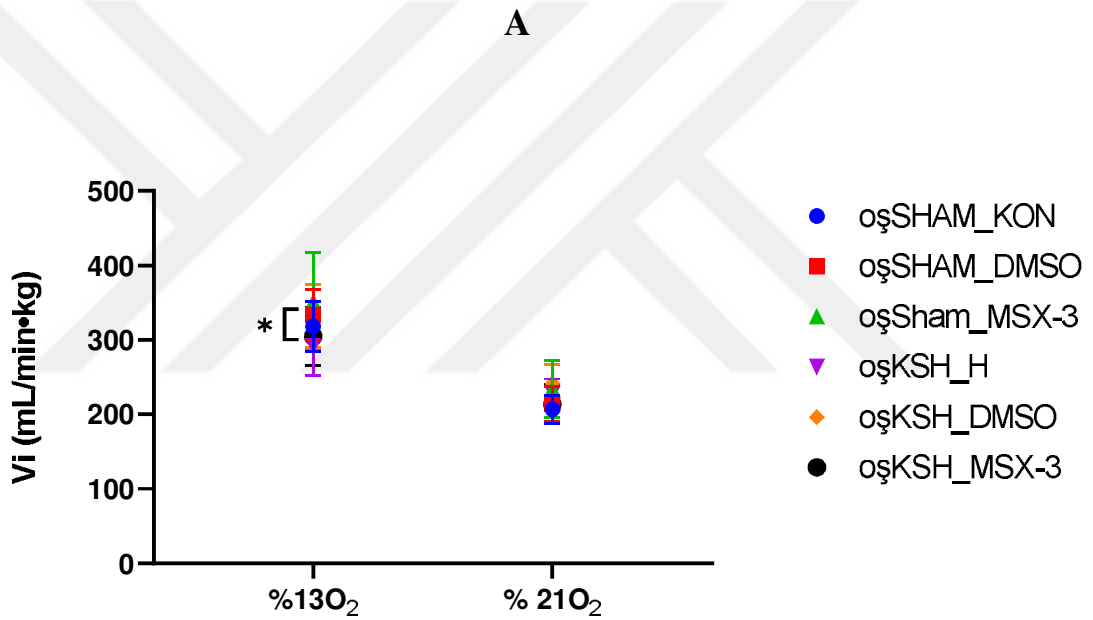
%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0480) bir artış bulundu (şekil 14C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı (p=0,0062) bir artış bulundu (Şekil 14A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı (p=0,0449) bir artış bulundu (Şekil 14A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0002) bir artış bulundu (Şekil 14C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0011) bir artış bulundu (Şekil 14C).

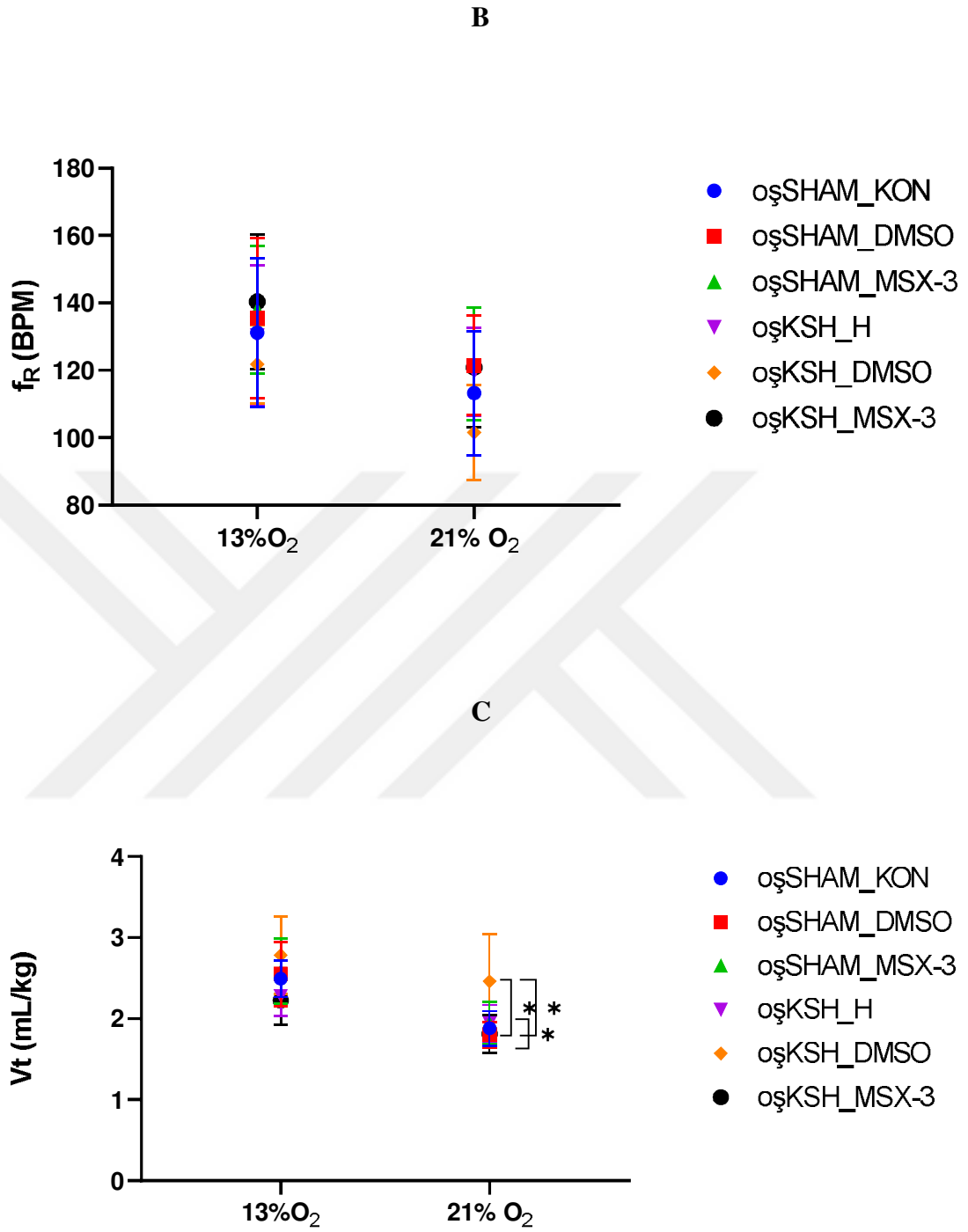
%21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0100) bir artış bulundu (Şekil 14B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şKSH hipoksi grubu sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0020) bir azalma vardı (Şekil 14B).

%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham (normoksi) kontrol grubu sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volüm değerinde şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 14E). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şKSH hipoksi grubu sıçanlarda hipoksik koşullarda frekans, ventilasyon ve tidal volümde şKSH grubu DSMO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması

yapılan sıçanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 14BDF). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlarda normoksik koşullarda şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 14E). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şKSH hipoksi grubu sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekans ve tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı. (Şekil 14DF).

4.3. Orta şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamasının hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametreleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi





Şekil 15. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH grupları arası zaman bağımlı hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları çizgi grafikleri.

Grafiklerde anlamlılık (*) işareti ile gösterildi. oşSham_KON: Orta şiddetli Sham kontrol grubu, oşSham_DMSO: orta şiddetli Sham DMSO grubu, oşSham_MSX-3: orta şiddetli Sham MSX-3 uygulaması yapılan grup. oşKSH_H: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu. oşKSH_DMSO: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubu, oşKSH_MSX-3: orta şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubu. Orta şiddetli Sham grubu ile orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu arasında ventilasyonda sadece %13 O₂ maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu (p<0,005). Orta şiddetli Sham grubu ile orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu arasında tidal volümde sadece %21 O₂ maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu (p<0,005).

Tablo 17. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının ventilasyon bulguları tablosu.

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P Değeri
<i>13% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	318,2±33,76	291,9±39,31	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	318,2±33,76	332±42,08	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	318,2±33,76	305±39,28	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	333,9±39,66	291,9±39,31	0,2605
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	333,9±39,66	332±42,08	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	333,9±39,66	305±39,28	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	351,3±65,47	291,9±39,31	0,0108
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	351,3±65,47	332±42,08	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	351,3±65,47	305±39,28	0,0562
<i>21% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	206,8±19,05	228,5±19,64	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	206,8±19,05	241,3±25,82	0,7361
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	206,8±19,05	213,7±26,55	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	214,1±22,55	228,5±19,64	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	214,1±22,55	241,3±25,82	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	214,1±22,55	213,7±26,55	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	234,3±37,98	228,5±19,64	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	234,3±37,98	241,3±25,82	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	234,3±37,98	213,7±26,55	>0,9999

Tablo 18. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının frekans bulguları tablosu.

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P Değeri
<i>13% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	131,2±22,0	130,3±20,80	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	131,2±22,0	121,9±11,64	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	131,2±22,0	140,4±19,82	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	135,5±27,31	130,3±20,80	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	135,5±27,31	121,9±11,64	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	135,5±27,31	140,4±19,82	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	138±18,84	130,3±20,80	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	138±18,84	121,9±11,64	0,8936
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	138±18,84	140,4±19,82	>0,9999
<i>21% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	113,2±18,48	119,5±13,12	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	113,2±18,48	101,6±14,19	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	113,2±18,48	120,9±17,79	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	121,4±14,47	119,5±13,12	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	121,4±14,47	101,6±14,19	0,3622
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	121,4±14,47	120,9±17,79	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	121,9±16,87	119,5±13,12	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	121,9±16,87	101,6±14,19	0,2754
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	121,9±16,87	120,9±17,79	>0,9999

Tablo 19. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH gruplarının tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P Değeri
<i>13% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	2,493±0,22	2,279±0,24	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	2,493±0,22	2,786±0,47	0,9037
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	2,493±0,22	2,225±0,30	0,9404
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	2,554±0,45	2,279±0,24	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	2,554±0,45	2,786±0,47	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	2,554±0,45	2,225±0,30	0,3425
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	2,589±0,40	2,279±0,24	0,6398
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	2,589±0,40	2,786±0,47	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	2,589±0,40	2,225±0,30	0,1514
<i>21% O₂</i>			
oşSham_KON vs. oşKSH_H	1,88±0,21	1,944±0,23	>0,9999
oşSham_KON vs. oşKSH_DMSO	1,88±0,21	2,463±0,57	0,004
oşSham_KON vs. oşKSH_MSX-3	1,88±0,21	1,81±0,23	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_H	1,797±0,18	1,944±0,23	>0,9999
oşSham_DMSO vs. oşKSH_DMSO	1,797±0,18	2,463±0,57	0,0006
oşSham_DMSO vs. oşKSH_MSX-3	1,797±0,18	1,81±0,23	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_H	1,949±0,25	1,944±0,23	>0,9999
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_DMSO	1,949±0,25	2,463±0,57	0,0146
oşSham_MSX-3 vs. oşKSH_MSX-3	1,949±0,25	1,81±0,23	>0,9999

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Orta Şiddetli Sham ve Orta Şiddetli KSH grupları arası hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları arasında yapılan istatistiksel analiz için kullanılan veriler (Şekil 15) tablolar halinde gösterildi (Tablo 17, 18, 19). Kırmızı renkte görülen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,005$).

%13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0108$) azalış bulundu (Şekil 15A). %13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar, oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve oşKSH MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar, oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15A).

%13 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar, oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve oşKSH MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15B). Bununla birlikte, %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar, oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15B).

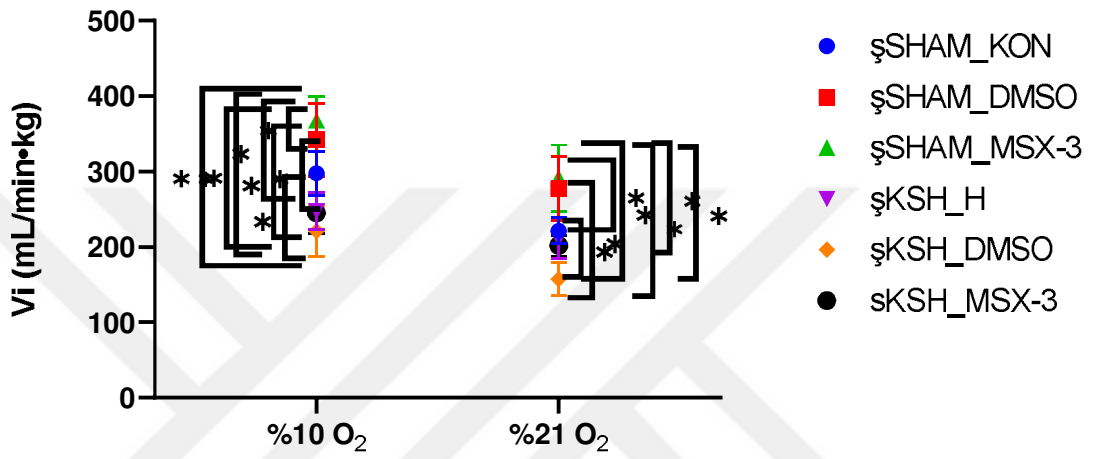
%21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu sıçanlar ile oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p= 0,0040$) artış bulundu (Şekil 15C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında tidal volümde normoksik koşullarda istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0006$) artış bulundu (Şekil 15C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0146$) artış bulundu (Şekil 15C). %21 O₂ seviyesine

maruz bırakılan oşSham kontrol grubu ile oşKSH hipoksi grubu ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında tidal volümde normoksik koşullarda istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 15C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile oşKSH hipoksi grubu sıçanlar ve oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında tidal volümde normoksik koşullarda istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 15C).

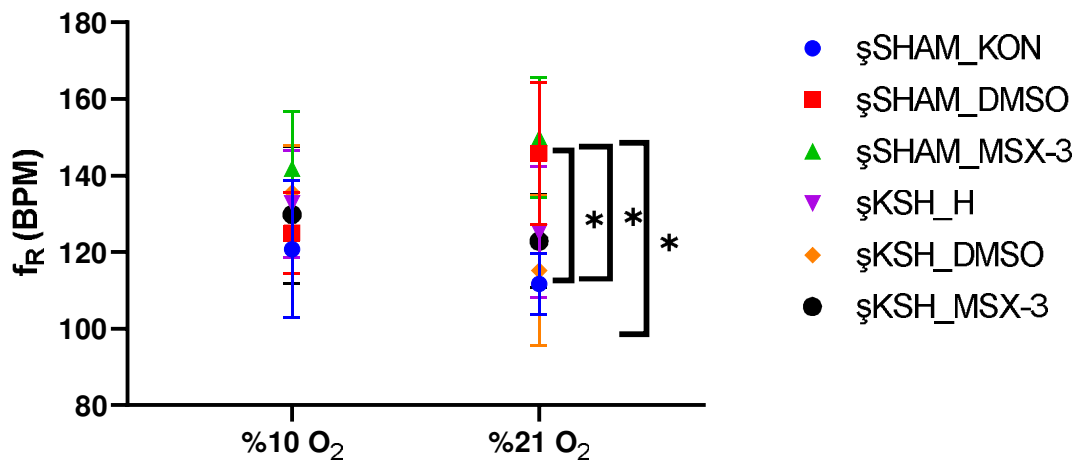


4.4. Şiddetli hipoksi gruplarında yapılan ilaç uygulamasının hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametreleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi

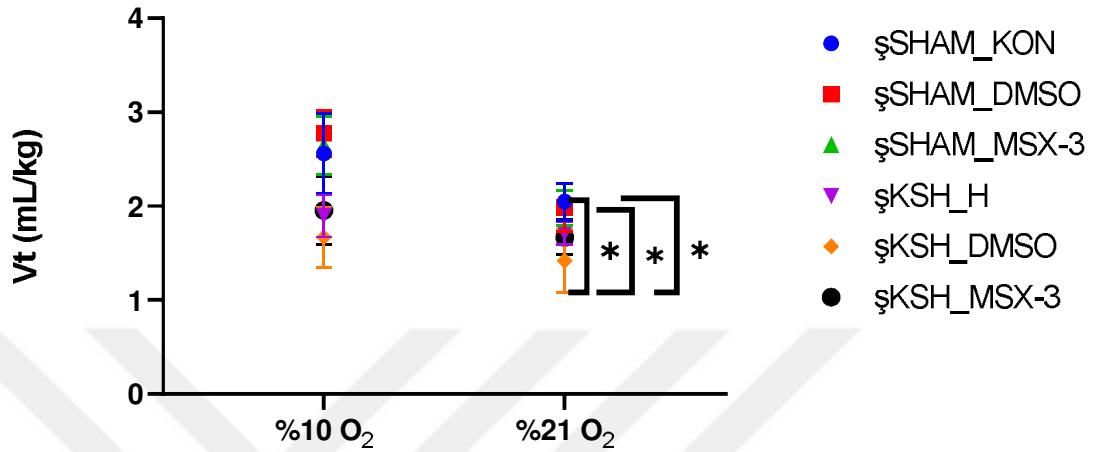
A



B



C



Şekil 16. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH grupları arası hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları çizgi grafikleri.

Grafiklerde anlamlılık (*) işareti ile gösterildi. şSham_KON: şiddetli Sham kontrol grubu, şSham_DMSO: şiddetli Sham DMSO grubu, şSham_MSX-3: şiddetli Sham MSX-3 uygulaması yapılan grup. şKSH_H: şiddetli kronik sürekli hipoksi hipoksi grubu. şKSH_DMSO: şiddetli kronik sürekli hipoksi DMSO grubu, şKSH_MSX-3: şiddetli kronik sürekli hipoksi MSX-3 grubu. Şiddetli Sham grubu ile şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu arasında ventilasyonda hem %13 hem %21 O₂ maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu ($p < 0,005$). Şiddetli Sham grubu ile şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu arasında frekansta sadece %21 O₂ maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu ($p < 0,005$). Şiddetli Sham grubu ile şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu arasında tidal volümde sadece %21 O₂ maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu ($p < 0,005$).

Tablo 20. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının ventilasyon bulguları tablosu

VENTİLASYON	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P Değeri
<i>10% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	297,9±29,23	247,7±24,91	0,0849
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	297,9±29,23	221±33,72	0,0022
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	297,9±29,23	245,1±27,67	0,0427
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	341,9±54,41	247,7±24,91	<0,0001
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	341,9±54,41	221±33,72	<0,0001
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	341,9±54,41	245,1±27,67	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	367,1±29,30	247,7±24,91	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	367,1±29,30	221±33,72	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	367,1±29,30	245,1±27,67	<0,0001
<i>21% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	221,7±17,51	211,6±26,00	>0,9999
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	221,7±17,51	157,1±27,89	0,0182
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	221,7±17,51	201,8±13,57	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	277,1±57,92	211,6±26,00	0,0058
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	277,1±57,92	157,1±27,89	<0,0001
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	277,1±57,92	201,8±13,57	0,0006
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	291,3±17,61	211,6±26,00	0,0002
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	291,3±17,61	157,1±27,89	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	291,3±17,61	201,8±13,57	<0,0001

Tablo 21. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının frekans bulguları tablosu

FREKANS	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P Değeri
<i>10% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	120,8±17,96	132,7±13,92	>0,9999
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	120,8±17,96	135,6±12,15	>0,9999
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	120,8±17,96	129,8±17,96	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	125±16,19	132,7±19,92	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	125±16,19	135,6±12,15	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	125±16,19	129,8±17,96	>0,9999
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	141,9±11,51	132,7±19,92	>0,9999
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	141,9±11,51	135,6±12,15	>0,9999
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	141,9±11,51	129,8±17,96	>0,9999
<i>21% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	111,7±8,04	125,3±17,18	>0,9999
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	111,7±8,04	115,2±19,51	>0,9999
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	111,7±8,04	122,9±12,01	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	145,8±1,52	125,3±17,18	0,2746
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	145,8±1,52	115,2±19,51	0,0224
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	145,8±1,52	122,9±12,01	0,1047
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	149,9±13,37	125,3±17,18	0,0553
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	149,9±13,37	115,2±19,51	0,0037
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	149,9±13,37	122,9±12,01	0,0164

Tablo 22. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH gruplarının tidal volüm bulguları tablosu

TİDAL VOLÜM	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P Değeri
<i>10% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	2,562±0,42	1,899±0,22	0,0006
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	2,562±0,42	1,668±0,31	<0,0001
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	2,562±0,42	1,954±0,36	0,0015
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	2,775±0,07	1,899±0,22	<0,0001
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	2,775±0,07	1,668±0,31	<0,0001
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	2,775±0,07	1,954±0,36	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	2,649±0,05	1,899±0,22	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	2,649±0,05	1,668±0,31	<0,0001
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	2,649±0,05	1,954±0,36	<0,0001
<i>21% O₂</i>			
şSHAM_KON vs. şKSH_H	2,048±0,19	1,716±0,11	0,4666
şSHAM_KON vs. şKSH_DMSO	2,048±0,19	1,418±0,33	0,0042
şSHAM_KON vs. şKSH_MSX-3	2,048±0,19	1,668±0,18	0,1732
şSHAM_DMSO vs. şKSH_H	1,982±0,36	1,716±0,11	>0,9999
şSHAM_DMSO vs. şKSH_DMSO	1,982±0,36	1,418±0,33	0,0157
şSHAM_DMSO vs. şKSH_MSX-3	1,982±0,36	1,668±0,18	0,5367
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_H	1,981±0,07	1,716±0,11	>0,9999
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_DMSO	1,981±0,07	1,418±0,33	0,0109
şSHAM_MSX-3 vs. şKSH_MSX-3	1,981±0,07	1,668±0,18	0,4323

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şiddetli Sham ve Şiddetli KSH grupları arası hipoksi şiddeti ve ilaç uygulamaları arasında yapılan istatistiksel analiz için kullanılan veriler (Şekil 16) tablolar halinde gösterildi (Tablo 20, 21, 22). Kırmızı renkte görülen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,005$).

%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,0001$) azalış bulundu (Şekil 16A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 16A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,0001$) azalış bulundu (Şekil 16A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3

uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) azalış bulundu (Şekil 16A). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.0022$) azalış bulundu. %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.0427$) azalış bulundu.

%21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.0182$) azalış bulundu (Şekil 16A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16 A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0058$) azalış bulundu (Şekil 16A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) azalış bulundu (Şekil 16A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.0006$) azalış bulundu (Şekil 16A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.0002$) azalış bulundu (Şekil 16A). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) azalış bulundu (Şekil 16A).

%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar, şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı

(Şekil 16B). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16B). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16B).

%21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0224$) azalış bulundu (Şekil 16B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmadı (Şekil 16B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0037$) azalış bulundu (Şekil 16B). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0164$) azalış bulundu (Şekil 16B).

%10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,0006$) azalış bulundu (Şekil 16C). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham kontrol grubu ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,0001$) azalış bulundu (Şekil

16C). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam kontrol grubu ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p<0,0015) azalış bulundu (Şekil 16C). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p<0,0001) azalış bulundu (Şekil 16C). %10 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar, şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p<0,0001) azalış bulundu (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam kontrol grubu ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam kontrol grubu ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0042) azalış bulundu (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0157) azalış bulundu (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH hipoksi grubu sıçanlar ve şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Şekil 16C). %21 O₂ seviyesine maruz bırakılan şŞam grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0109) azalış bulundu (Şekil 16C).

4.5. Yapılan aynı ilaç uygulamasının gruplar arası hipoksi şiddetine bağlı olarak ventilasyon parametreleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi

Tablo 23: oşSham ve şSham grupları frekans bulguları

Gruplar	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>HX (HVC)</i>			
oşSham_KON_fR vs. şSham_KON_fR	131,2±22,00	120,8±17,96	>0,9999
oşSham_DMSO_fR vs. şSham_DMSO_fR	135,5±27,31	125±16,19	>0,9999
oşSham_MSX-3_fR vs. şSham_MSX-3_fR	138±18,84	141,9±11,51	>0,9999
<i>NX (postHVC)</i>			
oşSham_KON_fR vs. şSham_KON_fR	113,20±18,48	111,70±8,04	>0,9999
oşSham_DMSO_fR vs. şSham_DMSO_fR	121,40±14,47	145,80±1,52	0,1338
oşSham_MSX-3_fR vs. şSham_MSX-3_fR	121,90±16,87	149,9±13,37	0,0093

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 11’de Sham modeli TVP ölçüm protokolü detaylı şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm bölümleri protokolde belirtilen bölümlerden alındı. Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan gruplarda hipoksik koşullarda frekansta gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 23). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0093) artış bulundu (Tablo 23). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol grubu ile şSham kontrol grubu arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 23). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham grubu DMSO uygulamsı yapılan sıçanlar ile şSham grubu DMSO uygulamsı yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 23).

Tablo 24: oşSham ve şSham grupları tidal volüm bulguları

Gruplar	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>HX (HVC)</i>			
oşSham_KON_TV vs. şSham_KON_TV	2,493±0,22	2,562±0,42	>0,9999
oşSham_DMSO_TV vs. şSham_DMSO_TV	2,554±0,45	2,775±0,07	>0,9999
oşSham_MSX-3_TV vs. şSham_MSX-3_TV	2,589±0,40	2,649±0,05	>0,9999
<i>NX (postHVC)</i>			
oşSham_KON_TV vs. şSham_KON_TV	1,880±0,21	2,048±0,19	>0,9999
oşSham_DMSO_TV vs. şSham_DMSO_TV	1,797±0,18	1,982±0,36	>0,9999
oşSham_MSX-3_TV vs. şSham_MSX-3_TV	1,949±0,25	1,981±0,07	>0,9999

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 11’de Sham modeli TVP ölçüm protokolü detaylı şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm bölümleri protokolde belirtilen bölümlerden alındı. Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan gruplarda hipoksik koşullarda tidal volümde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 24). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan gruplarda normoksik koşullarda tidal volümde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 24).

Tablo 25: oşSham ve şSham grupları ventilasyon bulguları

Gruplar	Ortalama Değer 1 (mL/min•kg)	Ortalama Değer 2 (mL/min•kg)	P değeri
<i>HX (HVC)</i>			
oşSham_KON_MVb vs. şSham_KON_MVb	318,20±33,76	297,90±29,23	>0,9999
oşSham_DMSO_MVb vs. şSham_DMSO_MVb	333,90±39,66	304,10±54,41	>0,9999
oşSham_MSX-3_MVb vs. şSham_MSX-3_MVb	351,30±65,47	367,10±29,30	>0,9999
<i>NX (postHVC)</i>			
oşSham_KON_MVb vs. şSham_KON_MVb	206,80±19,05	221,70±17,51	>0,9999
oşSham_DMSO_MVb vs. şSham_DMSO_MVb	214,10±22,55	279,70±57,92	0,0052
oşSham_MSX-3_MVb vs. şSham_MSX-3_MVb	234,30±37,98	291,30±17,61	0,0425

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 11’de Sham modeli TVP ölçüm protokolü detaylı şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm bölümleri protokolde belirtilen bölümlerden alındı. Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan gruplarda hipoksik koşullarda ventilasyonda gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 25). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşSham kontrol

grubu ile $\dot{V}S_{Sham}$ kontrol grubu arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 25). Normoksik O_2 seviyesine maruz bırakılan $\dot{V}S_{Sham}$ grubu DMSO uygulamsı yapılan sıçanlar ile $\dot{V}S_{Sham}$ grubu DMSO uygulamsı yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0052$) artış bulundu (Tablo 25). Normoksik O_2 seviyesine maruz bırakılan $\dot{V}S_{Sham}$ grubu MSX-3 uygulamsı yapılan sıçanlar ile $\dot{V}S_{Sham}$ grubu MSX-3 uygulamsı yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda frekansta istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0425$) artış bulundu (Tablo 25).

Tablo 26: $\dot{V}S_{KSH}$ ve $\dot{V}S_{KSH}$ grupları frekans bulguları

Gruplar	Ortalama Değer 1 (BPM)	Ortalama Değer 2 (BPM)	P değeri
<i>HX (postHVC)</i>			
$\dot{V}S_{KSH_H_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_H_fR}$	130,30 \pm 20,80	132,70 \pm 13,92	>0,9999
$\dot{V}S_{KSH_DMSO_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_DMSO_fR}$	121,90 \pm 11,64	135,60 \pm 12,15	>0,9999
$\dot{V}S_{KSH_MSX-3_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_MSX-3_fR}$	140,40 \pm 19,82	129,80 \pm 17,96	>0,9999
<i>NX (HVC)</i>			
$\dot{V}S_{KSH_H_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_H_fR}$	119,50 \pm 13,12	125,30 \pm 17,18	>0,9999
$\dot{V}S_{KSH_DMSO_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_DMSO_fR}$	101,60 \pm 14,19	115,20 \pm 19,51	>0,9999
$\dot{V}S_{KSH_MSX-3_fR}$ vs. $\dot{V}S_{KSH_MSX-3_fR}$	120,90 \pm 17,79	122,90 \pm 12,01	>0,9999

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 12’de kronik sũrekli hipoksi modeli TVP olçũm protokolũ detaylı Şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) olçũm bũlũmleri protokolde belirtilen bũlũmlerden alındı. Hipoksik O_2 seviyesine maruz bırakılan gruplarda hipoksik koşullarda frekansta gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 26). Normoksik O_2 seviyesine maruz bırakılan gruplarda normoksik koşullarda frekansta gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 26).

Tablo 27: oşKSH ve şKSH grupları tidal volüm bulguları

Gruplar	Ortalama Değer 1 (mL/kg)	Ortalama Değer 2 (mL/kg)	P değeri
<i>HX (postHVC)</i>			
oşKSH_H_TV vs. şKSH_H_TV	2,2790±0,24	1,8990±0,22	0,3908
oşKSH_DMSO_TV vs. şKSH_DMSO_TV	2,7860±0,47	1,6680±0,31	<0,0001
oşKSH_MSX-3_TV vs. şKSH_MSX-3_TV	2,2250±0,30	1,9540±0,36	>0,9999
<i>NX (HVC)</i>			
oşKSH_H_TV vs. şKSH_H_TV	1,9440±0,23	1,7160±0,11	>0,9999
oşKSH_DMSO_TV vs. şKSH_DMSO_TV	2,4630±0,57	1,4180±0,33	<0,0001
oşKSH_MSX-3_TV vs. şKSH_MSX-3_TV	1,8100±0,23	1,6680±0,18	>0,9999

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 12’de kronik sürekli hipoksi modeli TVP ölçüm protokolü detaylı şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm bölümleri protokolde belirtilen bölümlerden alındı. Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu ile şKSH hipoksi grubu arasında hipoksik koşullarda tidal volümde anlamlı bir değişim bulunmadı (Tablo 27). Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) azalış bulundu (Tablo 27). Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 27). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu ile şKSH hipoksi grubu arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 27). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) azalış bulundu (Tablo 27). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 27).

Tablo 28: oşKSH şKSH grupları ventilasyon bulguları

Gruplar	Ortalama Değer (mL/min·kg)	1 Ortalama Değer (mL/min·kg)	2 P değeri
<i>HX (postHVC)</i>			
oşKSH_h_MVb vs. şKSH_H_MVb	291,90±39,31	247,70±24,91	0,0845
oşKSH_DMSO_MVb vs. şKSH_DMSO_MVb	332,00±42,08	221,00±33,72	<0,0001
oşKSH_MSX-3_MVb vs. şKSH_MSX-3_MVb	305,00±39,28	245,10±27,67	0,0007
<i>NX (HVC)</i>			
oşKSH_H_MVb vs. şKSH_H_MVb	228,50±19,64	211,60±26,00	>0,9999
oşKSH_DMSO_MVb vs. şKSH_DMSO_MVb	241,30±25,82	157,10±27,81	<0,0001
oşKSH_MSX-3_MVb vs. şKSH_MSX-3_MVb	213,70±26,55	201,80±13,57	>0,9999

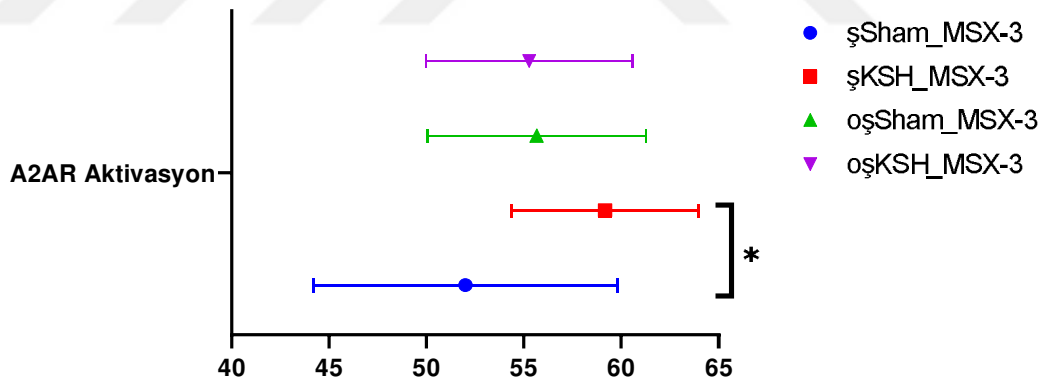
Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Şekil 12’de kronik sürekli hipoksi modeli TVP ölçüm protokolü detaylı şekilde anlatıldı. Tablolarda hipoksik ventilatuvar cevap (HVC) ve hipoksik ventilatuvar cevap sonrası (postHVC) ölçüm bölümleri protokolda belirtilen bölümlerden alındı. Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu ile şKSH hipoksi grubu arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda anlamlı bir değişim bulunmadı (Tablo 28). Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$) azalış bulundu (Tablo 28). Hipoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında hipoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0007$) azalış bulundu (Tablo 28). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH hipoksi grubu ile şKSH hipoksi grubu arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 28). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu DMSO uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda ventilasyonda istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0001$) azalış bulundu (Tablo 28). Normoksik O₂ seviyesine maruz bırakılan oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanlar arasında normoksik koşullarda tidal volümde istatistiksel olarak anlamlı değişim bulunmadı (Tablo 28).

4.6. İmmüfloresan Boyamalar

Normoksi ve kronik sürekli hipoksiye maruz bırakılıp MSX-3 uygulaması yapılan Sprague dawley cinsi erkek ratlarda A_2A ve reseptör aktivasyonlarını karşılaştırmak için immunofloresan yöntem kullanılarak reseptör boyamaları yapıldı. NTS bölgesinin reseptör işaretlemeleri Alexa Flour 532 (yeşil) ile yapılmıştır. Beyin sapında NTS bölgesinde ölçüm yapıldı. Deney gruplarının reseptör aktivasyon yoğunlukları image j ile hesaplanarak elde edilen sonuçlar tablo 29'da gösterilmiştir.

Tablo 29: Beyin sapı üzerindeki NTS bölgesindeki A_2A reseptörlerin normoksi ve hipoksiye maruziyeti sonrasındaki aktivasyon yoğunlukları.

GRUPLAR	ORTALAMA DEĞER 1	ORTALAMA DEĞER 2	n SAYISI	P Değeri
oşSham_ MSX-3 vs. oşKSH_ MSX-3	55,66	55,28	30	>0,9999
şSham_ MSX-3 vs. şKSH_ MSX-3	52,01	59,17	30	<0,0001
şKSH_ MSX-3 vs. oşKSH_ MSX-3	59,17	55,28	30	0,0534
şSham_ MSX-3 vs. oşSham_ MSX-3	52,01	55,66	30	0,0798

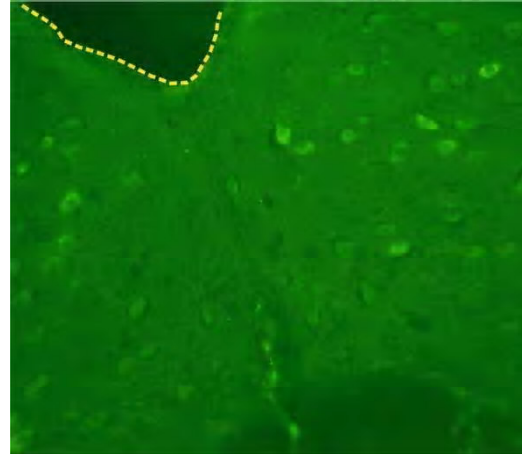


Şekil 17. Beyin sapı üzerindeki NTS bölgesindeki A_2A reseptörlerin normoksi ve hipoksiye maruziyeti sonrasındaki aktivasyon yoğunlukları çizgi grafiği.

İmmüfloresan yöntem kullanılarak yapılan reseptör boyamaları sonucu şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanların beyin sapı NTS bölgesi A_2AR aktivasyonu ile şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan sıçanların beyin sapı NTS bölgesi A_2AR aktivasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,0001$) artış bulundu (Şekil 17).

oşSham_MSX-3_A₂A (20X)

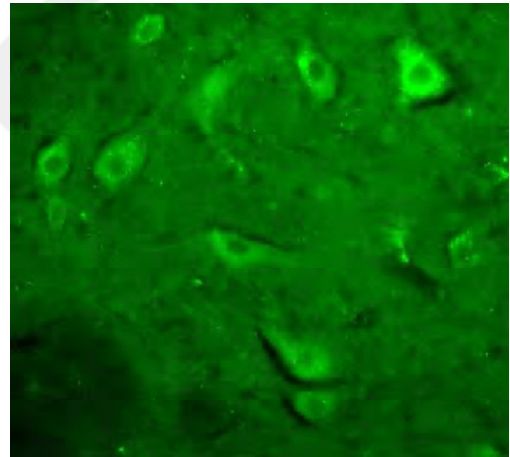
Şekil 18: oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyon, beyaz işaretli alanlar NTS bölgeleri.

oşSham_MSX-3_A₂A (40X)

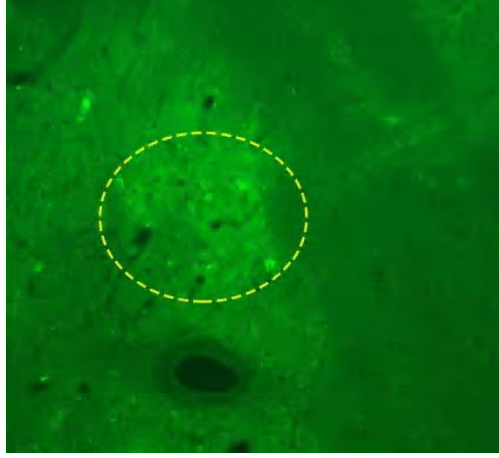
Şekil 19: oşSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu

şSham_MSX-3_A₂A (20X)

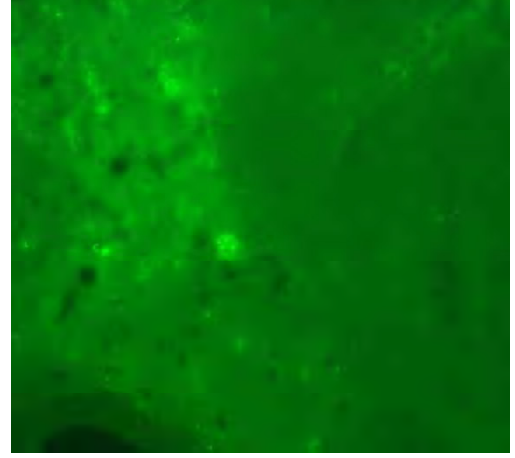
Şekil 20: şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi.

şSham_MSX-3_A₂A (40X)

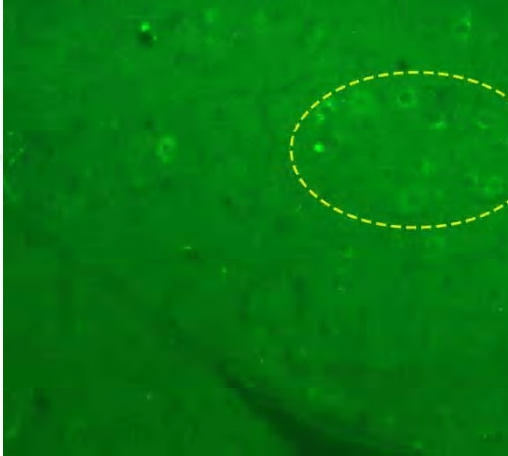
Şekil 21: şSham grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu.

oşKSH_MSX-3_A₂A (20X)

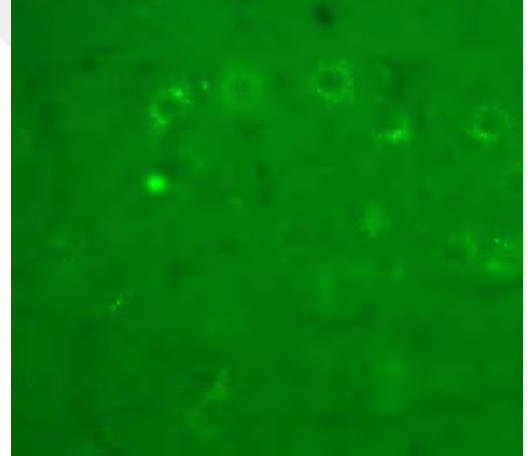
Şekil 22: oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi.

oşKSH_MSX-3_A₂A (40X)

Şekil 23: oşKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu.

şKSH_MSX-3_A₂A (20X)

Şekil 24: şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu A₂A reseptör aktivasyonu, sarı işaretli alan NTS bölgesi.

şKSH_MSX-3_A₂A (40X)

Şekil 25: şKSH grubu MSX-3 uygulaması yapılan beyin sapı dokusu NTS bölgesi A₂A reseptör aktivasyonu.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

VAH oluşumunu açıklamak için, uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olan serotonerjik mekanizma araştırmacılar tarafından yeterli bulunmamaktadır. Fakat bunun yanında uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumunun, aklimatizasyon boyunca sürekliliği veya yokluğu üzerinde bugüne kadar yeterli sayıda çalışma da yapılmamıştır. Bu çalışmalar göz önünde bulundurulursa, uzun süreli fasilitasyon (USF) ve ventliasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşum yollarının, glutamaterjik nörotransmisyonunda ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinde plastisiteye yol açtığı fakat farklı mekanizmalara sahip olduğu düşünülmektedir. Bunun altında yatan sebebin ise 5-HT_{2A} reseptörü antagonist uygulamasının, VAH oluşumunu bloke etmemesi ve aynı şartlar altında 50 dakika boyunca aralıklı ve sürekli hipoksiye maruz kalınmasının, uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna neden olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Baker ve Mitchell, 2000). Literatürdeki bulgulara göre VAH oluşumu için merkezi sinir sisteminde plastisite oluşumu gerekir fakat bu olay sadece kemoreseptörlerde plastisite veya kemoreseptör uyarıların zamana bağlı değişiklikleriyle açıklanamaz. Bu nedenlerden dolayı bu çalışma ile plastisite oluşumundaki nörotransmitter mekanizmalarının ve kronik sürekli hipokside oluşan inflamasyon sinyallerinin VAH oluşumunun korunmasında birbirleriyle olan bağlantısını araştırdık. (Liu ve ark., 2011; Funk ve ark., 2015; Hocker ve ark., 2017; Nichols ve ark., 2012; Devinney, 2013; Pamerter ve Powell, 2016)

Bu çalışma ile ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşumunu adenozin bağımlı ventilatuvar plastisite ve ventilatuvar inflamatuvar sinyaller arasındaki etkileşimlerle açıklanabileceği hipotezini ve bu iki yolun plastisite için kronik sürekli hipoksi boyunca varlığının gerekli olduğunu test ettik.

Şiddetli aralıklı hipoksi sırasında uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna yol açan adenozin bağımlı ikinci bir mekanizma, ilk olarak, frenik motor fasilitasyon (fMF)

oluşumuna yol açan beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) salınımını taklit ederek, A_{2A} reseptörleri içeren bir sinyal gönderme yolunun doğrudan uyarılmasıyla ortaya çıkarılabileceği hipotezini doğrulamak için tasarlanan bir farmakolojik araştırmada tarif edilmiştir (Golder ve ark., 2008). Çalışma, spinal adenozin A_{2A} reseptörlerini aktive ederek, anestezi uygulanmış sıçanlarda fMF' yi ürettiği ve uyanık sıçanlarda artmış normoksik ventilatuvar enerjide bir artışın olduğu bulunmuştur. Daha sonra, bu adenozin bağımlı olan mekanizma ile çalıştığı ve MSX-3' ün spinal (intratekal) uygulanmasının ardından şiddetli aralıklı hipoksi ile USF' ye katkıda bulunduğunu ve uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumuna yol açan motor aktivitenin azaldığı gösterilmiştir (Nichols ve ark., 2012). Biz ise çalışmamızda bu çalışmalar ile karşılaştırılabilir bir “hipoksi” dozu ile şiddetli ve orta şiddetli hipoksiye daha uzun süre maruz kalmanın uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşum sürecinde gerçekleşen reseptör aktivasyonu (şiddetli aralıklı hipokside) ile ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) mekanizmasının açıklanmasına katkıda bulunacağını düşündük.

Yapılan bu çalışmaların sonuçlarına göre bu tez çalışmasında, her bir grubun kendi içerisinde hipoksi (%10 veya %13 O₂) ve normoksi (%21 O₂) seviyelerinin gösterildiği ve bulgular bölümünde sütun grafiklerinde bulunan sonuçların anlamlılıkları işaretlendi. Bulunan sonuçlara göre oşSham gruplarında kısa süreli (15 dk) hipoksiye maruz kalınması ile hedeflenen adenozin salınımı bu süre içerisinde özellikle ventilasyonda anlamlı bir artışa neden olmadığı görüldü. Bunun yanında hipoksinin şiddetinin artması, orta şiddetli hipoksiye göre adenozin salınımının yine O₂ seviyesinin kısa süreli düşmesi ile gerçekleşebileceğinin bir durumu olarak düşünüldü. Benzer olarak MSX-3 uygulamsı yapılan şiddetli akut sürekli hipoksi sonrası normokside frenik aktivite üzerindeki (fMF) anlamlı etkisine benzer fakat hipoksinin frenik cevabı üzerinde etkili olmadığı bulundu (Devinney ve ark., 2016). oşKSH grubunda, ventilasyonun dengelenmesi solunum frekansına bağlı olarak gerçekleştiğini düşündürmektedir. Ayrıca bu grupta ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşumunda adenozin reseptör aktivasyonu orta şiddetli bir hipoksi seviyesine maruz kalınmasının ardından yine adenozin bağımlı olmayan bir mekanizma üzerinden korunmuş olabilir. şKSH grubunda, hipoksi ve MSX-3 grubu arasında tüm parametrelerde anlamlı bir farklılığın bulunmaması şiddetli hipokside aktive olması beklenen A_{2A} reseptörünün blokajının sağlanmasından kaynaklandığı bulundu. Tüm bu veriler birlikte incelendiğinde orta şiddetli uzun süre devam eden hipoksinin aynı süredeki şiddetli

hipoksiye maruz kalmaya göre daha çok reseptör aktivasyonuna ihtiyaç duyması hipotezimizi desteklemektedir. Aralıklı hipoksi protokolleri uygulanan çalışmalarda farklı akut hipoksi modellerinin uzun süreli fasilitasyon (USF) üzerindeki etkilerinin bir meta-analizi, fizyolojik sonuçların hem hipoksi seviyesine hem de hipoksi süresine (yani toplam aralıklı hipoksi sayısı) bağlı olduğunu gösterir (Navarrete-Opazo ve Mitchell, 2014).

Hipoksi seviyelerinin karşılaştırıldığı Tablo 25' te normoksi koşullarında MSX-3 etkisi kısa süreli hipoksiye uğrayan ŞSham grubunda, oŞSham grubuna göre anlamlı olarak artış bulunması kısa süreli hipoksiye mazruz kaldıktan sonra, orta şiddetli hipoksiye nazaran şiddetli hipokside adenozin salınımının daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Kronik sürekli hipoksiye maruz bırakılan gruplarda ise adenozin blokajı şiddetli hipokside beklenildiği sağlanmış olarak orta şiddetli hipoksiye göre ventilasyonda anlamlı bir düşüşe neden olmuştur.

Sonuçlarımız, kronik sürekli hipoksi ve aralıklı hipoksi hipoksi ile ventilatör kontrolünde plastisite için adenozin bağımlı sinyal yolağının kısmen benzerlik gösterdiğini desteklemektedir. Bununla birlikte bu çalışmada aslında spesifik sinyalizasyon mekanizmalarını değil, bu sinyalizasyon yollarını başlatan reseptör olan A₂AR bloke etmenin etkilerini inceledik. Ayrıca, deneylerimizde ilaç etkilerinin etki bölgesinin lokalize edilememesi önemlidir çünkü hem ilaçlar hem de hipoksi maruziyeti sistematik olarak uygulanmıştır. Refere alınan çalışmalarda olduğu gibi spesifik olarak, uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu için primer plastisite bölgeleri olan frenik veya hipoglossal motor nöronlarındaki reseptör veya sinyal blokajının etkilerini çalışmadık (Bach ve Mitchell, 1996; Fuller ve ark., 2001; Baker-Herman ve Mitchell, 2002). Çalıştığımız ilaç etkileri frenik motor nöronlarında, ayrıca sürekli hipoksi ile O₂ duyarlılığını artıran karotis cisimlerinde de meydana gelebilir (Kumar ve Prabhakar, 2012). Bunun yanında ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşumuna katkı yapan plastisite sergileyen ve karotis cisim kemreseptörlerinden gelen birincil sinaps bölgesi olan NTS bölgesi de karotid sinüs sinirinin sonlandığı bölgedir (Pamenter ve Powell, 2016). Bu durum kesin mekanizmaları lokalize etme ve test etme yeteneğimizi sınırlarken, aynı zamanda, hedeflenen uygulama olmadan klinik bir durumda ortaya çıkabilecek durumları bu mekanizmalar üzerinde etkili olan sistemik terapötiklerin fizyolojik sonuçlarını da kısmen tanımlamış olduk. MSX-3 uygulaması

adenozin, A₂A reseptörleri yoluyla etki eden karotis cisimlerinin aktivitesini modüle ettiğinden periferel kemoreseptörler üzerine etki edebilir (Nurse ve Piskuric, 2013; Conde ve ark., 2017). Kobayashi ve diğ. (2000), Adenozinin, glomus hücrelerinde voltaja bağlı Ca²⁺ akımlarını inhibe ettiğini, A₂A reseptörlerinin aktivasyonunun, karotid vücut aktivitesi üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan, Zhang ve ark. (2017), adenozin A₂A reseptörlerinin, glomus hücresi ve petrosal ganglion nöron ko-kültürlerinde pre ve postsinaptik etkilere sahip olduğunu göstermiştir ki adenozinin diğer yazarlar tarafından gözlemlenen karotis cisimlerindeki uyarıcı etkileri ile tutarlıdır (Fitzgerald ve ark., 2009; Nurse ve Piskuric, 2013; Conde ve ark., 2017). NTS' deki adenozin A₂A reseptörlerinin sempatik refleksi hafiflettiği rapor edilmiştir ancak ventilatör kontrolündeki rolleri belirlenmemiştir (Minic ve ark., 2015).

Bu tez çalışmasının bulgular bölümünde yer alan beyin sapı NTS bölgesi için yapılan doku boyamalarında sadece MSX-3 uygulanan gruplardaki sonuçları sunuldu. Sonuçlara göre orta şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu ile kontrol grubu olan orta şiddetli Sham grubu arasında adenozin 2A reseptör aktivasyonunda anlamlı bir fark bulunmadı. Bununla birlikte şiddetli kronik sürekli hipoksi grubu ile bu grubun kontrol grubu olan şiddetli Sham grubu arasında anlamlı bir farklılık bulundu. Şiddetli kronik sürekli hipoksi grubunda NTS üzerindeki adenozin 2A reseptör aktivasyonundaki artış hipoksinin şiddetinin artmış olmasına rağmen A₂AR aktivasyonunun karotid vücut aktivitesi üzerinde inhibe edici etkisine ters düşmektedir. Bu olaya karşı total ventilasyon artışı da sadece frenik sinir aktivesine bağlı olmayıp, solunumsal uzun süreli fasilitasyon (vUSF) oluşumunu göstermek için genioglossal, hipoglossal ve interkostal sinirlerinin motor cevapları ile frenik sinir cevabın oluşturduğu toplam plastisiteyi araştıran çalışmalara örnek olarak gösterilebilir. Frenik sinir üzerinde sistemik MSX-3 uygulaması ventilasyonu inhibe etse de ventilasyonun hipoksiye vereceği cevabı etkileyen tüm sinirler üzerinde bugüne kadar detaylı bir çalışma yapılmamıştır.

NTS' deki ventilatör kemorefleksler üzerindeki adenozin A₂A reseptörleri için olası rollerin araştırılması ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) ile NTS' de glutamaterjik nörotransmisyon için gösterilmiş olan plastisite üzerindeki potansiyel katkılarının test edilmesi hala araştırılmalıdır.

Bu çalışmanın açık sınırlaması, adenozin veya A₂AR aktivasyonunun etkisinin in vivo olarak sinirsel plastisite için fizyolojik olarak anlamlı olup olmadığından emin olamayacağımızdır. Bunun nedeni, bu potansiyel plastisite oluşum yolağı üzerinde yer alan reseptörlerin (örneğin; nöronlar ve glia hücreleri üzerindeki A₂AR etkilerinin kesinliği) sayısı, miktarı ve O₂, sitokinler gibi maddelerin kontrol edilebilen fizyolojik seviyelerde olmamasıdır.

Sonuç olarak bu tez çalışması, hücrel sinyal ve nöral plastisite açısından ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşum mekanizmalarının açıklanmaya çalışıldığı az sayıdaki deneysel çalışmalardan birisidir. Solunumun şiddeti, sürekliliği ve modeli bakımından bu durumlar incelendiğinde anestezi edilmemiş sıçanlardaki ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşumu, anestezi altında vagotomize ve ventile edilen sıçanlarda, AAH veya KAH ile indüklenen frenik sinir aktivasyonu ile oluşan frenik uzun süreli fasilitasyon (USF) oluşumu için önerilen sinyal mekanizmasındaki adenozin 2A reseptörü bağımlı yolak ile kısmen açıklanmaya çalışıldı. Çalışmada kullanılan protokollerde farklı şiddetlerdeki zaman bağımlı uzun süreli hipoksiye maruz kalınması boyunca A₂AR inhibisyonunun her iki hipoksik durumda da ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşumunu üzerindeki etkileri araştırıldığı bu çalışmada sistemik MSX-3 uygulamasının hipoksinin şiddeti arttıkça etki göstermeye başladığını ve akut hipoksiden sonra normoksik koşullara dönüldüğünde ise şiddetli hipoksi sonrasında ventilasyonda anlamlı olarak artışa neden olduğunu bulduk. Hipoksik periyotların şiddeti ve süresi göz önünde bulundurularak oluşum mekanizması açıklanmak istenen ventilasyonun hipoksiye aklimitizasyonu (VAH) oluşum mekanizmaları arasındaki etkileşimin A₂A reseptör alt tipi aktivasyonu ile bağlantılı olduğu, bu tez çalışmasının hipotezini doğrulamıştır.

6.KAYNAKLAR

- Aaron, E.A. ve Powell, F.L. "Effect of chronic hypoxia on hypoxic ventilatory response in awake rats", *J Appl Physiol*, 1993; 74: 1635-40.
- Accorsi-Mendonça, D. ve Machado, B.H. "Synaptic transmission of baro- and chemoreceptors afferents in the NTS second order neurons", *Auton Neurosci*, 2013; 175: 3-8.
- Acker, H., & O'Regan, R. G. The effects of stimulation of autonomic nerves on carotid body blood flow in the cat. *J Physiol*, 1981; 315: 99-110.
- Adams, J. M., Attinger, F. M., & Attinger, E. O. Medullary and carotid chemoreceptor interaction for mild stimuli. *Pflugers Arch*, 1978; 374: 39-45.
- Akilesh, M. R., Kamper, M., Li, A., & Nattie, E. Effects of unilateral lesions of retrotrapezoid nucleus on breathing in awake rats. *J Appl Physiol*, 1997; 82: 469- 79.
- Bach, K.B. ve Mitchell, G.S. "Hypoxia-induced long-term facilitation of respiratory activity is serotonin dependent", *Respir Physiol*, 1996; 104: 251-260.
- Baker, T.L., Fuller, D.D., Zabka, A.G., Mitchell, G.S. "Respiratory plasticity: differential actions of continuous and episodic hypoxia and hypercapnia". *Respir Physiol*, 2001; 129: 25-35.
- Baker, T.L. ve Mitchell, G.S. "Episodic but not continuous hypoxia elicits long-term facilitation of phrenic motor output in rats", *J Physiol*, 2000; 529: 215-219.
- Baker-Herman, T.L. ve Mitchell, G.S. "Phrenic long-term facilitation requires spinal serotonin receptor activation and protein synthesis", *J Neurosci*, 2002; 22: 6239-6246.
- Baker-Herman, T.L., Fuller, D.D., Bavis, R.W., Zabka, A.G., Golder, F.J., Doperalski, N.J., Johnson, R.A., Watters, J.J., Mitchell, G.S. "BDNF is necessary and

- sufficient for spinal respiratory plasticity following intermittent hypoxia”, *Nat Neurosci*, 2004; 7: 48-55.
- Baker-Herman T. L. ve Strey K.A. “Similarities and differences in mechanisms of phrenic and hypoglossal motor facilitation”, *Respir Physiol Neurobiol*, 2011; 179: 48– 56.
- Ballantyne D, Scheid P. Central chemosensitivity of respiration: a brief overview. *Respir Physiol* 2001; 129: 5–12.
- Başaran KE. Aralıklı Ve Sürekli Hipoksiye Maruz Bırakılan Sıçanlarda Solunumsal Uzun Süreli Fasilitasyonun (Vltf) Araştırılması Ve Beyin Sapı Ve Omurilik Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2015.
- Basaran, K.E., Villongco, M., Ho, B., Ellis, E., Zarndt, R., Antonova, J., Hopkins, S.R., Powell, F.L. “Ibuprofen Blunts Ventilatory Acclimatization to Sustained Hypoxia in Humans”, *PLoS ONE*, 2016; 11: e0146087.
- Bayliss DA., Talley EM, Sirois JE, Lei Q. TASK-1 is a highly modulated pH- sensitive ‘leak’ K⁺ channel expressed in brainstem respiratory neurons. *Respir Physiol* 2001; 129: 159–74.
- Bellville, J. W., Whipp, B. J., Kaufman, R. D., Swanson, G. D., Aqleh, K. A., & Wiberg, D. M. Central and peripheral chemoreflex loop gain in normal and carotid body-resected subjects. *J Appl Physiol*, 1979; 46: 843-53.
- Bernard, D. G., Li, A., & Nattie, E. E. Evidence for central chemoreception in the midline raphé. *J Appl Physiol*, 1996; 80: 108-15.
- Bezzi, P. ve Volterra, A. “A neuron-glia signalling network in the active brain”, *Curr Opin Neurobiol*, 2001; 11: 387–394.
- Biancardi, V., Bicego, K. C., Almeida, M. C., & Gargaglioni, L. H. Locus coeruleus noradrenergic neurons and CO₂ drive to breathing. *Pflugers Arch*, 2008; 455: 1119-28.
- Bianchi AL, Denavit-Saubie M, Champagnat J. Central control of breathing in mammals: Neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev*. 1995; 75: 1–31 veya 45.
- Blanco CE. Maturation of fetal breathing activity. *Biol Neonate*. 1994; 65: 182– 188.
- Bolton CF, Chen R, Wigdiks EFM, Zifko UA. Anatomy and physiology of the nervous system, control of respiration. In: *Neurology of Breathing*. United States of America, 2004; 2: 19-35.

- Bray JJ, Cragg PA, Macknight ADC, Mills RG. Lecture notes on Human Physiology. Blackwell Science, 1999. 4 th edition New Zeland: Cambridge 1999; 16: 399-467.
- Cherniack, N. S., von Euler, C., Homma, I., & Kao, F. F. Graded changes in central chemoceptor input by local temperature changes on the ventral surface of medulla. *J Physiol*, 1979; 287: 191-211.
- Clement, I. D., Bascom, D. A., Conway, J., Dorrington, K. L., O'Connor, D. F., Painter, R., et al. An assessment of central-peripheral ventilatory chemoreflex interaction in humans. *Respir Physiol*, 1992; 88: 87-100.
- Clement, I. D., Pandit, J. J., Bascom, D. A., Dorrington, K. L., O'Connor, D. F., & Robbins, P. A. An assessment of central-peripheral ventilatory chemoreflex interaction using acid and bicarbonate infusions in humans. *J Physiol*, 1995; 485: (Pt 2), 561-70.
- Coates, E. L., Li, A. H., & Nattie, E. E. Acetazolamide on the ventral medulla of the cat increases phrenic output and delays the ventilatory response to CO₂. *J Physiol*, 1991; 441: 433-51.
- Coates, E. L., Li, A., & Nattie, E. E. Widespread sites of brain stem ventilatory chemoreceptors. *J Appl Physiol*, 1993; 75: 5-14.
- Conde, S.V. ve Monteiro, E.C. "Hypoxia induces adenosine release from the rat carotid body", *J Neurochem*, 2004; 89: 1148–1156.
- Corfield DR, Fink GR, Ramsay SC, et al. Evidence for limbic system activation during CO₂-stimulated breathing in man. *J Physiol*. 1995; 488: 77–84.
- Dahan, A., DeGoede, J., Berkenbosch, A., & Olievier, I. C. The influence of oxygen on the ventilatory response to carbon dioxide in man. *J Physiol*, 1990; 428: 485-99.
- Dale-Nagle, E.A., Hoffman, M.S., MacFarlane, P.M., Mitchell, G.S. "Multiple pathways to long-lasting phrenic motor facilitation", *Adv Exp Med Biol*, 2010; 669: 225–230.
- Daristotle, L., & Bisgard, G. E. Central-peripheral chemoreceptor ventilatory interaction in awake goats. *Respir Physiol*, 1989; 76: 383-91.

- Davies, A. & Moores C. *The Respiratory System: Basic Science and Clinical Conditions* 2nd Edition, 2010; 5: Control of Breathing. 61-82., Elsevier Ltd.
- Day, T. A., & Wilson, R. J. A negative interaction between brainstem and peripheral respiratory chemoreceptors modulates peripheral chemoreflex magnitude. *J Physiol*, 2009; 587: 883-96.
- De Burgh Daly, M., Lambertsen, C. J., & Schweitzer, A. Observations on the volume of blood flow and oxygen utilization of the carotid body in the cat. *J Physiol*, 1954; 125: 67-89.
- Dean JB., Kinkade EA, Putnam RW. Cell-cell coupling in CO₂/H⁺-excited neurons in brainstem slices. *Respir Physiol* 2001; 129: 83–100.
- Dean, JB., Lawing, W. L., & Millhorn, D. E. CO₂ decreases membrane conductance and depolarizes neurons in the nucleus tractus solitarii. *Exp Brain Res*, 1989; 76: 656-61.
- Dempsey, J. A., & Forster, H. V. Mediation of Ventilatory Adaptations. *Physiol Rev*, 1982; 62: 262-346.
- Dempsey, J. A., Forster, H. V., Bisgard, G. E., Chosy, L. W., Hanson, P. G., Kiorpes, A. L., et al. Role of cerebrospinal fluid H⁺ in ventilatory deacclimatization from chronic hypoxia. *J Clin Invest*, 1979; 64: 199-205.
- Devinney, M.J., Huxtable, A.G., Nichols, N.L., Mitchell, G.S. “Hypoxia-induced phrenic long-term facilitation: emergent properties”, *Ann N.Y. Acad Sci New York Academy of Sciences*; 2013; 1279: 143–153.
- Donoghue S, Felder RB, Jordan D & Spyer KM. The central projections of carotid baroreceptors and chemoreceptors in the cat: a neurophysiological study. *J Physiol* 1984; 347: 397-409.
- Dwinell. M.R. ve Powell, F.L. “Chronic hypoxia enhances the phrenic nerve response to arterial chemoreceptor stimulation in anesthetized rats”, *J Appl Physiol*, 1999; 87: 817–823.

- Eldridge, F.L. ve Millhorn, D.E. Oscillation, gating, and memory in the respiratory control system. In: Handbook of Physiology. The Respiratory System. Control of Breathing. Sect. 3, vol. II, Pt. 1, Chapt. 3. Editör: Bethesda, M.D. Am Physiol Soc. 1986; 93:114.
- Erlichman, J.S., Leiter, J.C., Gourine, A.V. “ATP, glia and central respiratory control”, *Respir Physiol Neurobiol*, 2010; 173: 305–311.
- Fatemian, M., & Robbins, P. A. Selected contribution: chemoreflex responses to CO₂ before and after an 8-h exposure to hypoxia in humans. *J Appl Physiol*, 2001; 90: 1607-14; discussion 1606.
- Fatemian, M., Nieuwenhuijs, D. J., Teppema, L. J., Meinesz, S., van der Mey, A. G., Dahan, A., et al. The respiratory response to carbon dioxide in humans with unilateral and bilateral resections of the carotid bodies. *J Physiol*, 2003; 549: 965- 73.
- Feldman, J.L., Mitchell, G.S., Nattie, E.E. “Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity” *Annu Rev Neurosci*, 2003; 26: 239–266.
- Feldman JL, Del Negro CA, Gray PA. Understanding the Rhythm of Breathing: So Near, Yet So Far. *Annu. Rev. Physiol.* 2013; 75: 423-452.
- Fencl, V., Miller, T. B., & Pappenheimer, J. R. Studies on the respiratory response to disturbances of acid-base balance, with deductions concerning the ionic composition of cerebral interstitial fluid. *Am J Physiol*, 1966; 210: 459-72.
- Fikushi, I., Takeda, K., Yokota, S., Hasebe, Y., Sato, Y., Pokorski, M., Horiuchi, J., Okada, Y. “Effects of arundic acid, an astrocytic modulator, on the cerebral and respiratory functions in severe hypoxia”, *Respir Physiol Neurobiol*, 2016; 226: 24-29.
- Fitzgerald, R.S. ve Lahiri, S. “Reflex Responses to Chemoreceptor Stimulation”, *Compr Physiol*, 2011; 11: 313-362.
- Forster, H.V., Dempsey, J.A., Chosy, L.W. “Incomplete compensation of CSF H⁺ in man during acclimatization to high altitude (4830 M)”, *J Appl Physiol*, 1975; 38: 1067-72.

- Forster, H. V., Bisgard, G. E., & Klein, J. P. Effect of peripheral chemoreceptor denervation on acclimatization of goats during hypoxia. *J Appl Physiol*, 1981; 50: 392-8.
- Forster, H. V., Bisgard, G. E., Rasmussen, B., Orr, J. A., Buss, D. D., & Manohar, M. Ventilatory control in peripheral chemoreceptor-denervated ponies during chronic hypoxemia. *J Appl Physiol*, 1976; 41: 878-85.
- Fregosi, R.F. ve Mitchell, G.S. "Long-term facilitation of inspiratory intercostal nerve activity following carotid sinus nerve stimulation in cats", *J Physiol Lond*, 1994; 477: 469–479.
- Fuller, D.D., Bach, K.B., Baker, T.L., Kinkead, R., Mitchell, G.S. "Long term facilitation of phrenic motor output", *Respir Physiol*, 2000; 121: 135–146.
- Fuller, D.D., Zabka, A.G., Baker, T.L., Mitchell, G.S. "Phrenic long-term facilitation requires 5-HT receptor activation during but not following episodic hypoxia", *J Appl Physiol*, 2001; 90: 2001-2006.
- Funk, G.D., Rajani, V., Alvares, T.S., Revil, A.L., Zhang, Y., Chu, N.Y., Biancardi, V., Linhares-Taxini, C., Katzell, A., Reklow, R. "Neuroglia and their roles in central respiratory control; an overview", *Comp Biochem Physiol, Part A Mol Integr Physiol* 2015; 186: 83–95.
- Funk GD, Ramirez JM. Special issue: 'Neural control of breathing'. *Respir Physiol Neurobiol* 2002; 131: 1–3.
- Ganong WF. Pulmonary function In: *Review of Medical Physiology*. 23 th edition United States of America A Simon & Schust 2011; 34: 617-634.
- Golder, F.J., Ranganathan, L., Satriotomo, I., Hoffman, M., Lovett-Barr, M.R., Watters, J.J., Baker-Herman, T.L., Mitchell, G.S. "Spinal adenosine A_{2A} receptor activation elicits long-lasting phrenic motor facilitation", *J Neurosci*, 2008; 28: 2033-2042.
- Gourine, A.V. "On the peripheral and central chemoreception and control of breathing: An emerging role of ATP", *J Physiol*, 2005a; 568: 3, 715-724.

- Gourine, A.V., Kasymov, V., Marina, N., Tang, F., Figueiredo, M.F., Lane, S., Teschemacher, A.G., Spyer, K.M., Deisseroth, K., Kasparov, S. "Astrocytes control breathing through pH dependent release of ATP", *Science*, 2010; 329: 571–575.
- Griffin, H.S., Kumar, P., Pugh, K., Balanos, G.M. "Long term facilitation of ventilation following acute continuous hypoxia in awake humans during sustained hypercapnia", *J Physiol Lond*, 2012; 590: 5151–5165.
- Guyenet, P. G., Bayliss, D. A., Mulkey, D. K., Stornetta, R. L., Moreira, T. S., & Takakura, A. T. The retrotrapezoid nucleus and central chemoreception. *Adv Exp Med Biol*, 2008; 605: 327-32.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. *Textbook of medical physiology* 12th edition. New York, NY: W.B. Saunders. 2013; 12.
- Hlastala, M.P. & Berger, A.J. *Physiology of Respiration*, New York, NY, Oxford University Press. 1996
- Hoffman, M.S., Golder, F.J., Mahamed, S., Mitchell, G.S. "Spinal adenosineA2(A) receptor inhibition enhances phrenic long term facilitation following acute intermittent hypoxia", *J Physiol*, 2010; 588: 255-266.
- Hoffman, M.S. ve Mitchell, G.S. "Spinal 5-HT7 receptor activation induces long-lasting phrenic motor facilitation", *J Physiol*, 2011; 589: 1397-1407.
- Hocker A.D., Stokes J.A., Powell F.L., Huxtable A.G. "The impact of inflammation on respiratory plasticity", *Exp Neurol*. 2017; 287: 243-253.
- Housley GD, Martin-Body RL, Dawson NJ & Sinclair JD. Brain stem projections of the glossopharyngeal nerve and its carotid sinus branch in the rat. *Neuroscience* 1987; 22: 237-250.
- Housley GD & Sinclair JD. Localization by kainic acid lesions of neurones transmitting the carotid chemoreceptor stimulus for respiration in rat. *J Physiol* 1988; 406: 99-114.

- Huxtable, A.G., Zwicker, J.D., Alvares, T.S., Ruangkittisakul, A., Fang, X., Hahn, L.B., Posse de Chaves, E., Baker, G.B., Ballanyi, K., Funk, G.D. “Glia contribute to the purinergic modulation of inspiratory rhythm-generating networks”, *J Neurosci* 2010; 30: 3947–3958.
- Hülsmann, S., Oku, Y., Zhang, W., Richter, D.W. “Metabolic coupling between glia and neurons is necessary for maintaining respiratory activity in transverse medullary slices of neonatal mouse”, *European J of Neurosci*, 2000; 12: 856–862.
- Iturriaga, R., & Alcayaga, J. Neurotransmission in the carotid body: transmitters and modulators between glomus cells and petrosal ganglion nerve terminals. *Brain Res Brain Res Rev*, 2004; 47: 46-53.
- Jiang C, Xu H, Cui N, Wu J. An alternative approach to the identification of respiratory central chemoreceptors in the brainstem. *Respir Physiol* 2001; 129: 141–57
- Kinkead, R., Zhan, W.Z., Prakash, Y.S., Bach, K.B., Sieck, G.C., Mitchell, G.S. “Cervical dorsal rhizotomy enhances serotonergic innervation of phrenic motoneurons and serotonin-dependent long-term facilitation of respiratory motor output in rats”, *J Neurosci*, 1998; 18: 8436–8443.
- Kumar, P. ve Prabhakar, N.R. “Peripheral chemoreceptors: function and plasticity of the carotid body”, *Compr Physiol*, 2012; 2: 141–219.
- Lai, Y. L., Lamm, J. E., & Hildebrandt, J. Ventilation during prolonged hypercapnia in the rat. *J Appl Physiol*, 1981; 51: 78-83.
- Leusen, I. R. Chemosensitivity of the respiratory center; influence of CO₂ in the cerebral ventricles on respiration. *Am J Physiol*, 1954; 176: 39-44.
- Li, A., Randall, M., & Nattie, E. E. CO₂ microdialysis in retrotrapezoid nucleus of the rat increases breathing in wakefulness but not in sleep. *J Appl Physiol*, 1999; 87: 910-9.
- Ling, L., Fuller, D.D., Bach, K.B., Kinkead, R., Olson, E.B. Jr, Mitchell, G.S. “Chronic intermittent hypoxia elicits serotonin dependent plasticity in the central neural control of breathing”, *J Neurosci*, 2001; 21: 5381–5388.

- Lisman, J. ve Raghavachari, S. “A unified model of the presynaptic and postsynaptic changes during LTP at CA1 synapses”, *Sci STKE*, 2006; 356: re11.
- Liu, C., Cao, Y., Malhotra, A., Ling, L. "Sleep fragmentation attenuates the hypercapnic (but not hypoxic) ventilatory responses via adenosine A1 receptors in awake rats", *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2011; 175: 29–36.
- Liu, X., He, L., Stensaas, L., Dinger, B., Fidone, S. “Adaptation to chronic hypoxia involves immune cell invasion and increased expression of inflammatory cytokines in rat carotid body”, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009; 296: L158–L166.
- Liu, X., He, L., Dinger, B., Gonzalez C., Stensaas L., Fidone S. “A chronic pain: inflammation-dependent chemoreceptor adaptation in rat carotid body”, *Respir. Physiol. Neurobiol* 2011; 178: 362-9.
- Llansola, M., Sanchez-Perez, A., Cauli, O., Felipo, V. “Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. 1. Properties of the NMDA receptor that modulate its function”, *Cerebellum*, 2005; 4: 154-161.
- Loeschcke, H. H., Mitchell, R. A., Katsaros, B., Perkins, J. F., & Konig, A. Interaction of intracranial chemosensitivity with peripheral afferents to the respiratory centers. *Ann N Y Acad Sci*, 1963; 109: 651-60.
- Lorea-Hernández, J., Morales, T., Rivera-Angulo, A., Alcantara-Gonzalez, D., Peña-Ortega, F. “Microglia modulate respiratory rhythm generation and autoresuscitation”, *Glia*, 2016; 64: 603-619.
- Marchenko V & Sapru HN. Different patterns of respiratory and cardiovascular responses elicited by chemical stimulation of dorsal medulla in the rat. *Brain Res* 2000; 857: 99-109.
- Martin, E.D., Fernández, M., Perea, G., Pascual, O., Haydon, P.G., Araque, A., Ceña, V. “Adenosine released by astrocytes contributes to hypoxia induced modulation of synaptic transmission”, *Glia*, 2007; 55: 36–45.
- Mateika, J.H. ve Sandhu, K.S. “Experimental protocols and preparations to study respiratory long term facilitation”, *Respir Physiol Neurobiol*, 2011; 176: 1-11.

- McGuire, M., Zhang, Y., White, D.P., Ling, L. "Serotonin receptor subtypes required for ventilatory long-term facilitation and its enhancement after chronic intermittent hypoxia in awake rats", *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004; 286: 334-341.
- McGuire, M., Zhang, Y., White, D.P., Ling, L. "Effect of hypoxic episode number and severity on ventilatory long-term facilitation in awake rats", *J Appl Physiol*, 2002; 93: 2155-2161.
- McKay, L.C., Janczewski, W.A., Feldman, J.L. "Episodic hypoxia evokes long-term facilitation of genioglossus muscle activity in neonatal rats", *J Physiol*, 2004; 557: 13-18.
- Millhorn, D.E., Eldridge, F.L., Waldrop, T.G. "Prolonged stimulation of respiration by a new central neural mechanism", *Respir Physiol*, 1980; 41: 87–103.
- Millhorn, D. E., Eldridge, F. L., & Waldrop, T. G. Effects of medullary area I(s) cooling on respiratory response to chemoreceptor inputs. *Respir Physiol*, 1982; 49: 23-39.
- Mitchell, G.S., Baker, T.L., Nanda, S.A., Fuller, D.D., Zabka, A.G., Hodgeman, B.A., Bavis, R.W., Mack, K.J., Olson, E.B. Jr. "Invited review: Intermittent hypoxia and respiratory plasticity", *J Appl Physiol*, 2001b; 90: 2466–2475.
- Mitchell, G.S. ve Johnson, S.M. "Neuroplasticity in respiratory motor control", *J Appl Physiol*, 2003; 94: 358–374.
- Mitchell, G.S., Powell, F.L., Hopkins, S.R., Milsom, W.K. "Time domains of the hypoxic ventilatory response in awake ducks: episodic and continuous hypoxia", *Respir Physiol*, 2001a; 124: 117-128.
- Mitchell, G.S. Respiratory plasticity following intermittent hypoxia: a guide for novel therapeutic approaches to ventilatory control disorders. In *Genetic Basis for Respiratory Control Disorders*. 1st ed. Editör: Gaultier, C. New York: Springer. 2007; 291: 306.
- Mitchell, R. A., Loeschcke, H. H., Massion, W. H., & Severinghaus, J. W. Respiratory responses mediated through superficial chemosensitive areas on the medulla. *J Appl Physiol*, 1963; 18: 519-22.

- Morote-Garcia, J.C., Rosenberger, P., Nivillac, N.M., Coe, I.R., Eltzschig, H.K. "Hypoxia-inducible factor-dependent repression of equilibrative nucleoside transporter 2 attenuates mucosal inflammation during intestinal hypoxia", *Gastroenterology*, 2009; 136: 607–618.
- Morris, K.F. ve Gozal, D. "Persistent respiratory changes following intermittent hypoxic stimulation in cats and human beings", *Respir Physiol Neurobiol*, 2004; 140: 1-8.
- Mukandala, G., Tynan, R., Lanigan, S., O' Connor, J.J. "The Effects of Hypoxia and Inflammation on Synaptic Signaling in the CNS", *Brain Sci*, 2016; 6: 1-14.
- Mulkey, D. K., Talley, E. M., Stornetta, R. L., Siegel, A. R., West, G. H., Chen, X., et al. TASK channels determine pH sensitivity in select respiratory neurons but do not contribute to central respiratory chemosensitivity. *J Neurosci*, 2007; 27: 14049-58.
- Mulkey, D. K., Stornetta, R. L., Weston, M. C., Simmons, J. R., Parker, A., Bayliss, D. A., Respiratory control by ventral surface chemoreceptor neurons in rats. *Nat Neurosci*, 2004; 7: 1360-9.
- Nattie, EE. *Central Chemoreceptors, pH, and Respiratory Control*. New York: Wiley-Liss, 1998; p: 560
- Nattie, E. E., & Li, A. CO₂ dialysis in the medullary raphe of the rat increases ventilation in sleep. *J Appl Physiol*, 2001; 90: 1247-57.
- Nattie, E. E., & Li, A. CO₂ dialysis in nucleus tractus solitarius region of rat increases ventilation in sleep and wakefulness. *J Appl Physiol*, 2002; 92: 2119-30.
- Nattie, E., & Li, A. Central chemoreception 2005: a brief review. *Auton Neurosci*, 2006; 126-127: 332-8.
- Nattie, E. E., & Li, A. Retrotrapezoid nucleus lesions decrease phrenic activity and CO₂ sensitivity in rats. *Respir Physiol*, 1994; 97: 63-77.
- Nattie, E. E., Li, A., Mills, J., & Huang, Q. Retrotrapezoid nucleus muscarinic receptor subtypes localized by autoradiography. *Respir Physiol*, 1994; 96: 189-97.
- Nattie, E., & Li, A. Muscimol dialysis in the retrotrapezoid nucleus region inhibits breathing in the awake rat. *J Appl Physiol*, 2000; 89: 153-62.

- Nattie, E., & Li, A. Muscimol dialysis into the caudal aspect of the Nucleus tractus solitarius of conscious rats inhibits chemoreception. *Respir Physiol Neurobiol*, 2008; 164: 394-400.
- Navarrete-Opazo, A., Dougherty, B.J., Mitchell, G.S. “Enhanced recovery of breathing capacity from combined adenosine 2A receptor inhibition and daily acute intermittent hypoxia after chronic cervical spinal injury”, *Exp. Neurol*. 2017; 287: 93–101.
- Nichols, N.L., Dale, E.A., Mitchell, G.S. “Severe acute intermittent hypoxia elicits phrenic long-term facilitation by a novel adenosine-dependent mechanism”, *J Appl Physiol*, 2012; 112: 1678–1688.
- Olson, E.B. ve Dempsey, J.A. “Rat as a model for humanlike ventilatory adaptation to chronic hypoxia”, *J Appl Physiol*, 1978; 44: 763-9.
- Olson, E.B. Jr., Dempsey, J.A., McCrimmon, D.R. “Serotonin and the control of ventilation in awake rats”, *J Clin Invest*, 1979; 64: 689–693.
- Pamenter, M.E., Carr, J.A., Go, A., Fu, Z., Reid, S.G., Powell, F.L. “Glutamate receptors in the nucleus tractus solitarius contribute to ventilatory acclimatization to hypoxia in rat”, *J Physiol (Lond)*, 2014a; 592: 1839–1856.
- Pamenter, M.E., Nguyen, J., Carr, J.A., Powell, F.L. “The effect of combined glutamate receptor blockade in the NTS on the hypoxic ventilatory response in awake rats differs from the effect of individual glutamate receptor blockade”, *Physiol Rep*, 2014b; 2.
- Pamenter, M.E., Powell, F.L. “Time Domains of the Hypoxic Ventilatory Response and Their Molecular Basis”, American Physiological Society. *Compr Physiol*, 2016; 6: 1345-1385.
- Pamenter, M.E. ve Powell, F.L. “Signalling mechanisms of long term facilitation of breathing with intermittent hypoxia”, *F1000 Prime Reports*, 2013; 5: 23.
- Pan, L. G., Forster, H. V., Martino, P., Strecker, P. J., Beales, J., Serra, A., et al. Important role of carotid afferents in control of breathing. *J Appl Physiol*, (1998; 85: 1299-306.

- Panatier, A., Vallée, J., Haber, M., Murai, K.K., Lacaille, J.C., Robitaille, R. "Astrocytes are endogenous regulators of basal transmission at central synapses", *Cell*, 2011; 146: 785–798.
- Pappenheimer, J. R., Fencl, V., Heisy, S. R., & Held, D. Role of cerebral fluids in control of respiration as studied in unanesthetized goats. *Am J Physiol*, 1965; 208: 436-50.
- Parkinson, F.E., Xiong, W., Zamzow, C.R. "Astrocytes and neurons: different roles in regulating adenosine levels", *Neurol Res*, 2005; 27: 153–160.
- Pascual, O., Ben Achour, S., Rostaing, P., Triller, A., Bessis, A. "Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission", *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012; 109: E197–E205.
- Pena, F. ve Ramirez, J.M. "Endogenous activation of serotonin-2A receptors is required for respiratory rhythm generation in vitro", *J Neurosci*. 2002; 22: 11055–11064.
- Peng, Y.J. ve Prabhakar, N.R. "Effect of two paradigms of chronic intermittent hypoxia on carotid body sensory activity", *J Appl Physiol*. 2004; 96: 1236-1242.
- Phillis, J.W., O'Regan, M.H., Perkins, L.M. "Adenosine 5'-triphosphate release from the normoxic and hypoxic in vivo rat cerebral cortex". *Neurosci Lett*, 1993; 151: 94–96.
- Popa, D., Fu, Z., Go, A., Powell, F.L. "Ibuprofen blocks time-dependent increases in hypoxic ventilation in rats", *Respir Physiol Neurobiol*, 2011; 178: 381–386.
- Powell, F.L., Milsom, W.K., Mitchell, G.S. "Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Respir Physiol*", 1998; 112: 123–34.
- Powell FL. Control of breathing. In: Berne RM, Koeppen BM, Stanton BA, eds. *Physiology*. 5 th edition United States of America, Mosby 2004; 22: 289-303.
- Putnam RW. Intracellular pH regulation of neurons in chemosensitive and nonchemosensitive areas of brain slices. *Respir Physiol* 2001; 129: 37–56.
- Putnam, R. W., Filosa, J. A., & Ritucci, N. A. Cellular mechanisms involved in CO₂ and acid signaling in chemosensitive neurons. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004; 287: C1493-526.

- Rahn, H. ve Otis, A.B. "Man's respiratory response during and after acclimatization to high altitude. *Am J Physiol*, 1949; 157: 445-62.
- Rekling JC, Feldman JL. Pre-Bötzinger complex and pacemaker neurones: hypothesised site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol*. 1998; 60: 385–405.
- Richter DW, Spyer KM. Studying rhythmogenesis of breathing: comparison of in vivo and in vitro models. *Trends Neurosci* 2001; 24: 464–72.
- Robbins, P. A. Evidence for interaction between the contributions to ventilation from the central and peripheral chemoreceptors in man. *J Physiol*, 1988; 401: 503-18.
- Roy, A.A., Nunn, C., Ming, H., Zou, M.X., Penninger, J., Kirshenbaum, L.A., Dixon, S.J., Chidiac, P. "Up regulation of endogenous RGS2 mediates cross-desensitization between Gs and Gq signaling in osteoblasts", *J Biol Chem*, 2006; 281: 32684-32693.
- Rybak, I.A., Abdala, A.P., Markin, S.N., Paton, J.F., Smith, J.C. Spatial organization and state-dependent mechanisms for respiratory rhythm and pattern generation. *Prog. Brain Res*. 2007; 165: 201–220.
- Sanchez-Perez, A., Llansola, M., Cauli, O., Felipe, V. "Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. II. Signaling pathways and physiological modulators regulating NMDA receptor function", *Cerebellum*, 2005; 4: 162-170.
- Satriotomo, I., Dahlberg, J.M., Dale-Nagle, E.A., Mitchell, G.S. "Repetitive acute intermittent hypoxia increases neurotrophic and growth factor expression in non-respiratory motor neurons", *FASEB J*, 2009; 23: 791.7.
- Satriotomo, I., Dale, E.A., Dahlberg, J.M., Mitchell, G.S. "Repetitive acute intermittent hypoxia increases expression of proteins associated with plasticity in the phrenic motor nucleus", *Exp Neurol*, 2012; 237: 103-115.
- Schlaefke, M. E., See, W. R., & Loeschcke, H. H. Ventilatory response to alterations of H⁺ ion concentration in small areas of the ventral medullary surface. *Respir Physiol*, 1970; 10: 198-212.

- Severinghaus, J. W., Mitchell, R. A., Richardson, B. W., & Singer, M. M. Respiratory control at high altitude suggesting active transport regulation of CSF pH. *J Appl Physiol*, 1963; 18: 1155-66.
- Severinghaus, J. W., & Carcelen, A. Cerebrospinal fluid in man native to high altitude. *J Appl Physiol*, 1964; 19: 319-21.
- Smith, J.C., Abdala, A.P., Koizumi, H., Rybak, I.A., Paton, J.F. Spatial and functional architecture of the mammalian brain stem respiratory network: ahierarchy of three oscillatory mechanisms. *J. Neurophysiol.* 2007; 98: 3370–3387.
- Smith, C. A., Rodman, J. R., Chenuel, B. J., Henderson, K. S., & Dempsey, J. A. Response time and sensitivity of the ventilatory response to CO₂ in unanesthetized intact dogs: central vs. peripheral chemoreceptors. *J Appl Physiol*, 2006; 100: 13-9.
- Smith, C. A., Jameson, L. C., Mitchell, G. S., Musch, T. I., & Dempsey, J. A. Central-peripheral chemoreceptor interaction in awake cerebrospinal fluid-perfused goats. *J Appl Physiol*, 1984; 56: 1541-9.
- Solomon IC, Halat TJ, El-Maghrabi MR, O'Neal MH III. Localization of connexin26 and connexin32 in putative CO₂-chemosensitive brainstem regions in rat. *Respir Physiol* 2001; 129: 101–21.
- Solomon, I. C., Edelman, N. H., & O'Neal, M. H. CO₂/H⁺ chemoreception in the cat pre-Bötzinger complex in vivo. *J Appl Physiol*, 2000; 88: 1996-2007.
- Somogyi, R. B., Preiss, D., Vesely, A., Fisher, J. A., & Duffin, J. Changes in respiratory control after 5 days at altitude. *Respir Physiol Neurobiol*, 2005; 145: 41- 52.
- St Croix, C. M., Cunningham, D. A., & Paterson, D. H. Nature of the interaction between central and peripheral chemoreceptor drives in human subjects. *Can J Physiol Pharmacol*, 1996; 74: 640-6.
- Stokes, J.A., Arbogast, T.E., Moya, E.A., Fu, Z., Powell, F.L. “Minocycline blocks glial cell activation and ventilatory acclimatization to hypoxia”, *J Neurophysiol.* 2017; 117: 1625-35.

- Tadmouri, A., Champagnat, J., Morin-Surun, M.P. “Activation of microglia and astrocytes in the nucleus tractus solitarius during ventilatory acclimatization to 10% hypoxia in unanesthetized mice”, *J Neurosci Res*, 2014; 92: 627–633.
- Takakura A C T et al. *J Physiol* 2006; 572: 503-523.
- Terada, J., Nakamura, A., Zhang, W. “Ventilatory long-term facilitation in mice can be observed during both sleep and wake periods and depends on orexin”, *J Appl Physiol*, 2008; 104: 499-507.
- Van Beek, J. H., Berkenbosch, A., de Goede, J., & Olievier, C. N. Effects of brain stem hypoxaemia on the regulation of breathing. *Respir Physiol*, 1984; 57: 171- 88.
- Vardhan, A., Kachroo, A., Sapru, H.N. “Excitatory amino acid receptors in commissural nucleus of the NTS mediate carotid chemoreceptor responses”, *Am J Physiol*, 1993; 264: 41-50.
- Vesce, S., Bezzi, P., Volterra, A. “The active role of astrocytes in synaptic transmission”, *Cell, Mol Life Sci*, 1999; 56: 991–1000.
- Vinit, S., Satriotomo, I., MacFarlane, P.M., Mitchell, G.S. “Enhanced phrenic long-term facilitation (pLTF) following repetitive acute intermittent hypoxia”, *FASEB J*, 2010; 799: 15.
- Wallman-Johansson, A. ve Fredholm, B.B. “Release of adenosine and other purines from hippocampal slices stimulated electrically or by hypoxia/hypoglycemia. Effect of chlormethiazole”, *Life Sci*, 1994; 55: 721–728.
- Wang W, Tiwari JK, Bradley SR, Zaykin RV, Richerson GB. Acidosis-stimulated neurons of the medullary raphe are serotonergic. *J Neurophysiol* 2001; 85: 2224– 35.
- Washburn CP, Sirois JE, Talley EM, Guyenet PG, Bayliss DA. Serotonergic raphe neurons express TASK channel transcripts and a TASK-like pH- and halothane-sensitive K⁺ conductance. *J Neurosci* 2002; 22: 1256–65.
- Weil, J. V., Byrne-Quinn, E., Sodal, I. E., Friesen, W. O., Underhill, B., Filley, G. F., et al. Hypoxic ventilatory drive in normal man. *J Clin Invest*, 1970; 49: 1061- 72.

- West, J.B., *Respiratory Physiology: the essentials* 9th Edition, 2012; pg:125-140).
- West, J.B. “Rate of ventilatory acclimatization to extreme altitude”, *Respir Physiol*, 1988; 74: 323-33.
- Wiemann M, Bingmann D. Ventrolateral neurons of medullary organotypic cultures: intracellular pH regulation and bioelectric activity. *Respir Physiol* 2001; 129: 57–70.
- Wilkinson, K.A., Huey, K., Dinger, B., He, L., Fidone, S., Powell, F.L. “Chronic hypoxia increases the gain of the hypoxic ventilatory response by a mechanism in the central nervous system”, *J Appl Physiol*, 2010; 109: 424–430.
- Wilkinson, K.A., Fu, Z., Powell, F.L. “Ventilatory effects of substance P-saporin lesions in the nucleus tractus solitarii of chronically hypoxic rats”, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011; 301: 343–350.
- Winkworth AL, Davis PJ, Adams RD, Ellis E. Breathing patterns during spontaneous speech. *J Speech Hear Res*. 1995; 38: 124–144.
- Xu, F., Zhang, Z., & Frazier, D. T. Microinjection of acetazolamide into the fastigial nucleus augments respiratory output in the rat. *J Appl Physiol*, 2001; 91: 2342-50.
- Zhang, Y., McGuire, M., White, D.P., Ling, L. “Serotonin receptor subtypes involved in vagus nerve stimulation-induced phrenic long-term facilitation in rats”, *Neurosci Lett*, 2004; 363: 108-111.



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 12.09.2018

Toplantı Sayısı: 08

Karar No:18/115

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 12.09.2018 tarihinde Prof. Dr. Coşkun TEZ 'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Nalan Hakime NOĞAY	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi	KATILMADI
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	KATILMADI
Özge AL	Arş. Gör. Dr.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'dan Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAI tarafından sunulan "Kronik Sürekli Hipoksi Boyunca Beyin Sapı NTS Bölgesi Üzerinde Plastisite Bağımlı İnflamatuar Sinyal Mekanizmasının Sıçanlarda Araştırılması" başlık proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamının sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 12.09.2018

Etik Kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Coşkun TEZ

İmza :

KRONİK SÜREKLİ HİPOKSİ BOYUNCA BEYİN SAPI NTS BÖLGESİ ÜZERİNDE PLASTİSİTE BAĞIMLI İNFLAMATUAR SİNYAL MEKANİZMASININ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%**3**

BENZERLİK ENDEKSI

%**3**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BIRINCIL KAYNAKLAR



sagens.erciyes.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**2**



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

Yayın

<%**1**



ŞAHİN, Engin, ERGÜN, Pınar, AYDIN, Gülümser, ERDOĞAN, Yurdanur and ÇAĞLAR, Atalay. "Amfizemde EMG ile değerlendirilen diyafragma kontraktilesinin solunum fonksiyonları ve dispne algılama derecesi ile korelasyonu", TUBITAK, 2003.

Yayın

<%**1**



klinischesportmedizin.de

İnternet Kaynağı

<%**1**



www.jetr.org.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Seher Berna KIRDÖK TANŞU

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 21 Nisan 1995, KAYSERİ

Medeni Durumu: Evli

Tel: 05536558652

email: berna.krdk@gmail.com

Yazışma Adresi: Sahabiye Mah. Kanal Cad. Büyükbaş Apt. No:7/3
Kocasinan/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Tıp Fizyoloji ABD	
Lisans	AEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	2017
Lise	Nuh Mehmet Baldöktü Anadolu Lisesi, Kayseri	2013

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1.Tanşu Kırdök S.B., Tanrıverdi H., Bağlıtaş B., Yavuz F., Başaran K.E., " Adenozin 2A reseptör agonist ve antagonist uygulamasının hipoksik ventilatuvar cevap üzerine etkisi", 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Aydın, Türkiye, 31 Ekim-3 Kasım 2019