

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİK VE LAKTASYON DÖNEMİNDE  
NİKOTİNE MARUZ KALAN WİSTAR  
ALBİNO SIÇANLARIN YAVRULARININ  
AKCİĞERLERİNDE MEYDANA GELEN  
DEĞİŞİKLİKLER VE BU DEĞİŞİKLİKLER  
ÜZERİNE MELATONİNİN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Azibe YILDIZ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM  
DALI**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nigar VARDI**

**MALATYA-2012**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GEBELİK VE LAKTASYON DÖNEMİNDE  
NİKOTİNE MARUZ KALAN WİSTAR  
ALBİNO SIÇANLARIN YAVRULARININ  
AKCİĞERLERİNDE MEYDANA GELEN  
DEĞİŞİKLİKLER VE BU DEĞİŞİKLİKLER  
ÜZERİNE MELATONİNİN ETKİLERİ**

**Azibe YILDIZ**

**Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Nigar VARDI**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2011/64  
proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2012**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı/Histoloji-Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Yrd.Doç.Dr. Hilal SAPMAZ



Danışman

Prof.Dr. Nigar VARDI



Üye

Doç.Dr. Mehmet GÜL



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2012 tarih ve 2012/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sedat YILDIZ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve yoğun tez çalışmamın bütün aşamalarında, büyük bir sabır ve anlayış göstererek, her zaman yanımda bulunan değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, hiçbir konuda benden desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ali OTLU'ya, fikirleri ile bana destek olan değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet GÜL ve Doç. Dr. Meltem Kuruş'a, çalışmamın biyokimyasal analizlerinde büyük emeği geçen Doç. Dr. Burhan ATEŞ ve Merve Gökşin KARAASLAN'a ve bütün bölüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca projenin gerçekleştirilmesi için maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı, gebelik ve laktasyon dönemlerinde nikotine maruz kalan sıçanların yavrularının akciğerlerinde meydana gelen histolojik ve biyokimyasal değişikliklerin saptanması ve bu değişiklikler üzerine, gebelik ve laktasyon süresince uygulanan melatoninin koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

Çalışmada, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 22 adet Wistar albino dişi sıçan ve 12 adet erkek sıçan kullanıldı. Dişi sıçanlar, erkek sıçanlar ile çiftleştirildi ve vajinal smearda spermin gözleendiği tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi. Gebe sıçanlar rastgele 1. grup: Kontrol, 2. grup: Serum Fizyolojik (SF), 3. Grup: Etil Alkol (EA), 4. grup: Melatonin (MEL), 5. grup: Nikotin (NT), 6. grup: NT + MEL olarak 6 gruba ayrıldı. Doğan yavrular, her grupta 10 sıçan olacak şekilde düzenlendi. Deney sonunda yavru sıçanların (22 günlük) vücut ağırlıkları ölçüldü. Ardından ketamin ve ksilazin (5 mg/kg-50 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edildiler. Sıçanların akciğerleri alınarak, ağırlıkları tartıldı. Akciğerin belirli bir kısmı histolojik inceleme için, diğer kısmı biyokimyasal analizler için kullanıldı.

NT grubunda yavru sıçanların vücut ve akciğer ağırlıkları, kontrol ve sham (SF, EA ve MEL) grupları ile benzer bulundu. Histolojik incelemelerde, NT grubuna ait akciğerlerde, genel olarak alveol gelişiminin yetersiz olduğu ve oluşan alveollerin ise yer yer birleşerek geniş hava boşlukları oluşturduğu izlendi. Bu grupta, alveoler makrofaj ve mast hücre sayısının kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu saptandı ( $P<0.0001$ ). Biyokimyasal analizlerde, NT grubunda MDA (malondialdehit) seviyesinin kontrol ve sham gruplarına göre önemli şekilde yükselmiş olduğu gözleendi ( $P<0.0001$ ). Diğer yandan MEL uygulamasının, NT'nin neden olduğu histolojik ve biyokimyasal hasarı düzelttiği izlendi. Septasyon ve buna bağlı olarak alveol gelişimindeki artış NT + MEL grubunda belirgindi. Bu grupta alveol sayısının NT grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu saptandı ( $P<0.0001$ ). Bununla beraber NT maruziyetine bağlı olarak yükselmiş olan alveoler makrofaj ve mast hücre sayısının MEL tedavisi ile belirgin şekilde azalmış olduğu gözleendi ( $P<0.0001$ ). Ayrıca biyokimyasal analizlerde MEL'in MDA seviyesini önemli şekilde düşürdüğü tespit edildi ( $P<0.0001$ ).

Sonuç olarak bu çalışma, gebelik ve laktasyon boyunca maternal NT maruziyetinin, yavruların akciğer gelişimi üzerinde önemli yapısal değişikliklere neden olduğunu, antioksidan özelliği bilinen MEL'in de NT' nin neden olduğu akciğer hasarını hafiflettiğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:**

**Gebelik, Laktasyon, Nikotin, Melatonin**

## ABSTRACT

### **The alterations in the lung of newborns of Wistar albino rats exposed to nicotine during pregnancy and lactation periods and the effects of melatonin on these alterations**

The aim of this study is to detect histological and biochemical changes in lungs of rats offspring exposed to nicotine during pregnancy and lactation, and to evaluate the protective effects of melatonin that is implemented during pregnancy and lactation on these changes.

In this study, 22 female rats and 12 male Wistar albino rats which were obtained from Inonu University the Experimental Animal Production and Research Center were used. Female rats mated with male rats and, it was considered as embryonik day 0 when the sperm was observed in vaginal smear. Pregnant rats were randomly divided into 6 groups: 1st group: Control, 2nd group: Physiological Serum (SF), 3rd Group: Ethyl Alcohol (EA), 4th group: Melatonin (MEL), 5th group: Nicotine (NT), 6th group: NT + MEL. Each group has been established by 10 rats offspring separately. At the end of the experiment, body weights of rats offspring (22 days old) were measured. Then they were sacrificed under ketamine and xylazine (5 mg/kg-50 mg / kg) anesthesia. The lungs of rats were taken and weighed. A portion of the lung was used for histological examination, and the other part of the lung was used for biochemical analysis.

It was found out that body and lung weights of rats offspring in NT group were similar to the control and sham (SF, EA and MEL) groups. In the histological examination, general inadequate alveolar development and resulting large air gaps formed by combining alveoli were observed in the lungs of the NT group. In this group, the number of alveolar macrophages and mast cells compared with control and sham groups, were found to be significantly increased ( $P < 0.0001$ ). In the biochemical analysis, MDA (malondialdehyde) level in the NT group was found to be significantly raised in comparison to control and sham groups ( $P < 0.0001$ ). On the other hand, it was observed that the application of MEL corrects histological and biochemical damage caused by the NT. Septation and accordingly an increase in the development of alveolar were evident in NT + MEL group. In this group, the number

of alveoli were found to be significantly higher than that in the NT group ( $P < 0.0001$ ). However, increased number of alveolar macrophages and mast cells due to the exposure to NT were found to be significantly reduced because of MEL treatment ( $P < 0.0001$ ). Moreover, in biochemical analyzes, it was revealed that MEL caused a significant decrease in the level of MDA ( $P < 0.0001$ ).

In conclusion, this study shows that maternal NT exposure during pregnancy and lactation causes significant structural changes on the lung development of pups, and MEL which is also known as an antioxidant has also ameliorated the lung injury caused by NT.

**Key Words:**

**Pregnancy, Lactation, Nicotine, Melatonin**



## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Akciğer Anatomisi .....	3
2.1.1. Akciğerlerin Yarıkları ve Lobları.....	5
2.2. Akciğer Gelişimi .....	9
2.3. Akciğer Histolojisi .....	13
2.4. Maternal Sigara Kullanımı .....	19
2.5. Nikotin.....	20
2.5.1. Nikotinin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri .....	21
2.5.2. Nikotinin Emilimi .....	21
2.5.3. Nikotinin Dağılımı .....	22
2.5.4. Nikotinin Etki mekanizması .....	22
2.5.5. Nikotin Metabolizması .....	23
2.5.6. Nikotin Atılımı .....	24
2.5.7. Maternal Nikotin Maruziyeti .....	24
2.5.8. Nikotin ve Akciğer .....	25
2.6. Melatonin.....	26
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>28</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	28
3.2. Akciğerin Alınması .....	29
3.3. Histolojik Takip ve Boyama.....	29
3.4. Histolojik Değerlendirme .....	31

3.5. Biyokimyasal Analizler .....	31
3.6. İstatiksel Analiz .....	32
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>33</b>
4.1. Vücut Ağırlıkları.....	33
4.2. Akciğer Ağırlıkları.....	33
4.3. Işık Mikroskopik Bulgular .....	34
4.4. Biyokimyasal Bulgular.....	56
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>64</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>65</b>
<b>ETİK KURUL KARARI.....</b>	<b>78</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>79</b>

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>A.</b>	: Arter
<b>Dk.</b>	: Dakika
<b>EA</b>	: Etil Alkol
<b>H-E</b>	: Hematoksilen-Eozin
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>İp.</b>	: İntraperitoneal
<b>MEL</b>	: Melatonin
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>NT</b>	: Nikotin
<b>nAChR</b>	: Nikotinik asetilkolin reseptörü
<b>mmol</b>	: Milimol
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>PAS</b>	: Periodic Acid Schiff
<b>PBS</b>	: Phosphate Buffered Saline
<b>Rpm</b>	: Revolutions per minute (devir sayısı/dk.)
<b>SF</b>	: Serum fizyolojik
<b>Sn.</b>	: Saniye
<b>SE.</b>	: Standart Error
<b>TBA</b>	: Tiyobarbiturik Asit
<b>TCA</b>	: Trikloroasetik Asit
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>V.</b>	: Ven
<b>w/v</b>	: Weight in volume
<b>X</b>	: Objektif büyütmesi
<b>x</b>	: Aritmetik ortalama
<b>µl</b>	: Mikrolitre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Grafik 1.** Grupların ortalama alveol sayıları.

**Grafik 2.** Grupların ortalama alveoler makrofaj sayısı.

**Grafik 3.** Grupların ortalama mast hücre sayısı.

**Grafik 4.** Grupların MDA seviyesi.

**Şekil 1:** Sol akciğer; radix pulmonis'in, hilum pulmonis'e bağlandığı yerden geçen sagittal kesit.

**Şekil 2:** Sağ akciğer; radix pulmonis'in, hilum pulmonis'e bağlandığı yerden geçen sagittal kesit.

**Şekil 3:** A. Yaklaşık 25. günlük, B. 5 haftalık bir embriyonun solunum divertikülü

**Şekil 4:** Trakea ve akciğer gelişiminin evreleri A. 5. hafta, B. 6. hafta, C. 8. hafta

**Şekil 5:** Akciğer gelişim aşamalarını gösteren histolojik kesitlerin basit çizimleri

**Resim 1:** Kontrol grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveollerin (ince ok) görünümü. H-E X10.

**Resim 2:** Kontrol grubu; alveoller (oklar). H-E X40.

**Resim 3:** Kontrol grubu; alveol yüzeyine yakın yerleşmiş alveoler makrofajlar (oklar) izlenmekte. PAS X40.

**Resim 4:** Kontrol grubu; alveol yüzeyine yakın yerleşmiş alveoler makrofajlar (oklar) izlenmekte. PAS X40.

**Resim 5:** Kontrol grubu; granülleri mavi-mor renkte boyanmış mast hücrelerinin görünümü. Toluidin mavisi X100.

**Resim 6:** SF grubu: bronşiyol (yıldız) ve alveoller (oklar). H-E X10.

**Resim 7:** EA grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveollerin (kalın ok) görünümü. H-E X10.

**Resim 8:** MEL grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveoller (kalın ok) kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte . H-E X10.

**Resim 9:** SF grubu; alveol lümeni içerisinde izlenen alveoler makrofajlar (oklar). PAS; x40.

**Resim 10:** EA grubu; alveol lümeninde alveoler makrofajlar izlenmekte (oklar). PAS X40.

**Resim 11:** MEL grubu; alveoler makrofajların görünümü(oklar) kontrol ve diğer

sham gruplarına benzer olarak izlenmekte. PAS X40.

**Resim 12:** SF grubu; bronşiyol ve damar duvarında mast hücrelerinin görünümü (oklar). Toluidin mavisi X20.

**Resim 13:** EA grubu; bronşiyol ve damar duvarındaki mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi X20.

**Resim 14:** MEL grubu; bronşiyol duvarında izlenen mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi X20.

**Resim 15:** NT grubu; alveol gelişiminin olmadığı alanlar (ince ok), amfizemik alanlar (yıldızlar) ve tam açılmamış bronşiyoller (kalın ok). H-E X10.

**Resim 16:** NT grubu; alveoller düzensiz olarak izlenmekte. H-E X40.

**Resim 17:** NT grubu; bronşiyol lümeninde gruplar halinde izlenen alveoler makrofajlar (oklar). PAS X40.

**Resim 18:** NT grubu; alveol lümeni içerisinde çok sayıda ve gruplar halinde izlenen alveoler makrofajların görünümü (oklar). PAS X40.

**Resim 19:** NT grubu; bronşiyol duvarında çok sayıda izlenen mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi X20.

**Resim 20:** NT +MEL grubu; terminal bronşiyol (yıldız), respiratuar bronşiyol (kalın ok) ve alveoller (ince ok) izlenmekte. H-E 10.

**Resim 21:** NT +MEL grubu; alveollerin görünümü. H-E X40.

**Resim 22:** Nikotin + MEL grubu; alveoler makrofajlar (oklar). PAS X40.

**Resim 23:** Nikotin + MEL grubu; bronşiyol duvarında mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi X20.

**TABLolar DİZİNİ**

- Tablo I** : Grupların vücut ağırlıkları ve karşılaştırması
- Tablo II** : Grupların akciğer ağırlıkları ve karşılaştırması
- Tablo III** : Grupların amfizem skorlama bulguları ve karşılaştırması
- Tablo IV** : Grupların alveolarizasyon kaybı skorlama bulguları ve karşılaştırması
- Tablo V** : Grupların ortalama alveol sayılarının karşılaştırılması.
- Tablo VI** : Grupların ortalama alveoler makrofaj sayılarının karşılaştırılması.
- Tablo VII** : Grupların ortalama mast hücre sayılarının karşılaştırılması.
- Tablo VIII** : Grupların MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

## 1. GİRİŞ

Fetal büyüme ve gelişme, fetal doku ve organların farklılaşması, olgunlaşması ve büyümesi ile karakterize bir durumdur (1). Maternal çevre, fetal büyüme ve gelişmeyi etkileyen başlıca faktörlerden biridir ve çevrenin uygun olmaması halinde, fetal büyüme ve gelişme olumsuz olarak etkilenebilir (2).

Fetusun büyüme ve gelişmesini etkileyen pek çok faktör olmakla birlikte, sigara içilmesi ve sigara dumanına maruz kalınması, hem yaygınlığı hem de önlenebilir olması bakımından oldukça önemlidir (3).

Kadınlar arasında sigara kullanımı, özellikle gelişmekte olan ülkelerde giderek artmaktadır. Kadınlarda gelişen sigara bağımlılığı, gebelik sürecinde de devam edebilmektedir. Yurt dışında yapılan geniş çaplı bir çalışmada, yaklaşık beş kadından birisinin gebe iken sigara kullandığı belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise, genel olarak dört ya da beş kadından birisi gebeliğinde sigara içmektedir (4). Gebelikte sigara içilmesi veya ortamdaki sigara dumanının solunması, sadece annenin sağlığına zarar vermekle kalmaz, aynı zamanda gebelik ile ilgili komplikasyonların ortaya çıkmasına ve yeni doğanda ciddi sağlık problemlerine de yol açar (5, 6).

Sigara dumanında 4000'den fazla toksik madde vardır (3, 7). Sigara bağımlılığına neden olduğu düşünülen NT (8), sigara dumanının en önemli bileşenlerinden biridir (9). NT plasentayı geçer ve fetal dolaşıma karışır (10). Anne sütüne de geçen NT (11), anne sütüyle beslenen bebeğin direkt olarak etkilenmesine neden olur (11, 12).

NT'nin oksidan-antioksidan dengesini bozarak hasar yaptığıyla ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Deneysel çalışmalarda, ratlara NT uygulamasının; oksidatif stres belirteçlerinde yükselmeye, serbest radikal süpürücü enzimlerin aktivitesinde düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (13). NT bu etkisini, nikotinik asetil kolin reseptörlerini bağlayarak gösterir (14, 15). NT fetal dolaşıma girdikten sonra, fetal akciğerde nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) ile etkileşime girerek, yavrunun akciğer yapısında ve fonksiyonunda değişikliklere neden olur (16).

MEL esansiyel bir aminoasit olan triptofandan oluşan bir indolamindir (17). Lipid membranlarını stabilize ederek, dokularda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan

oksidatif hasarı önler. Güçlü bir antioksidan olan MEL, direkt bir serbest radikal süpürücüsüdür, indirekt olarak ise antioksidan enzimlerin aktivasyonunu stimüle edicidir (18).

Bu çalışmada, maternal NT'e maruz kalan sıçan yavrularının akciğerlerinde, oluşacak yapısal ve biyokimyasal değişikliklerin saptanması ve bu değişiklikler üzerine MEL'nin iyileştirici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Akciğer Anatomisi

Göğüs boşluğunda arkada columna vertebralis'ten, önde göğüs duvarına kadar uzanan akciğerler, plevral keseler içinde olup birbirlerinden mediastinum, karın organlarından da diyafram ile ayrılmıştır (19). Akciğerler sağ ve sol olmak üzere iki adettir. Sağ akciğer yaklaşık 600 gram, sol akciğer ise 550 gramdır (20). Sağ akciğer, karaciğerin sağ tarafta yukarı doğru daha fazla uzaması nedeniyle, sol akciğerden yaklaşık 2.5 cm kadar daha kısadır. Fakat kalbin büyük kısmının da sol tarafta bulunması nedeniyle sağ akciğer sol akciğerden daha geniştir. Ayrıca sağ akciğerin toplam kapasitesi ve ağırlığı, sol akciğerden biraz fazladır (20, 21).

Tamamıyla doldurulmuş bir akciğerin içindeki hava ile birlikte hacmi 6500 cm<sup>3</sup> kadardır (21). Gaz alışverişinin yapılmadığı yerler de dahil olmak üzere, akciğerin iç yüzeyi yaklaşık 70-80 m<sup>2</sup> iken, dış yüzlerinin alanı 1 m<sup>2</sup> dir (21,22).

Akciğerler yumuşak, hafif ve elastiki olup, süngerimsi bir yapıya sahiptirler (20, 19). Renginde, intrauterin yaşamdan yetişkinlik yaşına kadar bazı değişiklikler görülür. Doğumdan önce kahverengi-kırmızı olan akciğerler, doğumda ilk soluk alma ile içine fazla miktarda kan girdiğinden pembemsi bir renk alır (19). Yaş ilerledikçe havadaki kir nedeniyle biraz gri renk alır. Bu gri renk, zamanla siyah renge dönüşür (21).

#### Akciğerin Tepesi ve Yüzleri

Koni şeklinde olan akciğerlerin apex pulmonis adı verilen bir tepesi, basis pulmonis adı verilen bir tabanı, facies costalis ve facies mediastinalis adı verilen yüzleri vardır (20, 23).

**Apex Pulmonis;** künt olan apex pulmonis, arka tarafta birinci kaburga boynu seviyesinde bulunmasına karşılık, ön tarafta birinci kaburganın sternal ucu seviyesinden yaklaşık 2.5-5 cm yukarıda bulunur (20, 21, 22).

**Basis Pulmonis;** geniş olan akciğer tabanı, diyafram kubbesine uygun şekilde konkavdır (19, 21, 22). Facies diaphragmatica olarak da adlandırılan basis pulmonis diyafram aracılığı ile sağ tarafta karaciğerin sağ lobu ile (20, 22); sol tarafta ise karaciğerin sol lobu, midenin fundusu ve dalak ile komşuluk yapar (20, 21).

**Facies costalis;** göğüs duvarının iç yüzü ile komşuluk yapan facies costalis, akciğerlerin en büyük yüzüdür (20, 21). Fikse edilmiş akciğerin bu yüzünde kaburgaların bıraktığı izler görülür (20, 21, 22).

**Facies mediastinalis,** akciğerlerin mediastinuma, dolayısıyla birbirlerine bakan iç yüzleridir (21, 22). Bu yüzün omurlarla komşu olan arka kısmına pars vertebralis (21, 22), pars vertebralis'in önünde kalan kısma ise pars mediastinalis denir (22). Visseral plevra ile kaplı olan bu yüz, plevra parietalis'in mediastinal bölümü ile temas halindedir. Facies mediastinaliste, mediastinumda yer alan organların oluşturduğu çukur ve oluklar bulunur. Bunlardan en büyüğü her iki akciğerde de görülen kalbi içine alan impressio cardiaca'dır (22). Kalbin 2/3'ü toraks boşluğunun sol tarafında yerleşmiş olduğundan, sol akciğerin mediastinal konkavitesi daha derindir (20).

İmpressio cardiaca'nın arka ve üst kısmında yer alan ve akciğerin damar, sinir ve bronşlarının giriş ve çıkış kapısı olan yapıya hilum pulmonis (20, 21, 22), hilum pulmonis'ten girip çıkan oluşumların tümüne radix pulmonis denir (19, 21).

**Radix Pulmonis;** akciğer sapı olarak bilinen bu yapı, hilum pulmonis'e bağlanır (21). İçerisinde akciğere giren ve çıkan yapılardan bronkuslar, arteria (a) ve vena (v) pulmonalisler, lenf damarları, a. bronchialis ve sinirler bulunur. Plevra, radix pulmonis'i bir kılıf şeklinde sarar. Bu kılıf, mediastinal plevrayı visseral plevraya bağlar (21, 22). Radix pulmonis ve tutunduğu hilum pulmonis, mediastinal yüzün hemen hemen ortasında bulunur (21).

Radix pulmonis'te bulunan yapıların ön-arka yönde dizilimi her iki akciğerde aynı iken, yukarıdan aşağıya doğru dizilimi sağ ve sol akciğerde farklıdır. Her iki tarafta v. pulmonalis'ler önde, a. pulmonalis'ler ortada, bronkus da arkada bulunur. Sağ radix pulmonis'te lobus superior'a ait bronkus yukarıda, a. pulmonalis ise bunun biraz aşağısında bulunur. Bunun da altında orta ve alt loblara ait bronkuslar ve en altta da v. pulmonalis bulunur. Sol radix pulmonis'te a. pulmonalis yukarıda, bronkus ortada, v. pulmonalis de aşağıda bulunur (21, 22).

#### **Akciğerin Kenarları**

Margo anterior, margo posterior ve margo inferior olmak üzere üç kenarı vardır (19, 22, 23).

**Margo anterior;** ince-keskin olan (19, 20) ve pericardium'un ön yüzünü kısmen örten (21) bu kenar, facies costalis ile facies mediastinalis arasında yer alır (19, 20, 22). Sol akciğerin ön kenarında, kalpten dolayı, incisura cardiaca adı verilen bir çentik bulunur (20, 21). Bu çentik 4.-6. intercostal aralık seviyesindedir (20).

**Margo inferior;** facies costalis'i çepeçevre saran (20) margo inferior'un facies mediastinalis ve facies diafragmatica arasında kalan kısmı künt, basis pulmonis ile facies costalis'i ayıran kısmı ince ve keskindir (20, 21).

**Margo posterior;** bu kenar kalın ve künt olup, torakal vertebraların yan taraflarında bulunan derin paravertebral oluk içinde yer alır (20, 21).

### **2.1.1. Akciğerlerin Yarıkları ve Lobları**

Akciğerler fissura adı verilen yarıklarla loblara ayrılır. Sağ akciğerde iki fissura ve üç lob, sol akciğerde ise bir fissura ve iki lob bulunur (20).

Sağ akciğerde bulunan fissura obliqua ve fissura horizontalis ile sağ akciğer; lobus superior, lobus medius ve lobus inferior olmak üzere üç loba ayrılır (19, 22).

Sol akciğer, fissura obliqua ile lobus superior ve lobus inferior olmak üzere iki loba ayrılır (19, 20, 21). Apex pulmonis, kostal yüzün bir kısmı, ön kenar ve mediastinal yüzün büyük bir bölümü lobus superior'a aittir. Lobus inferior daha büyük olup, kostal yüzün geniş bir kısmını, mediastinal yüzün arka kısmını ve tabanın hemen hemen tamamını oluşturur (21, 22).

### **Akciğer Segmentleri**

Her bir bronchus segmentalis ve ondan sonra gelen solunum yolları (bronchiolus lobularis, bronchiolus terminalis, bronchiolus respiratorius, ductus alveolaris, saccus alveolaris ve alveolus pulmonis) bir akciğer segmentini (segmentum bronchopulmonale) oluşturur (20). Akciğer segmentleri, tepesi hilum pulmonis'e, tabanı akciğerin dış yüzüne bakan piramid şeklinde yapılar olup; akciğerin anatomik, fonksiyonel ve cerrahi ünitesini oluştururlar (20, 21). Yapısal ve fonksiyonel olarak bağımsız birer birim olan her segment (20-22) bağ dokusu ile sarılı olup, kendine ait damarları, bronchus segmentalis'i ve sinirleri bulunur (21).

### **Damarları**

Akciğerin fonksiyonel ve besleyici olmak üzere iki grup damarı vardır. Fonksiyonel damarları a. ve v. pulmonalis'ler, besleyici damarları da a. ve v. bronchiolis'lerdir (21, 22).

Sağ ventrikülden çıkan ve venöz kan taşıyan truncus pulmonalis, pericardium'dan çıktıktan sonra a. pulmonalis dextra ve sinistra olmak üzere iki dala ayrılır (21, 23). A. pulmonalis sinistra'ya oranla daha uzun ve geniş çapa sahip olan a. pulmonalis dextra arcus aortae ile v. cava superior'un arkasından geçerek sağ radix pulmonis'e gelir ve burada iki dala ayrılır. Bunlardan üstteki sol loba, alttaki ise tekrar ikiye ayrılarak orta ve alt loba gider. A. pulmonalis sinistra, pars thoracica aortae'nin önünden geçerek sol radix pulmonis'e gelir ve burada üst ve alt loblara giden iki dala ayrılır (21, 22). Bu arterler akciğere hilum pulmonis'ten girerler ve özellikle bronkusların arka tarafında olmak üzere birlikte dallanarak uzanırlar. Akciğer alveollerine a. pulmonalis'in terminal dallarından oksijeni azalmış kan gelir. Burada oksijenden zenginleştikten sonra alveol kapillerlerinden geçerek v. pulmonalis'in dallarına drene olurlar. Bunlar da segmentler arasındaki bağ dokusunda uzanarak radix pulmonis'e gelirler (21).

Akciğer parankimasi, bronkuslar ve visseral plevra, a. bronchialis'ler tarafından beslenir (21). Sağ a. bronchialis 3. veya 4. a. intercostalis posterior dextra'dan, sol a. bronchialis ise pars thoracica aortae'nin üst kısmından çıkar. Akciğer dokusunun venöz kanı vv. bronchiales tarafından toplanır (20). V. bronchialis v. pulmonalis'lerle birlikte seyreder (21). Sağ v. bronchialis v. azygos'a, sol v. bronchialis ise v. hemiazygos accessoria veya sol v. intercostalis posterior'lara açılır (20).

### **Lenf Drenajı**

Akciğerlerin yüzeysel ve derin olmak üzere iki grup lenf damar ağı bulunur (20).

Yüzeysel lenf damarları plevranın hemen altında bulunur ve akciğer hilusunda bulunan nodi lymphatici bronchopulmonales'e açılırlar. Buradan çıkan lenf damarları da bifurcatio trachea'nın üst ve alt kısımlarında bulunan nodi lymphatici tracheobronchiales superiores ve inferiores'e açılırlar. Yüzeysel lenf damarları plevra visceralis ve akciğeri drene ederler (21, 22).

Derin lenf damarları bronkusların submukozasında ve çevresindeki bağ dokusunda bulunur ve akciğerin damarları ile birlikte uzanırlar. Bu damarlar önce akciğerin içinde büyük bronkuslar boyunca sıralanan nodi lymphatici pulmonales'e açılırlar. Bu nodüllerden çıkan lenf damarları yine kalın bronkus ve damarları takip

ederek akciğer hilusundaki nodi lymphatici bronchopulmonales'e, daha sonra da nodi lymphatici tracheobronchiales ve nodi lymphatici paratracheales'e açılırlar. Yüzeysel ve derin lenf damarları birlikte truncus bronchomediastinalis'lere açılarak genel lenf dolaşımına katılırlar (20, 21).

### **Sinirleri**

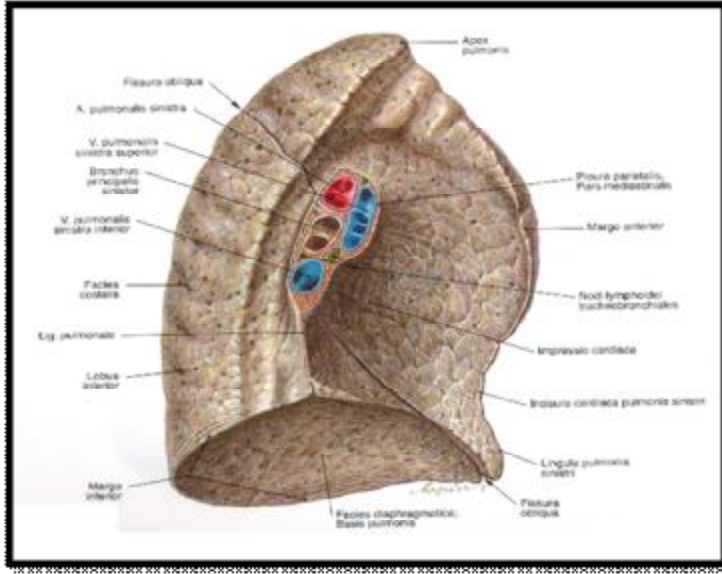
Akciğerler, plexus pulmonalis anterior ve plexus pulmonalis posterior'dan gelen visseral afferent ve efferentler ile innerve olur (20, 23). Truncus sympathicus'lar ve nervus vagus'lardan köken alan bu pleksusların dalları, damarların ve hava yollarının dalları ile birlikte dağılırlar (23).

### **Plevra (Akciğer Zarı)**

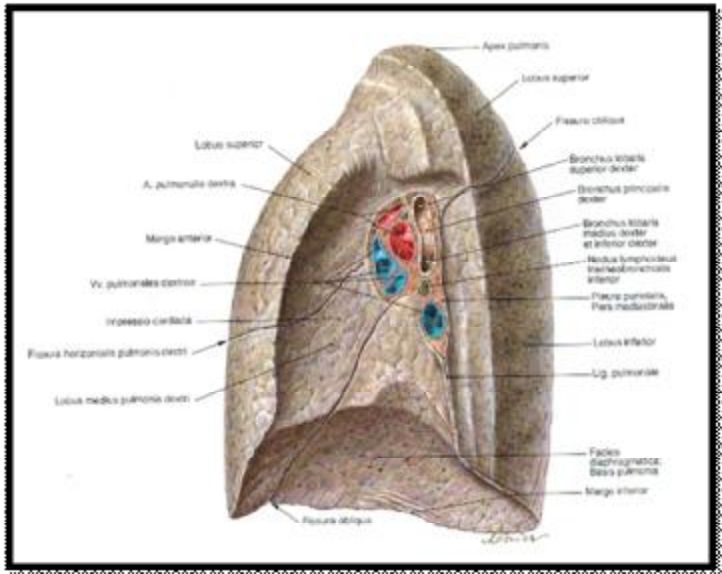
Seröz bir zar olan ve her iki akciğeri ayrı ayrı saran plevra, pleura visceralis ve pleura parietalis olmak üzere iki tabakadan oluşur (20-22). Plevranın, yarıkları da dahil akciğerin dış yüzünü örten bölümüne pleura visceralis (pleura pulmonalis) denir (2). Göğüs boşluğunun iç yüzünü, diyaframın üst yüzünü ve mediastinumun akciğere bakan yüzünü örten plevra bölümüne ise pleura parietalis adı verilir (21, 22).

Plevra'nın bu iki bölümünü, radix pulmonis etrafındaki plevra ile lig. pulmonale birbirine bağlar (21). Parietal ve visseral plevra arasında, normal durumlarda, cavitas pleuralis adı verilen potansiyel bir aralık (21, 22), bu aralıkta da iki zarın sürtünmesini engelleyen bir sıvı bulunur (20).

Sağ ve sol akciğerleri saran plevra birbirinden bağımsız olup, sadece corpus sterni'nin üst yarısında ve özefagusun arkasında pleura parietalis'ler birbirleri ile temas ederler (20).



**Şekil 1:** Sol akciğer; radix pulmonis'in, hilum pulmonis'e bağlandığı yerden geçen sagittal kesit (24).



**Şekil 2:** Sağ akciğer; radix pulmonis'in, hilum pulmonis'e bağlandığı yerden geçen sagittal kesit (24).

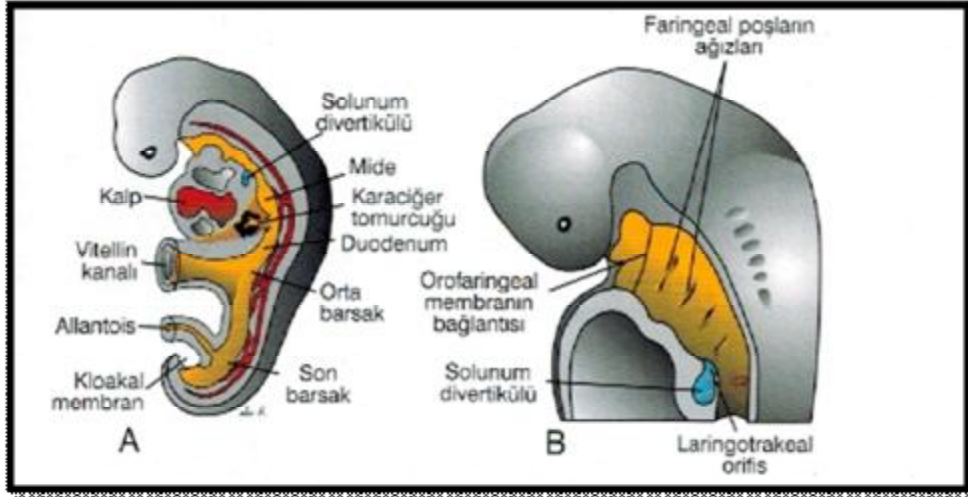
## 2.2. Akciğer Gelişimi

Laringotrakeal oluğun endodermi; akciğer epitelini, larinks, trakea ve bronşların epitel ve bezlerini meydana getirir. Bu yapılardaki bağ dokusu, kıkırdak ve düz kaslar ön barsak çevresindeki splanknik mezodermden gelişir. 4. haftanın sonunda laringotrakeal oluk, dışa çıkıntı yaparak ön bağırsağın kaudal ucunda ventralde yerleşik, kese benzeri bir laringotrakeal divertikulum oluşturur. Bu divertikulum, uzadıkça splanknik mezoderm ile kuşatılır ve distal ucu genişleyerek akciğer tomurcuğunu oluşturur (25, 26).

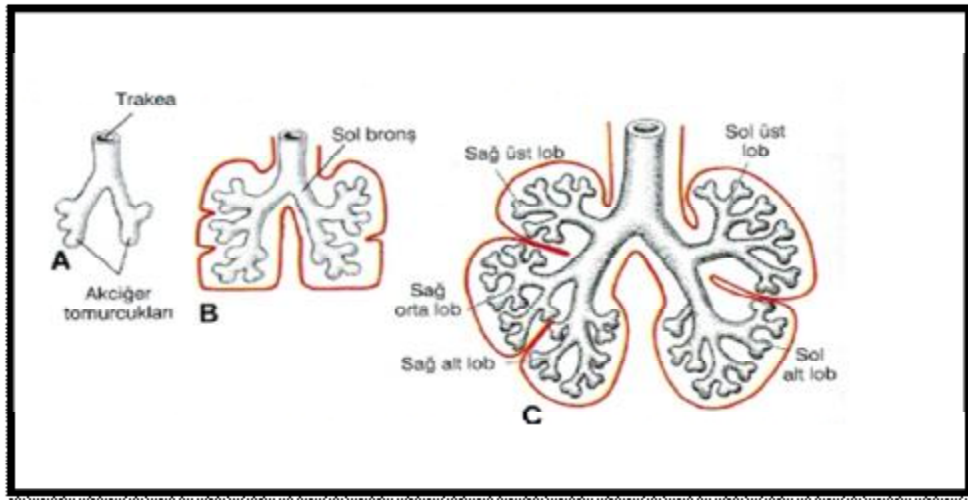
4. haftada, laringotrakeal tüpün kaudal sonunda gelişen akciğer taslağı, kısa zamanda iki adet düğme benzeri bronkus tomurcuğuna ayrılır. Endoderm kökenli bu tomurcuklar, plevra boşluklarının taslağı olan perikardioperitoneal kanallara doğru lateral olarak gelişir (25, 26). 5. haftanın başında bu tomurcuklar genişleyerek sağ ve sol ana bronşları oluştururlar (25-27). Ana ya da primer bronşlar bölünerek lobar, segmental ve intrasegmental dalları oluşturan (25) sekonder bronşlara ayrılırlar (25-27). Sağ ana bronştan üç, sol ana bronştan ise iki adet sekonder bronşun gelişmesiyle (26-28), sağ akciğerin üç, sol akciğerin de iki loblu olacağı belirlenmiş olur (26, 28) .

Gelişimin daha sonraki evrelerinde, sekonder bronşlar tekrarlayan bölünmelerle sağ akciğerde 10, sol akciğerde de 8 adet tersiyer (segmental) bronş oluşturur (25-27). Tersiyer bronşlar oluşurken, bunları çevreleyen mezenşim de bölünür. Her bir segmental bronş ve onu çevreleyen mezenşim kütleleri, bir bronkopulmoner segmentin başlangıcını oluşturur (25, 26). 6. ayın sonunda yaklaşık 17 yeni bronş (27, 29) ve respiratuar bronşoller şekillenir (25, 26). Postnatal hayatta 6 bölünme daha olur ve bronşiyal ağaç son şeklini alır (27, 29). Bronşlar gelişirken, bunları çevreleyen splanknik mezodermden de kıkırdak plakaları gelişir. Bronşlardaki düz kas sistemi ve bağ dokusu ile pulmoner bağ dokusu ve kılcak damarlar da bu mezenşimden oluşur (26, 28).

Gelişen akciğerler, splanknik mezenşimden köken alan bir visseral plevra tabakası ile dıştan sarılırken (26, 27), göğüs bölgesindeki vücut duvarı, somatik mezodermden oluşan bir pariyetal plevra tabakası ile döşenir (25, 26).



**Şekil 3:** A. Yaklaşık 25. günlük, B. 5 haftalık bir embriyonun solunum divertikülü (27).



**Şekil 4:** Trakea ve akciğer gelişiminin evreleri A. 5. hafta, B. 6. hafta, C. 8. hafta (27).

### Akciğerlerin Olgunlaşması

Akciğer gelişimi, psödoglandular dönem, kanaliküler dönem, terminal kese dönemi ve alveolar dönem olmak üzere 4 evreye bölünebilir (25, 28).

**Psödoglandular Evre (6. haftadan 16. haftaya kadar):** Gelişmekte olan akciğerler, bu evrede bir ölçüde histolojik olarak ekzokrin salgı bezlerine benzerler (24, 25). 16. haftaya kadar, gaz alışverişiyle ilgili olanlar hariç, tüm temel elemanlar oluşur (25). Fakat solunum mümkün olmadığından, bu evrede doğan fetuslar yaşayamazlar (24, 25).



**Kanaliküler Evre (16. haftadan 26. haftaya kadar):** Bu evrede, bronşların ve terminal bronşiyollerin lümenleri genişler ve akciğer dokusu çok damarlı bir hale gelir. 24. haftaya kadar, her bir terminal bronşiyolden iki veya daha fazla respiratuar bronşiyol oluşur. Respiratuar bronşiyollerinin her biri de 3-6 arası sayıda alveoler kanal adı verilen geçitlere ayrılır (24, 25).

Respiratuar bronşiyollerin uçlarında ince duvarlı terminal keselerin bir kısmı oluşmuş ve akciğer dokusu iyice damarlanmış olduğundan solunum, kanaliküler evrenin sonunda mümkün olmaktadır. Bu evrenin sonuna doğru doğan bir fetusun yoğun bakım altında yaşatılması mümkün olsa da, solunum ve diğer sistemleri hala tam olarak gelişmemiş olduğundan, bu fetuslar genellikle ölürlür (24, 25).

**Terminal Kese Evresi (26. haftadan doğuma kadar):** Bu evrede çok daha fazla sayıda terminal kese gelişir ve bu keselerin epitelleri çok ince bir hale gelir. Kılcal damarlar da bu keselerin (gelişmekte olan alveollerin) içine doğru çıkıntı yapmaya başlar. Epitel ve endotel hücreleri arasındaki bu yakın temas, kan hava bariyerini oluşturur (25, 26). 26. haftaya kadar, terminal keseler gaz alış verişini gerçekleştiren endodermal kaynaklı yassı epitel hücreler olan tip I alveoler hücreler ile döşenir (25). Gelişen alveollerin çevresinde yer alan mezenşim içindeki kılcal damar ağı hızla çoğalırken, lenfatik kılcal damarlar da aktif bir gelişme gösterir (24, 25).

Gelişimin 23-24. haftalarında elastik lifler (28) ve tip II alveolar hücreler ortaya çıkar (26, 28). Bu hücreler fosfolipidden zengin bir sıvı olan sürfaktanı üretirler (24). Sürfaktan alveoler keselerin iç yüzeyleri üzerinde monomoleküler bir tabaka oluşturur ve yüzey gerilim güçlerine karşı koyarak, terminal kesesinin (ilkel alveollerin) genişlemesine kolaylık sağlar. Farklı gelişim dönemlerindeki fetuslarda tip II alveolar hücrelerin olgunlaşması ve sürfaktan üretiminde büyük değişiklikler görülür. Sürfaktan üretimi gebeliğin son evrelerinde, özellikle de son iki haftada artış gösterir. (25).

Prenatal 26.-28. haftalarda fetus genellikle, yaklaşık 1000 gr ağırlığa sahiptir ve bu dönemde prematüre olarak doğan bir bebeğin yaşamasını sağlayacak kadar alveoler kese ve sürfaktan mevcuttur (24, 25). Bu dönemde, solunumu kontrol eden sinirsel merkezler de geliştiğinden, erken doğum halinde yaşam mümkün olabilmektedir (28). Bu dönemden önce akciğerler genellikle yeterli gaz alış verişini

sağlayacak kapasitede değildir. Alveoler yüzey alanının yetersiz oluşu ve damarlaşmanın tamamlanmamış olması bu durumun kısmi sebepleridir (24).

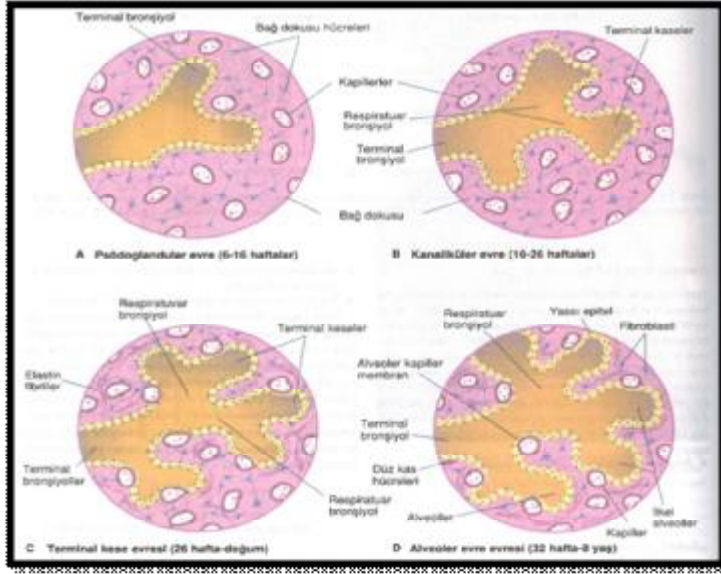
**Alveolar Evre (32. haftadan 8 yaşa kadar):** Bu evrede, terminal keselerin epitel döşemesi incelerek yassı epitel tabakaya dönüşür. Tip I alveolar hücreler öylesine incilir ki, bitişikteki kılcal damarlar terminal keselerin içine doğru çıkıntı yaparlar (24, 25). Geç fetal evreye gelindiğinde, alveolokapiller membran gaz alış verişine imkan tanıyacak kadar ince olduğundan, akciğerler solunumu gerçekleştirebilirler (25).

Alveoler dönemin başlangıcında, her bir respiratuar bronşiyol birbirlerinden gevşek bağ dokusuyla ayrılmış, ince duvarlı alveolar keselerden oluşan bir kümede sonlanır. Bu kesecikler gelecekteki alveol kanallarını temsil eder. Olgun alveollerin yaklaşık %95'i postnatal dönemde gelişir (25). Doğumdan önce, primordiyal alveoller, respiratuar bronşiyol ve terminal keselerin (gelecekteki alveol kanalları) duvarında küçük çıkıntılar şeklinde gözlenirler. Doğumdan sonra primordiyal alveoller, akciğerler genişledikçe büyürler (24). Alveoler gelişim, 3 yaşına kadar büyük oranda tamamlanmış olur, ancak 8 yaşına kadar yeni alveoller eklenebilir (25).

Olgunlaşmamış alveoller, ilave primordiyal alveol oluşturma potansiyeline sahiptirler (24, 25). Alveollerin sayısının artmasını sağlayan bu temel mekanizma, mevcut primordiyal alveolleri iki parçaya bölen ikincil bağ dokusu bölmelerin oluşmasıdır. Başlangıçta bu bölmeler göreceli olarak kalındır, fakat kısa sürede gaz alış verişine uygun, olgun ince bölmelere dönüşürler (25).

Alveol boyutları bir miktar genişlerse de, akciğerlerin doğumdan sonraki büyümesi esas olarak solunum bronşiyolleri ve alveollerin sayısındaki artışa bağlıdır (24). Alveol sayısının doğumda, yetişkinlerdekinin sadece altıda biri kadar olduğu tahmin edilmektedir. Geri kalan alveoller, postnatal hayatın ilk 10 yılı içinde, sürekli şekilde yeni primitif alveollerin oluşmasıyla ortaya çıkar (26).

İlk solunum hareketleri doğumdan önce başlar ve amnion sıvısının aspire edilmesine neden olur. Bu hareketler, akciğer gelişiminin uyarılması ve solunum kaslarının kondisyon kazanması açısından önemlidir (25, 26). Doğumdan sonraki solunum hareketleri, havanın akciğerlere girmesini sağlar ve akciğerler de bu sayede genişleyerek plevral boşluğu doldururlar (26).



**Şekil 5:** Akciğer gelişim aşamalarını gösteren histolojik kesitlerin basit çizimleri (25).

### Akciğer Gelişiminin Moleküler Düzeni

Endodermal önbarsak hücrelerinin solunum tipi epitel hücrelerine farklılaşması, tiroid transkripsiyon faktörü 1, hepatosit nükleer faktör 3 (HNF-3) ve GATA 6 da dahil olmak üzere birkaç transkripsiyon faktörü ekspresyonunun yanı sıra, diğer Zinc-finger ailesi üyeleri, retinoik asit reseptörleri ve homeobox (Hox) etki alanı içerikli genlerin etkisi ile sağlanmaktadır. Fibroblast büyüme faktörü 10 ve splanknik mezenseşimden gelen diğer sinyaller de solunum tomurcuğunun gelişimini etkilemektedir. Son araştırmalar, epitelden gelen Wnt7b sinyalinin akciğerde mezenseşimal çoğalmayı ve kan damarı oluşumunu düzenlediğini öne sürmektedir (25).

### 2.3. Akciğer Histolojisi

Trakea dallanarak iki **primer bronşa (ekstrapulmoner bronşlar)** ayrılır (30-32). Sağ primer bronş, sol primer bronştan daha geniş ve kısadır (30). Bu bronş akciğere girmeden hemen önce dallanarak iki **sekonder bronşu** oluşturur. Sol primer bronş ise genellikle sol akciğer dokusuna girdikten sonra üst ve alt sekonder bronşa dallanır. Bronşlar akciğere girdikten sonra **intrapulmoner bronş** olarak isimlendirilirler. Sekonder bronşlar üst ve alt akciğer lobuna girerler. Alt sekonder bronştan daha sonra ayrılan bir dal ise orta akciğer lobuna ilerler. Sağ akciğer üç lob, sol akciğer iki lobdan oluştuğundan dolayı sağ akciğerde üç adet, solda iki adet

sekonder bronş (lobar bronş) bulunur. Loblar içinde dallanan sekonder bronşlar bronkopulmoner segmentlere ayrılarak tersiyer bronşları oluştururlar. Sağ akciğerde 10 adet, sol akciğerde 8 adet segment bulunduğundan dolayı sağda 10 adet, solda 8 adet **tersiyer bronş** bulunur (30, 31). Tersiyer bronşlar çapları 10 mm'nin altına indiğinde artık **bronşiyol** olarak isimlendirilirler. Bronşiyoller de dallanarak **terminal bronşiyoller** oluştururlar. Terminal bronşiyoller **respiratuar bronşiyollerle**, respiratuar bronşiyoller **duktus alveolarislerle** (alveol kanalları) devam eder. Kanalın terminal bölümü genişleyerek **alveollerin** açıldığı boşluklar, olan **saccus alveolarisleri** (alveol keseleri) yapar (31).

### **Bronş**

Primer bronşların temel histolojik yapısı trakeaya benzer. Bronşlar akciğere girdikten sonra duvarlarında bazı histolojik değişiklikler görülür (30-32). Bu değişiklikler ani bir yapısal geçiş şeklinde olmayıp, kademeli olarak izlenir (32).

Bronş duvarı mukoza, muskularis, submukoza, kıkırdak ve adventisyadan oluşur (30). Bronş mukozası kıkırdak ve kasların düzenlenişi dışında, yapısal olarak trakea mukozasına benzer. Bronşlarda kıkırdakların şekli trakeaya oranla daha düzensizdir; ancak büyük bronşlarda kıkırdak halkaları, lümeni tam sarar (33, 33). Bronş çapı azaldıkça kıkırdak halkaların yerini düzensiz hiyalin kıkırdak plakları alır (32-34) ve bu kıkırdak plakları giderek daha küçük ve az sayıda olur (30). Hiyalin kıkırdaktan ibaret olan kıkırdak plakları, lifleri perikondriyuma karışan bağ dokusu demetleriyle kuşatılmıştır (34). Bronşun respiratuar epiteli trakeanın epiteli ile aynı hücre bileşimine sahiptir, ancak bronş çapı azalırken hücrelerin de yüksekliği azalır (30). Bazal membran trakeada olduğu kadar kalın değildir, küçük bronşlarda görülmeyebilir (31). Lamina propriyada çok miktarda elastik lif bulunur (31, 32). Lamina propriya ile submukoza arasında, trakeada bulunmayan, sirküler seyreden bir kas tabakası yer alır. Bu tabaka küçük bronşlarda kesintili seyredebilir. Gevşek bağ dokusu özelliğindeki submukozada trakeanın bu tabakasında bulunandan daha az serömüköz beze rastlanır (31). Lamina propriya ve adventisya içinde lenfosit toplulukları bulunabilir (31, 32). Ayrıca lenf düğümcükleri de vardır ve bunlar özellikle bronşların dallanma noktalarında çok sayıda bulunurlar (32).

### **Bronşiyol**

Genel olarak bronşlardan bronşiyollere giderken, epitel yalancı çok katlı prizmatik epitelten tek katlı prizmatik ve daha sonra tek katlı kübik epitele dönüşür. Epitelde goblet hücre sayısı ve prizmatik hücrelerin kinosilyum yoğunluğu azalır. Submukozada bez sayısı da azalır. Kıkırdak önce küçük parçalar halinde görülmeye başlar, sonra tamamen ortadan kalkar. Elastik liflerde ise artış olur (31).

Terminal bronşiyoller tek katlı alçak prizmatik veya kübik, respiratuar bronşiyoller tek katlı kübik epitel ile döşelidir (30-32). Her terminal bronşiyol solunum sisteminin iletili bölümü ile solunum bölümü arasında geçiş bölgesi olan iki ya da daha fazla respiratuar bronşiyole ayrılır (32). Respiratuar bronşiyollerin terminal bronşiyollerden farkı duvarlarının buraya açılan alveoller nedeni ile kesintiye uğramasıdır (31-34). Alveollerde gaz değişimi olduğundan dolayı bu bronşiyollere respiratuar bronşiyol denir (30, 31). Terminal ve respiratuar bronşiyollerde silyumlu hücrelerden başka **Clara hücreleri** (33, 34), fırçamsı hücreler ve granüllü hücreler bulunur (30).

Üst hava yollarındaki goblet hücrelerinin yerini alan (33, 34) Clara hücreleri, en yoğun olarak respiratuar bronşiyollerde bulunur (31). Clara hücreleri silsiz hücrelerdir ve bu hücrelerin apikal bölümleri lümene doğru kubbe şeklinde kabarmıştır (30, 33). Elektron mikroskopik olarak protein sentezleyen hücre görünümüne sahiptirler (30). Apikal stoplazmaları merokrin tarzda salgılanan büyük, ovoid, elektron yoğun sekretuar veziküller ile doludur (33). Sitoplazmanın asidofil boyanmasına neden olan veziküllerin protein içeriği, yüzey gerilimini azaltarak bronşiyollerin havalanmasını kolaylaştırır (31). Ayrıca bu hücrelerin, salgıladıkları proteinlerle bronşiyolleri oksidatif ajanlardan ve inflamasyondan korudukları da bilinmektedir (34). Clara hücrelerinde üretilen bir protein olan CC16 (Clara cell protein), hava yolu sekresyonunda ve serumda bulunur. Bu maddenin azalması Clara hücrelerinin, dolayısıyla bronşiyollerin hasar gördüğünün göstergesidir (30). Clara hücrelerinin apikal stoplazmalarında ayrıca çok sayıda mitokondriyon ve sıkıca paketlenmiş düz endoplazmik retikulum tübülleri bulunur (33, 34). Düz endoplazmik retikulumun detoksifikasyonda rolü olduğuna inanılır, çünkü Clara hücreleri nefesle alınan azotdioksit gibi pek çok zararlı maddeyi detoksifiye edebilir (33). Hücreler

bazal bölümlerinde iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu, lateral bölümlerinde Golgi kompleksine sahiptir (30, 33).

Clara hücreleri özellikle yaralanmalara yanıt olarak silyalı ve silyasız bronşiyol epitel hücrelerinin normal yenilenmesi için progenitör hücreler olarak da fonksiyon görürler (33).

### **Alveolar Duktuslar**

Tek katlı yassı epitel ile döşenmiş ince duvarlı, uzun kanallardır (32). Epitel altında ince bir fibroelastik doku yer alır (31). Kanala çok sayıda alveol ve alveol kesesi açılır (30, 32). Bu nedenle kanalın duvarını görmek zordur. Kalın kesitlerde duvarda yoğun kollajen lifler, elastik lifler ve düz kas lifleri izlenebilir (31).

Alveol kanalları genellikle genişleyerek alveol keselerini (saccus alveolaris) oluşturur. Alveoler keseler pek çok alveolün açıldığı boşluklardır (30).

### **Alveoller**

Alveoller gaz değişimi için uygun yüzey alanları oluşturan yapılardır. Her bir akciğerde 150-250 milyon kadar bulunan alveoller (30), respiratuar bronşiyole, alveol kanallarına ve alveol keselerine açılan polihedral şekilli, tek katlı yassı epitel ile döşeli, ince duvarlı boşluklardır (31). Çapları 200-250  $\mu\text{m}$ 'dir (33). Akciğerlerin süngerimsi yapısını oluşturan alveoller, yapısal olarak bal peteklerine benzeyen, tek tarafı açık küçük cepler halindedir (32).

Alveoller 0.2  $\mu\text{m}$ 'den daha az kalınlıkta olan tek katlı yassı epitel ile döşenmiştir (34). Bu epitelin yüzeyinde farklı özelliklerde iki tip hücre yer alır (32, 34). Tip I alveoler hücreler, epitel hücre popülasyonunun %40'ını oluşturmakla birlikte alveol yüzeyinin %90'ını kaplarlar. Tip II alveoler hücreler, hücrelerin %60'ını oluştururlar, ancak alveoler yüzey alanının sadece %10'unu kaplarlar (33, 34).

Tip I alveoler hücreler çok ince, yassı hücrelerdir. Golgi kompleksi, endoplazma retikulumu ve mitokondri gibi organeller çekirdek çevresinde kümelenerek kan-hava engelinin kalınlığını azaltır ve organelden tamamen yoksun geniş sitoplazma alanları oluştururlar. İnce kısmın sitoplazmasında, sürfaktan dönüşümünde ve yüzeyin küçük parçacıklardan temizlenmesinde rol oynayabilen çok miktarda pinositoz keseciği bulunur. Bütün tip I alveoler hücrelerde desmozomların yanı sıra, doku sıvısının alveol hava boşluğuna sızmasını önleyen

zonula okludensler bulunur. Bu hücrelerin başlıca görevi gazların geçişine uygun, kalınlığı en az olan engeli oluşturmaktır (32). Tip I alveoler hücrelerin bölünme yetenekleri yoktur (30).

Tip II alveoler hücreler vakuoler sitoplazmalı yuvarlak veya küboid şekilli hücrelerdir (31, 34). Çapları 10-12  $\mu\text{m}$ 'dir. Tek ve merkezi olarak yerleşmiş yuvarlak nükleusları vardır. Nükleus genellikle ökromatik olup, bir veya iki belirgin nükleolusa sahiptir. Sitoplazmaları, çok gelişmiş Golgi kompleksi, granüllü ve düz endoplazma retikulumu, dağınık mitokondriyon ve peroksizomlar içerir (33). Genellikle, iki alveolün birleştiği köşelere yakın, tip I alveoler hücrelerin arasında bulunurlar (33) ve alveol boşluğuna doğru kabarırlar (30, 34). Kısa, küt mikrovillusları, hücre yüzeyinden alveoler lümene doğru çıkıntı yaparlar (33, 34). Histolojik kesitlerde, sitoplazmaları keseye benzer ya da köpüksü tipik bir görüntü sergiler. Bu keseler elektron mikroskopik incelemelerde, iyi korunmuş ve belirgin olarak görülen lameller cisimcikler tarafından oluşturulur (32). Ortalama 1-2  $\mu\text{m}$  çapında olan, üst üste ya da birbirine paralel lameller içeren bu yapılar birim zarla sarılıdır. Histokimyasal çalışmalarda fosfolipidler, glikozaminoglikanlar ve proteinler içeren bu cisimciklerin hücrelerde sürekli sentezlenip hücrenin apikal yüzünden salgılandığı saptanmıştır. Bu lamelli cisimcikler alveol yüzeyine yayılarak hücre dışı bir alveol örtüsü medyana getiren ve yüzey gerilimini düşüren **pulmoner sürfaktanı** oluşturur (30, 32).

Tip II alveolar hücreler tarafından üretilen sürfaktan tabakası, hava epitel aralığındaki yüzey gerilimini düşürerek, alveollerin gaz değişimini gerçekleştirmek üzere yeterince genişlemesini sağlar. Sürfaktan yapısında bulunan en önemli madde, dipalmitolfosfatidilkolin olarak adlandırılan özel bir fosfolipiddir. Bu fosfolipid, sürfaktana yüzey gerilimini düşürücü özellik kazandırır. Tip II alveoler hücreler fosfolipid dışında hidrofobik özellikte sürfaktan proteinler üretirler. Sürfaktan protein A, B, C ve D olarak isimlendirilen bu proteinler, sürfaktanın yapısı ve fonksiyonu için gereklidirler. Sürfaktan protein A, sürfaktanın tip II alveoler hücrelerden sentez ve sekresyonunu kontrol etmesine ilaveten virüs, bakteri ve mantarlara karşı immün cevapları da düzenler. Protein B, lamelli granüllerin alveol boşluğunu kaplayan sürfaktana dönüştürülmesinde önemlidir. Sürfaktanın atılması ve yüzeyi kaplamasını sağlar. Protein C, sürfaktanın yüzeyde ince bir tabaka oluşturmasında görev alır.

Protein D, çeşitli mikroorganizmalara ve lenfositlere bağlanarak immün yanıtta ve ayrıca lokal inflamatuvar yanıtta görev alır (30, 31).

Sümfaktan sekresyonu, fetal dönemde kortizol, insülin, troksin, prolaktin gibi hormonların etkisi ile başlar ve yaşam boyu devam eder (30).

Tip II alveolar hücreler aynı zamanda tip I alveolar hücreler için progenitör hücrelerdir. Akciğer hasarından sonra bu hücreler hem kendilerinin hem de tip I alveolar hücrelerinin sayısını korumak üzere mitozla bölünürler (32, 33). Tip II alveolar hücrelerinin hiperplazisi alveolar hasar ve alveol yenilenmesi için önemli bir belirteçtir (30).

### **İnteralveoler Septum**

Komşu alveoller arasında çok ince bir bağ dokusu içeren interalveoler septum bulunur (30, 32). İnteralveoler septum, her iki yandan alveol epitelinin bazal membranları ile sınırlanmıştır (31). İnteralveoler septumun interstisyel bağ dokusu içinde mast hücreleri, monositler, lenfositler, fibroblastlar bulunur (34). Bu alanda ayrıca organizmanın en zengin kapiller ağı yer alır. Bu kapillerler retiküler ve elastik liflerin oluşturduğu bir ağla desteklenir (32).

Alveollerdeki hava ile kılcal kan damarlarındaki kan bir kan-hava bariyeri ile birbirinden ayrılır (33). Kan-hava bariyerinin ince olduğu alanlarda sümfaktan, tip I alveolar hücre ve bazal laminası, kapiller endotel hücresi ve bazal laminasından oluşur. Bu iki bazal lamina genellikle birbirleri ile kaynaşmıştır. Kan-hava bariyerinin daha kalın seyrettiği alanlarda, bu iki bazal lamina arasında interalveoler septumun bağ dokusu hücreleri ve lifleri bulunur (30). Bu tabakaların toplam kalınlığı 0,1-0,5 µm arasında değişir (32).

Alveoller arası bölme, komşu alveolleri birleştiren 10-15 µm çapında bir ya da daha fazla sayıda delik (Kohn delikleri) içerebilir (32). Bunlar alveollerdeki basıncı dengeler ve bir bronşiyol tıkanıldığında yan bağlantılardan hava dolaşımını sağlayabilirler (32, 34).

### **Alveoler Makrofajlar**

İnteralveoler septumun bağ dokusunda ve alveol yüzeyinde bulunan makrofajlar geniş (32), düzensiz şekilli, düzensiz nükleuslu, belirgin nükleoluslu, granüler veya vakuoler sitoplazmalı hücrelerdir (30). Alveollerde hava yolu ile gelen partiküllü materyali fagositozla ortadan kaldırırlar. Bu alanda yer alan makrofajlara



toz hücreleri denir. İnteralveoler septumda bulunan makrofajlar ise **septal makrofajlar** olarak isimlendirilir (31).

Alveoler makrofajlar, alveolden bronşların yüzeyine göç ederler ve sillerin hareketi ile tükürükle yutulacakları üst hava yoluna taşınırlar (34).

### **İntrapulmoner Kan Dolaşımı**

Akciğerler hem besleyici (sistemik) hem de işlevsel (pulmoner) dolaşıma sahiptir. İşlevsel dolaşımı, pulmoner arterler ve venler oluşturur. Kalbin sağ ventrikülünden çıkan pulmoner arter, bronş ağacına eşlik ederek dallanır (30). Bu dallar bronş ve bronşiyollerin adventisyası ile sarılıdır. Alveol kanalı seviyesinde bu arter dalları, interalveoler septumda alveol epiteliyle yakın temasta bulunan bir kapiller ağ oluşturur (32). İnteralveoler septumun kapillerlerinde yer alan kan, alveoldeki oksijenle oksijenlendikten sonra pulmoner venöz kapillerlere ve pulmoner venlere ilerler. Pulmoner ven kalbin sağ atriyumuna açılır (31). Bronşiyal arterler ise aortadan kaynaklanan, akciğer dokusunun beslenmesinden sorumlu damarlardır (32). Sadece interalveoler septumu değil, bronş ve bronşiyol duvarının bağ dokularını da kanlandırır (31). Bronşiyal arterlerin son dalları da pulmoner kapillerlere açılır. Bronşiyal ve pulmoner dolaşım iletilici ve respiratuar bölümlerin bileşkesinde anastomozlaşır (34). Bronşiyal venler akciğerin hilus bölgesinin bağ dokusunda sonlanır. Akciğere bronşiyal arterlerle gelen kanın büyük bölümü pulmoner venlerle organı terk eder (31).

### **2.4. Maternal Sigara Kullanımı**

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) tarafından sigara kullanımı, günümüzde bir biyo-sosyo-psikolojik zehirlenme hali olarak tarif edilmektedir. Sigara alışkanlığı, bireylerin birbirlerini etkilemesiyle bir sosyal zehirlenme ve ortaya çıkardığı tolerans hali, fiziksel ve psikolojik bağımlılık yapma özelliğiyle de bir psikolojik zehirlenme durumudur (1).

Sigara ile mücadele konusunda yapılan bütün çabalara rağmen, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kadınlar arasında sigara kullanımı hızla artmaktadır (3). Gelişmekte olan ülke statüsünde olan ülkemizde de benzer şekilde, yıllar içerisinde kadınların sigara içme sayısında artış olduğu ve yaklaşık 4 kadından birinin sigara içtiği bilinmektedir (4).

Gebelikten önceki dönemde sigara kullananların büyük çoğunluğu, gebelik sırasında da buldukları sosyokültürel ortamlara göre değişen oranlarda sigara içmeye devam etmektedirler (3). Sigara bağımlılığı olan kadınların %50-70'i gebelik döneminde sigara kullanmayı sürdürmektedirler (4).

Gebelikte sigara içilmesi veya ortamdaki sigara dumanının solunmasının en önemli etkileri, göbek kordonu ve plasentada değişiklikler, plasenta previa, plasenta dekolmanı, dış gebelik, bebekte gelişme geriliği, abortus, erken doğum, düşük doğum ağırlığı, bebekte doğum öncesi ve sonrası ani ölüm, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, bilişsel yetersizlik gibi önemli hastalık ve durumların oluşmasında risk artışıdır (35-37).

Sigara dumanı 4000'den daha fazla kimyasal bileşen içerir (38). Sigara dumanının temel bileşeni olan NT, plasental bariyerleri geçerek embriyo ve fetusun dolaşımına girer. NT aynı zamanda amniyotik sıvıya geçebilir ve bu yolla embriyo ve fetusun büyüüp geliştiği ortamı değiştirebilir (39).

NT tütün bağımlılığında birincil suçlu olduğu düşünülen bir uyarıcıdır (8), NT'nin psikomotor stimülant ve pozitif pekiştirici (keyif verici) etkisi, mezensefalonda ventral segmental alanı stimüle ederek, oradaki mezolimbik dopaminerjik nöronları aktive etmesine, böylece nükleus accumbens ve diğer limbik yapılardaki dopaminerjik sinir uçlarında dopamin salınımını artırmasına bağlıdır (40).

### **2.5. Nikotin**

NT, başta tütün olmak üzere patates, domates ve yeşil biber gibi Solanose bitki familyasının üyelerinde bulunan bir alkaloiddir. İlk kez 1828 yılında tütünden izole edilen NT, tütünün en önemli bileşeni olarak saptanmıştır (41). Ticari sigaradaki tütün ağırlığının yaklaşık %1,5'ini oluşturan başlıca alkaloid olup, tütündeki toplam alkaloid içeriğinin % 95'ini kapsar (42). Ortalama bir tütün çubuğu 10-14 mg NT içerir (43) ve sigara içimi boyunca yaklaşık 1-1,5 mg NT sistemik olarak absorbe edilir (44). Tütün yapraklarında bitkisel bir insektisit gibi etki gösteren NT'nin (45, 46) sıçanlardaki LD50'si (deney hayvanlarının %50'ini öldüren doz) 50-60 mg/kg'dır (47).

### 2.5.1. Nikotinin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

NT piridin ve piroolidin halkalarından oluşmuş tersiyer bir amindir (39, 40). Kimyasal yapısı, 1892 yılında araştırmacılar tarafından [1-methyl-2-(3-pyridyl-pyrrolidine),  $C_{10}H_{14}N_2$ ] olarak önerilmiştir ve 1895 yılında sentezlenerek doğrulanmıştır (41). Aktif bir merkezi olan NT'nin iki stereoizomeri vardır (48). Tütündeki NT büyük ölçüde (S)' izomeri şeklindedir (49). Reseptörler üzerinde zayıf agonistik etkinlik gösteren (R)' izomeri ise (40), total NT içeriğinin sadece %0.1–0.6' sını oluşturur (49).

Saf NT karakteristik kokusu ile berrak bir sıvı iken havaya maruz kaldığında kahverengiye döner. Güçlü bir baz olan nikotin, 274.5 °C kaynama noktasına sahiptir (41).

### 2.5.2. Nikotinin Emilimi

NT tütünün yanması ile ayrışır ve inhale edilen katran damlacıkları ile taşınır. NT emilimi oral boşluk, deri, akciğer, mesane ve gastrointestinal sistem yollarıyla gerçekleşir. Biyolojik membranlardan NT emilim hızı pH'a bağlıdır (41, 42). NT bir baz olduğundan (40-42) asidik ortamlarda nikotinin büyük kısmı iyonize haldedir. Böyle durumlarda NT'nin membranlardan geçişi yavaş olur. Özel işlenmiş (bacada kurutulmuş) tütünlerden yapılan sigaraların pH'ı asidiktir (pH 5.5-6.0) (42). Bu pH'da NT'nin büyük bir kısmı iyonize halde olduğundan, duman ağızda bir süre tutulsa bile, ağız boşluğunun yüzeyinden NT'nin emilimi az olur (40-42). Havada işlenmiş tütün sigaraları daha baziktir (pH 6.5 veya daha yüksek) ve bu durumda NT büyük ölçüde non-iyonize haldedir ve bu tür sigaraların dumanının ağız yoluyla emilimi fazla olur (42). Son zamanlarda sigara dumanındaki katran damlacıklarının pH'ının önceden düşünüldüğünden daha yüksek olduğu, buna bağlı olarak da NT'nin daha büyük bir kısmının non-iyonize olabileceği ileri sürülmüştür. Çeşitli sigara markalarında katran damlacıklarının pH değerleri 6.0-7.8 aralığında ölçülmüştür (50).

Sigara dumanı küçük hava yolları ve alveollere ulaştığında, dumanın pH'ı ne olursa olsun, NT hızlı bir şekilde emilir. Bu durum bronşiyollerin ve alveollerin muazzam bir yüzey alanına sahip olmaları ve nikotinin 7.4 pH'a sahip sıvıda çözünmesi ile açıklanabilir (40, 44). Sigara dumanını inhale etmeyen içicilerde plazma NT seviyesinin 2.5-8.0 ng/ml iken, inhale eden içicilerde 30-40 ng/ml'ye

ulaştığı gösterilmiştir. Bu gözlemler bukkal mukoza yoluyla olan NT absorpsiyonunun az, akciğer yoluyla hızlı olduğunu kanıtlamaktadır (41). Bununla birlikte NT'nin pulmoner emiliminin diğer yollardan (oral, transkutan) daha hızlı olduğu kabul edilmiş olmasına rağmen, akciğerlerin, NT için bir rezervuar olarak görev yaptığı ve böylece NT'nin arteriyal sirkülasyona girişini yavaşlattığı ortaya çıkmıştır. Bu durum her bir nefeste inhale edilen NT'nin emilimi için birkaç saniye değil, 30-60 saniye veya daha uzun süre gerektiği anlamına gelmektedir (39).

Sigara içimi boyunca inhale edilen NT'nin %80-90'ı absorbe edilir ve bu süreçte sistemik olarak ortalama 1 mg NT (0,3-2 mg aralığında) emilir (44). Sigara içme süreci komplekstir ve içici NT dozunu değiştirebilir. Sigara içimi süresince, NT alımı inhalasyon hacmine, derinliğine ve yoğunluğuna bağlı olarak değişir (42).

### **2.5.3. Nikotinin Dağılımı**

Sigara içimi boyunca NT'nin kandaki konsantrasyonu hızla yükselir ve sigara içimi bitiminde bu konsantrasyon doruk noktaya ulaşır (44). Pulmoner venler tarafından hızlı bir şekilde dağıtılan NT, kalbin sol ventrikülüne ve sistemik arteriyal dolaşıma hızla taşınır. Bir inhalasyondan sonra, 10-20 saniye içinde beyne yüksek düzeyde NT ulaşır (51). Sigara içiminden sonra arteriyal kandaki NT konsantrasyonları genellikle 20-100 ng/ml arasında değişir (51, 52).

İçicilerin otopsi örneklerine göre, NT için en yüksek affiniteye sahip organlar karaciğer, böbrek, dalak ve akciğerdir, en düşük affiniteye ise yağ dokusu sahiptir. İskelet dokusunda NT ve kotinin konsantrasyonu (bütün) kanın konsantrasyonuna yakındır. NT beyin dokusuna da yüksek affinite ile bağlanır (42).

Maternal dolaşımda, NT hızlı bir şekilde plasentadan geçer ve fetal dolaşıma girer (53). Fetal dolaşımdaki NT amniyotik sıvıya geçebilir ve oradan da fetusun derisi tarafından emilebilir (54). Fetusa ulaşan NT kan konsantrasyonu, annenin nikotin kan konsantrasyonuna benzerdir. NT alındıktan sonra gebe annenin kanında tepe NT seviyesi 15-30 dakikada oluşur. NT'nin bir kısmı fetal urin yoluyla amniyotik sıvıya geçmiş olmasına rağmen, fetusa girmiş olan NT'nin çoğu eliminasyon için maternal dolaşıma döner (39).

### **2.5.4. Nikotinin Etki mekanizması**

NT bir asetilkolin agonisti olup, nAChR ile etkisini gösterir (14, 15). Temel rolü sinir iletimi olsa da, tüm hücreler tarafından üretilen bir madde olan

asetilkolinin, değişik hücre tiplerinde, çeşitli etkiler oluşturarak otokrin ve parakrin yolla doku hemostazı sağladığı kesinlik kazanmıştır (55). İlk defa sinir kas kavşağında tespit edilen, ancak daha sonra tüm sinir sisteminde ve nöronal olmayan hücrelerde de var olduğu saptanan nAChR' leri (56), Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup> girişı ve K<sup>+</sup> çıkışı ile kontrol edilen klasik ligand kapılı iyon kanal proteinleridir (55). Beş alt birimden ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  ve  $\epsilon$  ) oluşmuştur (40, 14, 15). Alt ünite kompozisyonları bu reseptörlere değişik işlevsel ve farmakolojik özellikler kazandırmaktadır (57).

NT özellikle  $\alpha 7$  nAChR'lerini bağlayarak, kalsiyum kanallarının aktivasyonuna neden olur. Bu durum hücre membranının depolarizasyonuna yol açar ve böylece NT bir dizi zararlı metabolik yolların oluşumuna katkıda bulunur (58).

### 2.5.5. Nikotin Metabolizması

Yarı ömrü 90 dakika olan NT (59), absorbe edilir edilmez büyük ölçüde, karaciğer tarafından birtakım majör ve minör metabolitlerine metabolize edilir (60). Ayrıca hayvanlarda akciğer, böbrek, nazal mukoza ve beyin gibi ekstrahepatik dokularda da NT metabolizmasının az miktarda gerçekleştiği gösterilmiştir. NT metabolizmasında rol alan en önemli enzimler sitokrom P450 enzimleri, aldehid oksidaz, UDP glukronoziltransferazlar, flavin içerikli monooksijenazlar ve amin-N-metiltransferaz'dır (42). Canlı organizmalarda oldukça karışık olan NT metabolizmasının yolları, faz I ve faz II olarak tartışılabilir. Faz I metabolizma NT'nin mikrozomal oksidasyonunu kapsarken, faz II metabolizma NT ve NT metabolitlerinin N- ve O- glukronidasyonunu içerir (41).

Yirmiden fazla NT metaboliti tanımlanmakla beraber (47), memelilerin çoğunda en önemli NT metaboliti laktam türevi olan kotinindir. İnsanlarda NT'nin yaklaşık %70-80'i kotinine dönüştürülür (44). İnsanda, tavşanda, farede ve sığanda üriner bir metabolit olarak tanımlanan kotinin (41), hem aktif hem de pasif içicilerin sigaraya maruziyet derecesinin ölçülmesinde bir belirteç olarak kullanılır (47). Yarı ömrü 20 saattir (47). NT'den kotinin oluşumuna yol açan en önemli enzim CYP2A6'dır (61).

NT ve kotinin klirensi, gebe kadınlarda artar (62). Bu durum annede NT ve kotininin enzimatik yıkımında ve karaciğer kan akımında bir artış olarak yorumlanabilir. Fetusun enzimatik koruma mekanizmaları iyi gelişmediğinden (63-65) fetal karaciğerde NT metabolizması yavaştır ve buna bağlı olarak, fetusta NT

yarılanma ömrünün daha uzun olması beklenebilir. Bu durum, maternal kan seviyeleri ile karşılaştırıldığında, fetal dokudaki NT konsantrasyonunun daha yüksek olması ile doğrulanır (39).

NT metabolizması metabolik enzimlerdeki genetik varyasyonlar, diyet, yaş, gebelik, karaciğer ve böbrek hastalıkları, cinsiyet, ırk ve etnik farklılıklar gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (42).

### **2.5.6. Nikotin Atılımı**

NT'nin renal atılımı glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla olur (42). <sup>14</sup>C-nikotin verilen bir hayvanda, radyoaktivitenin yaklaşık %55'inin idrar ile atıldığı gözlenmiştir (41). Araştırmacılar NT atılımının fazla olduğu kişilerde günlük nikotin alımının %18 daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir ve tüketim oranının NT eliminasyon oranını etkilediği sonucuna varmışlardır (66). NT atılımı aynı zamanda idrarın pH'ından etkilenir. İdrarın pH'ı alkali olduğu zaman yüksüz NT oranı artar ve NT reabsorpsiyonu gerçekleşir. Sonuç olarak daha az NT atılır. Bununla birlikte idrar asidik olduğunda yüklü NT oranı artar ve bu nedenle daha az nikotin reabsorbe edilir ve daha fazla NT atılır (41).

NT'nin feçes, safra, mide özsuyu, tükürük, ter ve sütte de atılımının olabildiği kanıtlanmıştır (67-69).

### **2.5.7. Maternal Nikotin Maruziyeti**

#### **Gebelik ve Nikotin**

NT, annede katekolamin salınımına yol açarak kardiyovasküler sistemi etkiler. Katekolamin yükselişi ile, uterin ve plasental kan akımında bir azalış ve buna bağlı olarak da fetal beslenme ve oksijenizasyonda yetersizlik olur. Diğer yandan, plasental ve hematoensefalik bariyerleri çok kolay bir şekilde geçen NT, fetusu hızla etkileyerek direkt hasara da yol açabilir. Bununla beraber NT'nin, fetusun nöroendokrin sistemini etkileyerek dolaşımdaki kana katekolamin salınımına yol açtığı ve böylece fetusta doğrudan hasara neden olduğunu ileri süren hipotez daha yaygın olarak kabul görmüştür (70).

NT, embriyogenezisi altüst edebilen sigara dumanının en önemli teratojenik bileşenidir. Ratlar üzerinde yapılan çalışmalar gebelik döneminde NT maruziyetinin, nöral tüp malformasyonları gibi, organogenezin öncesinde ve erken evreleri süresince, konsantrasyon oranına bağlı olarak embriyonik anormallikleri uyurabildiği

gösterilmiştir NT kaynaklı embriyonik malformasyonların, embriyolardaki programlanmış hücre ölümlerindeki artışlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. NT aynı zamanda intrasellüler kalsiyum seviyesini ve oksidatif stresi arttırmak yoluyla da ölüme sebep olabilir (71).

### **Nikotin ve Laktasyon**

Anne sütüne geçen NT konsantrasyonu, maternal plazmadaki konsantrasyonun yaklaşık 2-3 katına ulaşabilir (39). Anne sütünde sekrete edilen NT'nin yenidoğan üzerinde ciddi etkilere yol açma potansiyeli vardır. Bununla beraber anne sütü ile NT'ye maruz kalan bebekte NT'nin uzun vadeli potansiyel etkileri bilinmemektedir. Sigara içen kadında bazal prolaktin seviyesi daha düşüktür, bu durum süt miktarının azalmasına yol açabilir (72).

### **2.5.8. Nikotin ve Akciğer**

Solunum sistemi eksojen maddelere maruz kalma açısından en önemli hedeflerden biridir (73). Solunum sisteminin maruz kaldığı eksojen kimyasalların önemli bir kaynağı, solunan sigara dumanıdır (74). Hava yoluyla bulaşan maddelere maruz kalmaya ek olarak, solunum sistemi aynı zamanda sistemik sirkülasyon yoluyla da kimyasallara maruz kalır (75). Bu durum özellikle, gebelik süresince gelişen akciğerlerin, maternal sirkülasyondan fetusa transfer edilen kimyasallara maruz kalması ve laktasyon süresince bileşiklerin anne sütü yoluyla bebeğe aktarılması ile açıklanabilir (76).

Serbestçe plasentadan geçen (39) ve sigara içen annelerin sütünde önemli miktarlarda atılan NT (76), gelişmekte olan fetus ve yenidoğan bebekler ile etkileşim kurabilir. NT'nin, akciğer fonksiyonlarında bozulma ve solunum hastalıkları riskinde artış gibi durumlara yol açarak, yavrunun akciğer gelişimini değiştirdiği yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Nikotin fetal dolaşıma girdikten sonra, fetal akciğerde nAChRs ile etkileşime girerek, yavrunun akciğer yapısında ve fonksiyonunda değişikliklere neden olur. Buna uyumlu olarak fetal maymun akciğerlerinin nöronal olmayan hücrelerinde  $\alpha 3$ ,  $\alpha 5$  ve  $\alpha 7$  nAChR'lerinin ifade edildiği ve fetal akciğerde NT'nin, nAChRs'lerini up-regüle ettiği gösterilmiştir (16). Ayrıca prenatal NT maruziyetinin, hava yollarını ve kan damarlarını kuşatan fibroblastlarda  $\alpha 7$  nAChR'lerini dikkat çekici şekilde upregüle ettiği rapor edilmiştir (16, 77).

Akciğer hücre membranlarında nAChR'leri bulunmaktadır (78).  $\alpha$ -7 nAChR'leri, trakea ve bronş epitelinde yoğun olarak ifade edilir. Bu bölgelerde nikotinerjik uyarım; endotel hücreleri, büyük hava yollarını döşeyen hücreler, tip II alveoler hücreler, serbest alveoler makrofajlar ve pulmoner nöroendokrin hücrelerin metabolizmalarını değiştirmektedir (55). Buna ek olarak, akciğerdeki non-nöronal hücrelerin asetilkolin sentezlediği ve kolinerjik otokrin döngünün gelişen akciğerde var olduğu görülmüştür (79). Bu nedenle, prenatal nikotin maruziyeti muhtemelen, kolinerjik otokrin döngünün etkilerini değiştirerek akciğer gelişimini etkilemektedir (39).

## 2.6. Melatonin

Uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (17, 80).

MEL 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından sığır pineal bezinde tespit edilmiştir (81, 82). Pineal bez dışında diffüz nöroendokrin sistem içinde kabul edilen APUD (amin prekürsör uptake and dekarboksilasyon) hücrelerinde de MEL sentezlendiği gösterilmiştir (83). Bu hücreler retina lakrimal bezler, beyin çeşitli bölgeleri ile bronş, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, gastrointestinal sistem (84, 85), timus, plasenta, over, testis ve endometriumda yer alır (83, 85). Ayrıca mast hücresi, lökosit ve naturel killer hücrelerinde de MEL sentezlenmektedir (83). İnsanda iki MEL reseptörü bulunur: MT1 (Mel1a) ve MT2 (Mel1b) (82). Bu reseptörler ve bağlayıcı bölgelerin farklı dağılımları bireysel fizyolojik fonksiyonları etkiler (83).

MEL sentezlenmesi ve salıverilmesi karanlık ile uyarılırken, ışık ile baskılanır. MEL sentezinde önemli rol oynayan AANAT ve HIOMT enzimlerin aktiviteleri gece daha yüksektir. Gün ışığının bulunduğu saatlerde retina fotoreseptör hücreleri hiperpolarizedir ve retinahipotalamik-pineal sistem sessizdir, bu dönemde çok az MEL salgılanır (83).

MEL'in bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında İanas ve ark. tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir (81). Direkt antioksidan etki gösteren MEL (17, 80), süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz gibi antioksidan enzimleri uyararak ve nitrik oksit sentaz gibi prooksidatif enzimleri baskılayarak dolaylı antioksidan etki de göstermektedir (83).



Yüksek hidrofilik (87) ve lipofilik özelliğe sahip olan MEL, eksojen olarak verildiğinde, kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçer (88). MEL için bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, MEL'in tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece MEL, hücre zarını, organelleri ve nükleusun etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir. Hücre membranı ile temas ettiğinde, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan MEL, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. MEL varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan süperoksit anyonu, hidrojen peroksit gibi radikallerin üretimi de azalmaktadır (81). Yapılan çalışmalar sonucunda, MEL'in özellikle organizmada son derece tahrip edici olduğu düşünülen hidroksil radikalının (-OH) olumsuz etkisini detoksifiye etmede çok etkili olduğu kanıtlanmıştır (89, 90).

MEL büyük ölçüde karaciğerde hidroksilasyonla (6-hidroksimelatonin) hızla metabolize olur ve sülfürik ya da glukronik asit ile konjuge olduktan sonra idrarla atılır. Böbreklerde de metabolize olan MEL'in, idrardaki başlıca metaboliti 6-sülfatoksimeatonin' dir ve idrardaki düzeyi serum melatonin düzeyi ile yakın ilişkilidir. MEL anne sütüne de geçer (83).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 3 aylık, ağırlıkları 200–250 gr, 22 adet Wistar albino dişi sıçan ve 12 adet erkek sıçan kullanıldı. Çalışmamız için İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulundan onay alındı (Etik kurul no: 2012/A-117). Sıçanlar oda sıcaklığı 24-27 °C arasında, havalandırma şartları sağlanmış, aydınlatılması 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda barındırıldı. Sıçanlar çalışma boyunca *ad libitum* standart pellet yemle beslendi.

Dişi sıçanlar, erkek sıçanlar ile çiftleştirildi ve vajinal smearda spermin gözlendiği tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi. Gebe sıçanlar rasgele 6 gruba ayrıldı. Doğan yavrular, her grupta 10 sıçan olacak şekilde düzenlendi.

- I. GRUP (Kontrol/n=3): Bu gruba herhangi bir madde uygulanmadı.
- II. GRUP (SF/n=3): Bu gruptaki sıçanlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun son gününe kadar (postnatal 22. gün) intraperitoneal (ip) olarak 0.50 cc SF uygulandı.
- III. GRUP (EA/n=3): Bu gruptaki sıçanlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun son gününe kadar %10'luk EA ip olarak uygulandı.
- IV. GRUP (MEL/n=3): Bu gruptaki sıçanlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun son gününe kadar 10 mg/kg MEL %10'luk EA'da çözülerek, ip yolla verildi.
- V. GRUP (NT/n=5): Bu gruptaki sıçanlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun son gününe kadar NT ((-)- nicotine tartrate, Sigma), SF ile çözülerek 3 mg/kg doz oranında ip yolla verildi.
- VI. GRUP (NT + MEL/n=5): Bu gruptaki sıçanlara gebeliğin 1. gününden laktasyonun son gününe kadar 3 mg/kg NT ve 10 mg/kg MEL (Merck) ip olarak uygulandı.

Yapılan tüm enjeksiyon uygulamaları 0.50 cc miktarında gerçekleştirildi. SF ve NT enjeksiyonları 08:00-09:00 saatleri arasında, EA ve MEL enjeksiyonları ise 16:00-17:00 saatleri arasında yapıldı.

### 3.2. Akciğerin Alınması

Deney sonunda yavru sıçanların (22 günlük) vücut ağırlıkları ölçüldü. Ardından ketamin ve ksilazin (5 mg/kg-50 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edildiler. Sıçanların akciğerleri alınarak, ağırlıkları tartıldı. Histopatolojik inceleme için akciğerden alınan doku örnekleri, %10'luk formaldehit içine alındı. Biyokimyasal analizler için alınan dokular -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

### 3.3. Histolojik Takip ve Boyama

Histopatolojik değerlendirme için alınan doku örnekleri 3-4 mm'lik küçük parçalara ayrılıp (trimlenerek) plastik doku takip kasetlerine alındı. Bu halde dokular 24 saat süre ile %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi. Fiksasyon işleminin ardından dokular 24 saat boyunca akar çeşme suyunda yıkandılar. Daha sonra dereceli alkollerde dehidrate edilerek, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 4-5 mikronluk kesitler alındı. Kesitlere, genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla hematoxilen-eozin (H-E), alveolar makrofajları incelemek amacıyla periodic asid schiff (PAS) ve mast hücrelerini gözlemek amacıyla toluidin mavisi boyama yöntemleri uygulandı.

#### Hematoxilen-Eozin Boyaması (H-E) (91)

Ksilen .....	5 dk.+ 5 dk. + 5 dk.
Absolü Alkol .....	3 dk.
Alkol 96 ° .....	3 dk.
Alkol 80 ° .....	3 dk.
Alkol 70 ° .....	3 dk.
Distile su .....	5-10 sn.
Hematoxilen .....	12-13dk.
Çeşme suyu .....	25 dk.
Eozin .....	2 dk.
Alkol 96 °.....	3 dk. + 3 dk.
Absolü Alkol .....	3 dk. + 3 dk. + 3 dk.
Ksilen .....	5 dk. + 5 dk. + 5 dk.

**Periodic Asid-Schiff Boyaması (PAS) (91)**

Kesitler deparafinize ve hidrate edildi,  
 Distile su .....2 dk.  
 Alsiyan mavisi .....35 dk.  
 Çeşme suyu .....2 dk.  
 Distile su .....2 dk.  
 Periyodik .....5 dk.  
 Distile su .....2 dk.  
 Schiff .....15 dk.  
 Çeşme suyu .....10 dk.  
 Alkol 96 ° .....3 dk. + 3 dk.  
 Absolü Alkol .....3 dk. + 3 dk. + 3 dk.  
 Ksilen .....5 dk. + 5 dk. + 5 dk.  
 Kanada balsamı ile kapatıldı.

**Toluidin Mavisi Boyaması (91)**

Kesitler deparafinize ve hidrate edildi,  
 Distile Su .....5 dk.  
 Toluidin mavisi .....4 dk.  
 Suda yıkama .....5 dk.  
 96° lik alkol .....1 dk.  
 Absolü alkol .....1 dk.  
 Ksilen .....5 dk. + 5 dk. + 5 dk.  
 Kanada balsamı ile kapatıldı.

### 3.4. Histolojik Değerlendirme

Alveollerin birleşmesi sonucu oluşan geniş hava boşlukları amfizem olarak değerlendirildi. Amfizem oluşumunu değerlendirmek için her kesitten X10'luk büyütmede 10 alan incelendi. Amfizem şiddeti ve yaygınlığına göre; 0-3 arasında skorlandı. 0: normal akciğer, 1: akciğerin  $\leq$  %25'ini kaplayan amfizem, 2: akciğerin %25-%50'ini kaplayan amfizem ve 3: akciğerin  $\geq$  % 75'ini kaplayan amfizem olarak derecelendirildi.

Alveollerin izlenmediği hücre kümelerinden oluşan alanlar alveolarizasyonda duraksama olarak değerlendirildi. Alveolarizasyon kaybının değerlendirilmesi için her kesitten X10'luk büyütmede 10 alan incelendi. Kaybın yaygınlığına göre; 0-3 arasında skorlandı. 0: normal akciğer, 1: akciğerin  $\leq$  %25'inde alveol alanlarının kaybı, 2: akciğerin %25-%50'ini kaplayan alveol alanlarının kaybı ve 3: akciğerin  $\geq$  % 75'ini kaplayan alveol alanlarının kaybı olarak değerlendirildi.

Leica Q Win görüntü analiz sistemi kullanılarak, H-E boyama metodu ile alveoller, PAS boyama metodu ile alveoler makrofajlar X40'luk büyütmeyle, toluidin mavisi boyama metodu ile mast hücreleri X20'lik büyütmeyle, her sıçan akciğerinden 10 alan sayılarak yapıldı.

Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambrige, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı, fotoğrafları çekildi.

### 3.5. Biyokimyasal Analizler

#### Dokuların homojenizasyonu

Enzim aktivitesi yapılacak doku tartıldı, 1/5 w/v oranında PBS (phosphate buffered saline) tamponu (pH: 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında PCV, Kinematica, Status homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, VWR Branson scientific sonifikatörde 30 saniyelik aralıklarla 3 defa 30 saniye sonifiye edildi. Homojenizasyon ve sonifiye işlemlerinin ardından 12.000 g' de +4 °C' de 15 dakika Ole Dich 157.MP mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı. Lipid peroksidasyonu belirlenecek dokunun homojenizasyonu işleminde %1,15'lik KCl 1/10 w/v oranında eklendi. Homojenat analiz yapılmıncaya kadar yine – 70 °C' de derin dondurucuda saklandı.

### **Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi**

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipitlerin peroksidasyonu, son ürün olan malondialdehit (MDA) miktarının Beuge (92) yöntemine göre belirlenmesiyle bulundu.

#### **Gerekli çözeltiler:**

% 15'lik TCA çözeltisi : 1 hacim

% 0.375'lik TBA çözeltisi : 1 hacim

0.25 N'lik HCl çözeltisi : 1 hacim

Yukarıdaki üç çözeltinin hassas bir şekilde hazırlanıp belirtilen hacim oranlarında karıştırılmasıyla bir solüsyon hazırlandı.

#### **Yöntem:**

- 1- 10 mL' lik santifüj tüpleri alındı ve bütün tüplere hazırlanan solüsyondan 4 mL kondu.
- 2- Kör tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 1 mL homojenat kondu.
- 3- Bir kez şiddetli bir şekilde karıştırıldı.
- 4- Kaynar suda ( 95- 100 °C 'de ) 15 dakika bekletildi.
- 5- Daha sonra tüpler soğutuldu ve 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6- Elde edilen süpernatanın 535 nm'deki absorbansı Shimadzu UV- 1601-UV visible spektrofotometresinde okundu.

Malondialdehit miktarı aşağıdaki fomülle hesaplandı.

MDA-TBA kompleksi için molar absorbans katsayısı:  $\epsilon : 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

### **3.6. İstatiksel Analiz**

İstatistiksel analizler SPSS programı (SPSS for Windows version 17) ve MedCalc (2007, Belçika) istatistiksel yazılım programları ile yapıldı. Tüm sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata ( $x \pm SE$ ) olarak ifade edildi. Tüm gruplardaki ölçülebilir değişkenlerin Shapiro Wilk normallik testine göre normal dağılım göstermediği saptandı ( $p > 0.05$ ). Bu nedenle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanıldı.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Vücut Ağırlıkları

Deney sonunda yavru sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol, sham, NT ve NT + MEL grupları birbirine benzer bulundu ( $p>0.05$ ). Sıçanların vücut ağırlıkları Tablo I'de verildi.

**Tablo I.** Grupların vücut ağırlıkları ve karşılaştırması.

Grup	Vücut Ağırlığı	P=0,007
Kontrol	31.63 ± 2.16	
EA	30.58 ± 0.66	
SF	32.80 ± 1.96	
MEL	32.74 ± 0.86	
NT	32.05 ± 1.91	
NT + MEL	34.63 ± 0.35	

### 4.2. Akciğer Ağırlıkları

Deney sonunda yavru sıçanların akciğer ağırlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Sıçanların akciğer ağırlıkları Tablo II'de verildi.

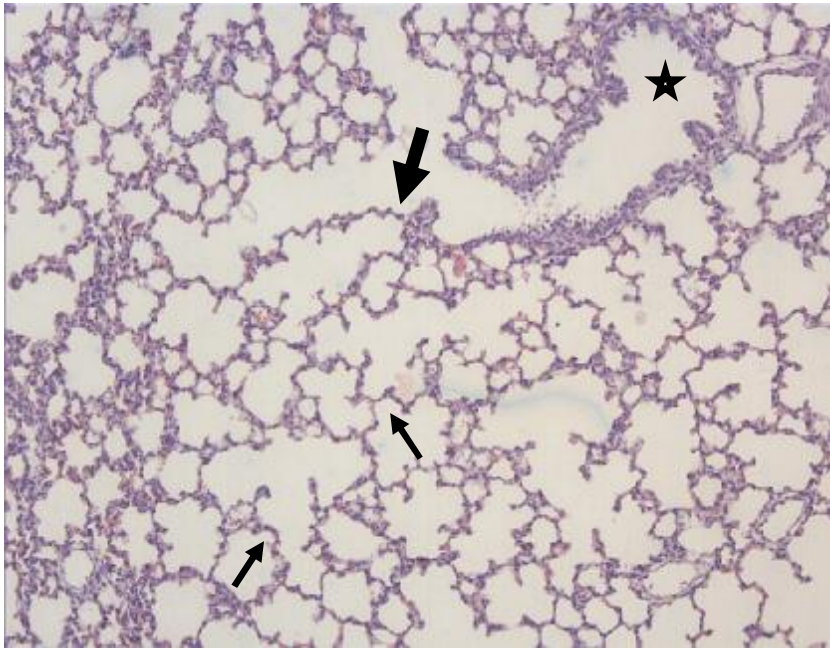
**Tablo II.** Grupların akciğer ağırlıkları ve karşılaştırması.

Grup	Akciğer Ağırlığı	P=0,12
Kontrol	0.33 ± 0.02	
EA	0.33 ± 0.01	
SF	0.33 ± 0.02	
MEL	0.31 ± 0.01	
NT	0.30 ± 0.02	
NT + MEL	0.32 ± 0.01	

### 4.3. Işık Mikroskopik Bulgular

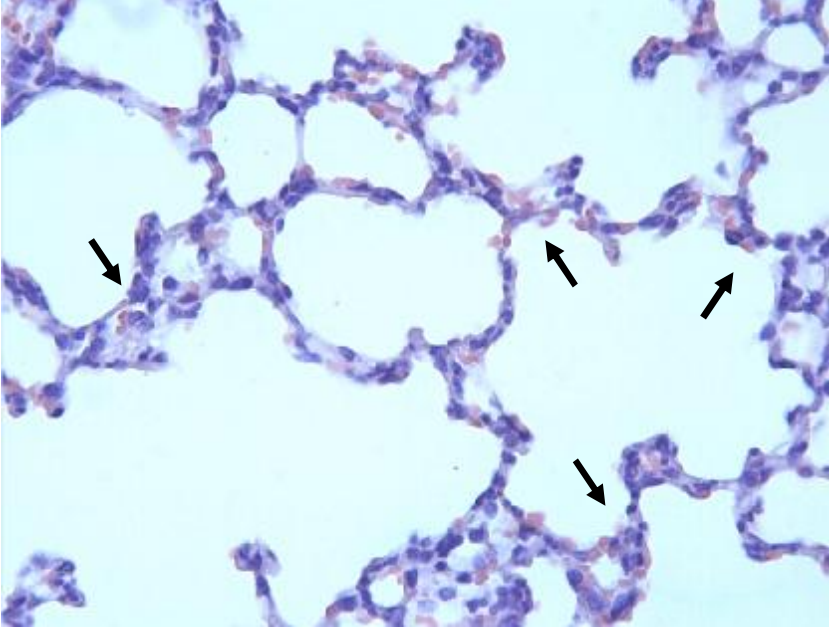
#### Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait akciğer doku kesitleri incelendiğinde, bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları normal olarak izlendi. Terminal bronşiyoller respiratuar bronşiyollere açılmakta, daha sonra da alveol kanalı ile çok sayıda alveolle devam etmekteydi (Resim 1). Alveoller bal peteklerine benzeyen tek tarafı açık, küçük cepler halinde izlendi (Resim 2). Bu grupta alveol sayısı  $23,6 \pm 0,7$  olarak bulundu.



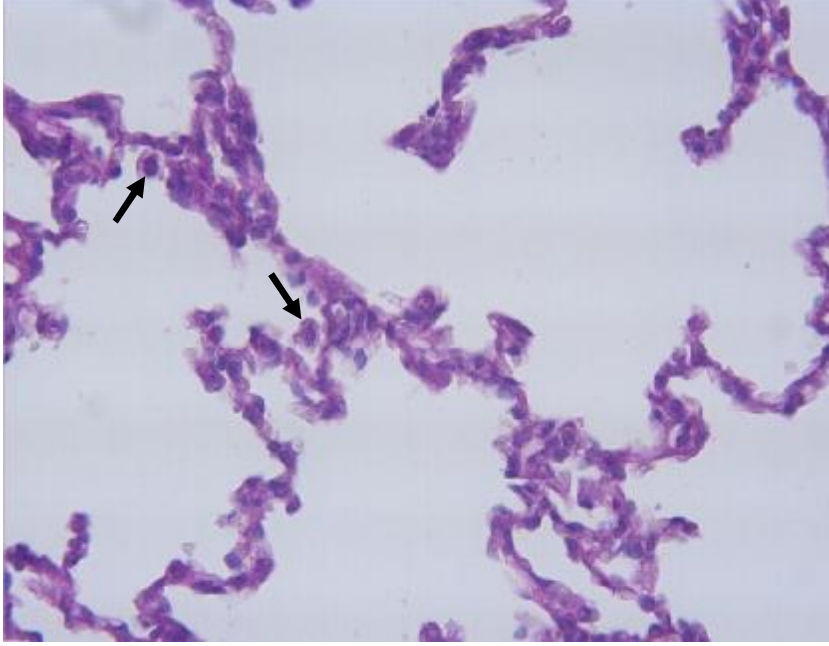
**Resim 1: Kontrol grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveollerin (ince ok) görünümü. H-E X10.**



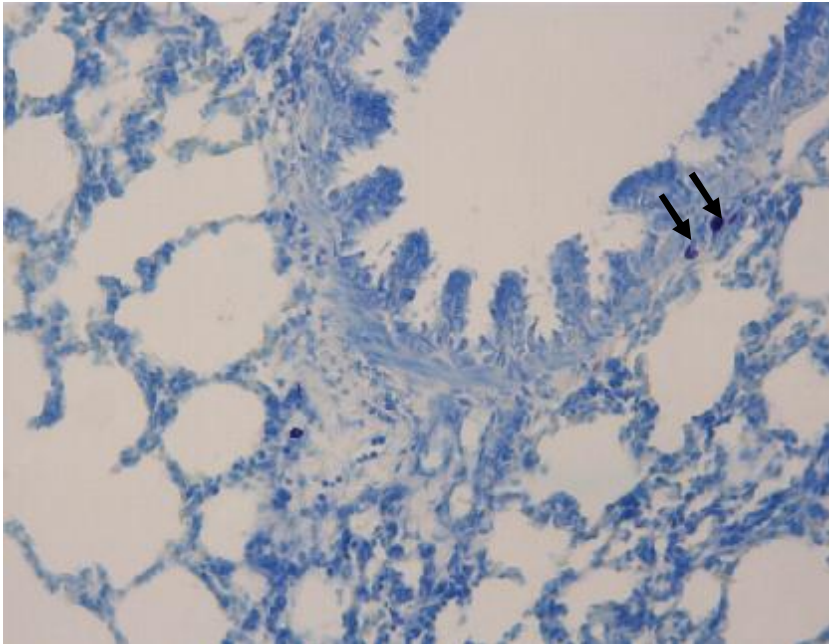


**Resim 2: Kontrol grubu; alveoller (oklar). H-E X40.**

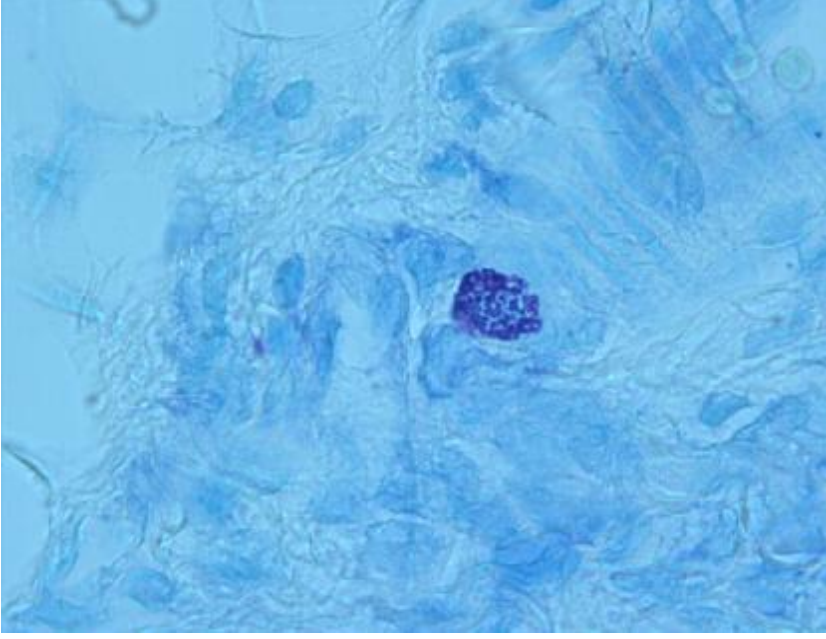
PAS boyama metodu ile sitoplazmaları pembe boyanan alveoler makrofajlar, alveol lümeni içerisinde ve alveol yüzeyine yakın olarak gözlemlendi (Resim 3). Toluidin mavisi boyama metodu uygulanan kesitlerde, mast hücreleri menekşe renginde boyanan granülleri ile ayırt edildi. Mast hücreleri bronş, bronşiyol ve damarların etrafındaki bağ dokusu içerisinde ve nadiren de alveoller arası interstisyum içerisinde izlendi (Resim 4, 5). Bu grupta ortalama alveoler makrofaj sayısı  $3.6 \pm 0.3$ , mast hücre sayısı ise  $2.6 \pm 0.6$  olarak tespit edildi.



**Resim 3: Kontrol grubu; alveol yüzeyine yakın yerleşmiş alveoler makrofajlar (oklar) izlenmekte. PAS X40.**



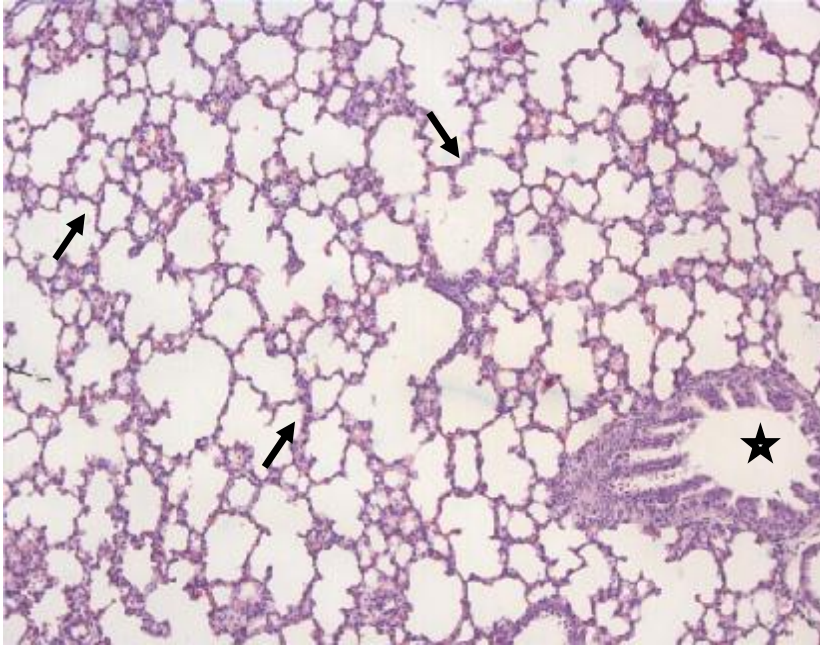
**Resim 4: Kontrol grubu; bronşiyol duvarının etrafındaki bağ dokusu içerisinde mast hücreleri (oklar) izlenmekte. Toluidin mavisi X40.**



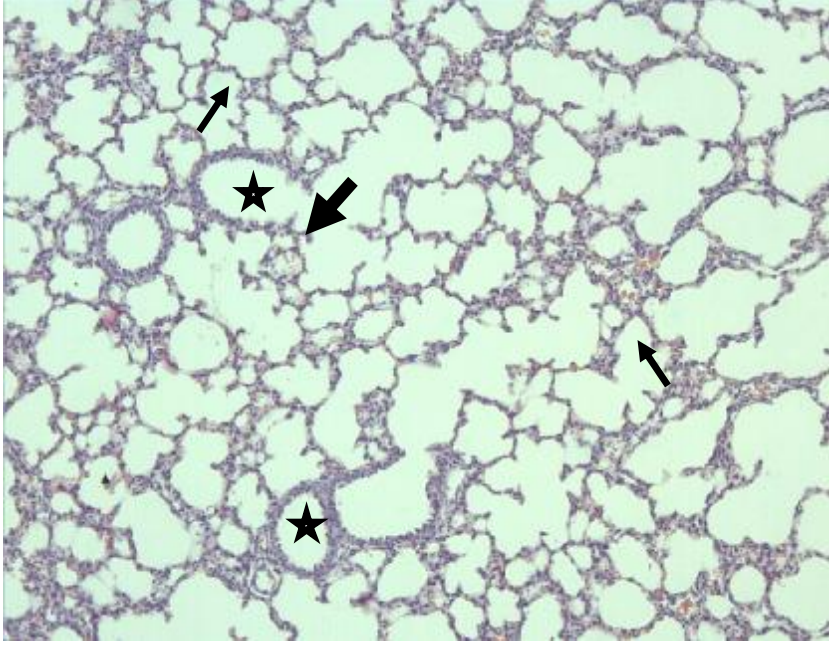
**Resim 5: Kontrol grubu; granülleri mavi-mor renkte boyanmış mast hücrenin görünümü. Toluidin mavisi X100.**

### Sham Grupları (SF, EA VE MEL)

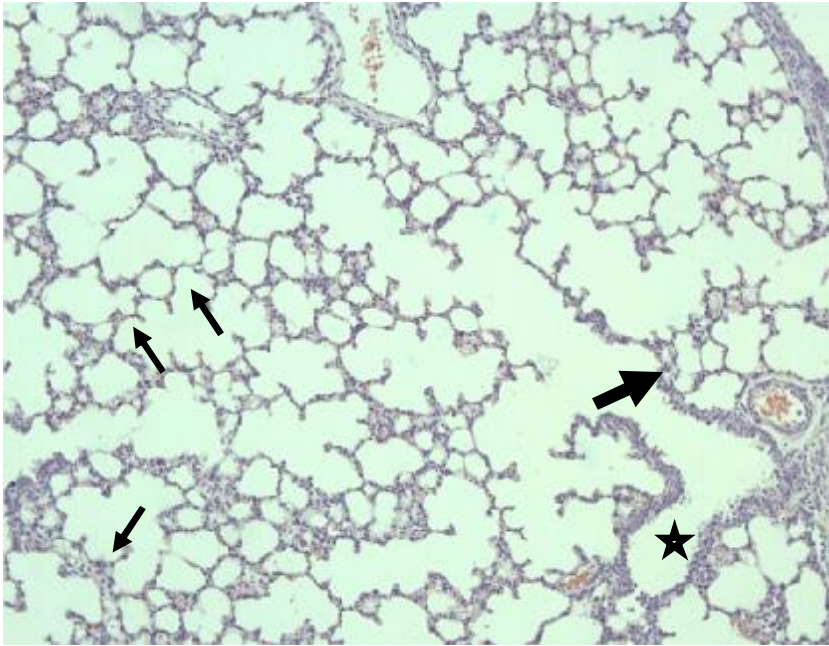
Bu gruplara ait kesitlerde bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik yapıda izlendi (Resim 6, 7 ve 8). Ortalama alveol sayısı SF grubunda  $20.6 \pm 0.8$ , EA grubunda  $21.4 \pm 0.8$  ve MEL grubunda  $21.9 \pm 0.8$  olarak bulundu. Alveol sayıları bakımından SF, EA ve MEL grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0.05$ ).



**Resim 6: SF grubu: bronşiyol (yıldız) ve alveoller (oklar). H-E X10.**

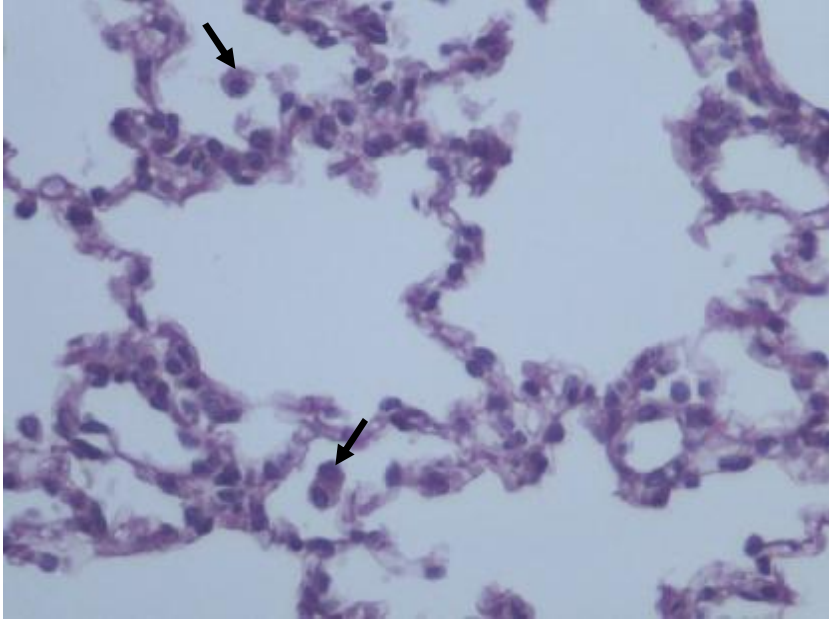


**Resim 7: EA grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveollerin (ince ok) görünümü. H-E X10.**

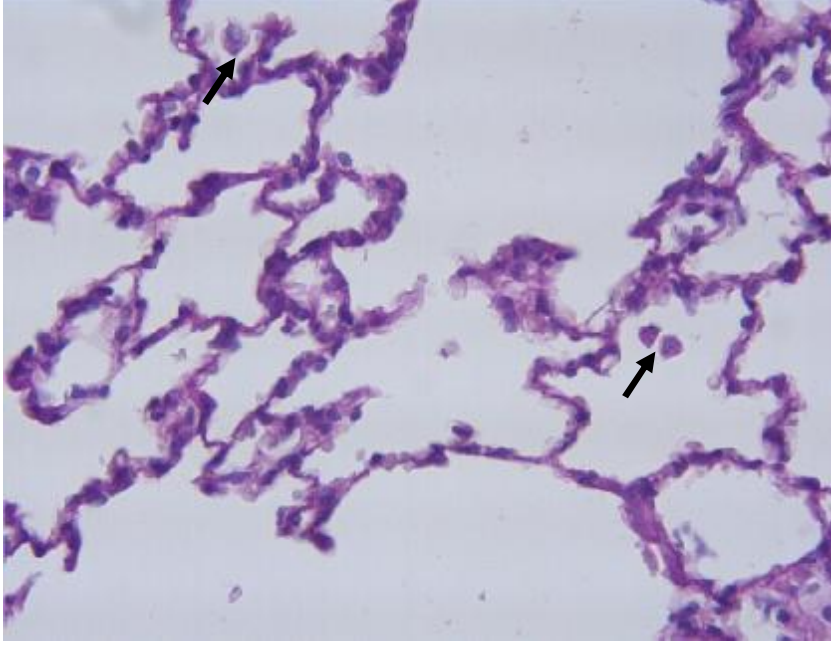


**Resim 8: MEL grubu; terminal (yıldız) ve respiratuar (kalın ok) bronşiyol ile alveoller (ince ok) kontrol grubuna benzer olarak izlenmekte . H-E X10.**

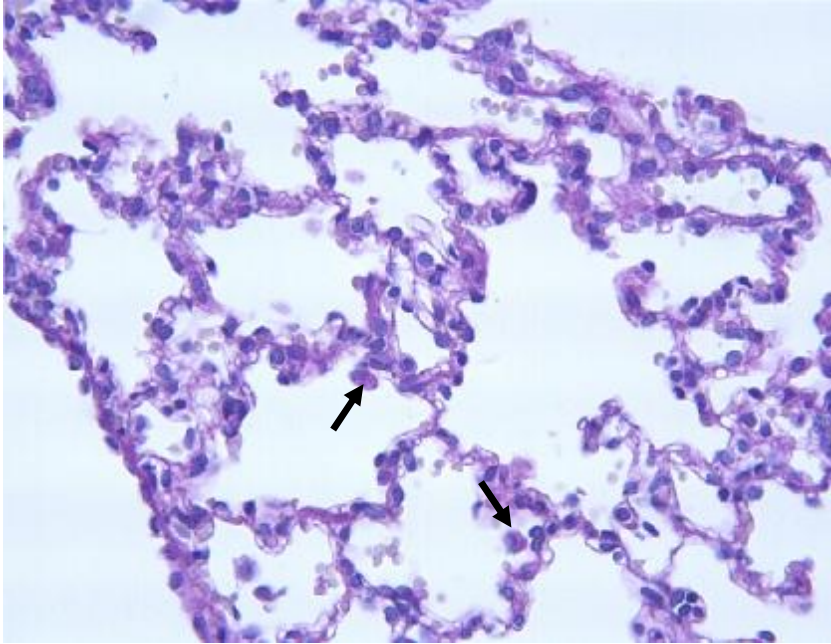
PAS boyama metodu uygulanan kesitlerde, her üç grupta da alveoler makrofajlar pembe renkte boyanan geniş sitoplazmaları ile alveollerin lümeninde izlendiler (Resim 9, 10 ve 11). Ortalama alveoler makrofaj sayısı SF grubunda  $3.4 \pm 0.4$ , EA grubunda  $4.0 \pm 0.5$  ve MEL grubunda  $4.4 \pm 0.6$  olarak tespit edildi. Alveoler makrofaj sayısı bakımından gruplar istatistiksel olarak birbirine benzer olarak bulundu ( $P>0.05$ ).



**Resim 9: SF grubu; alveol lümeni içerisinde izlenen alveoler makrofajlar (oklar). PAS X40.**

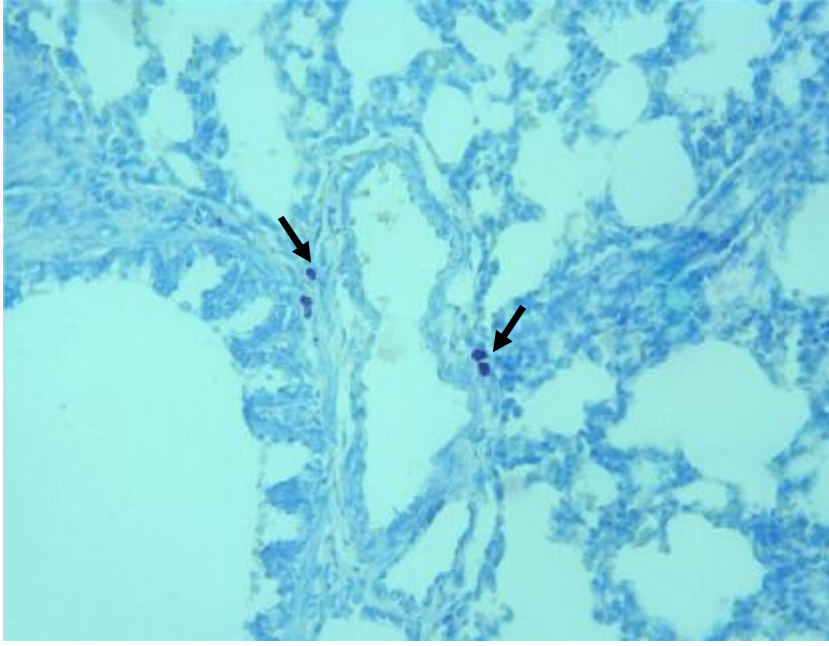


**Resim 10: EA grubu; alveol lümeninde alveoler makrofajlar izlenmekte (oklar).  
PAS X40.**



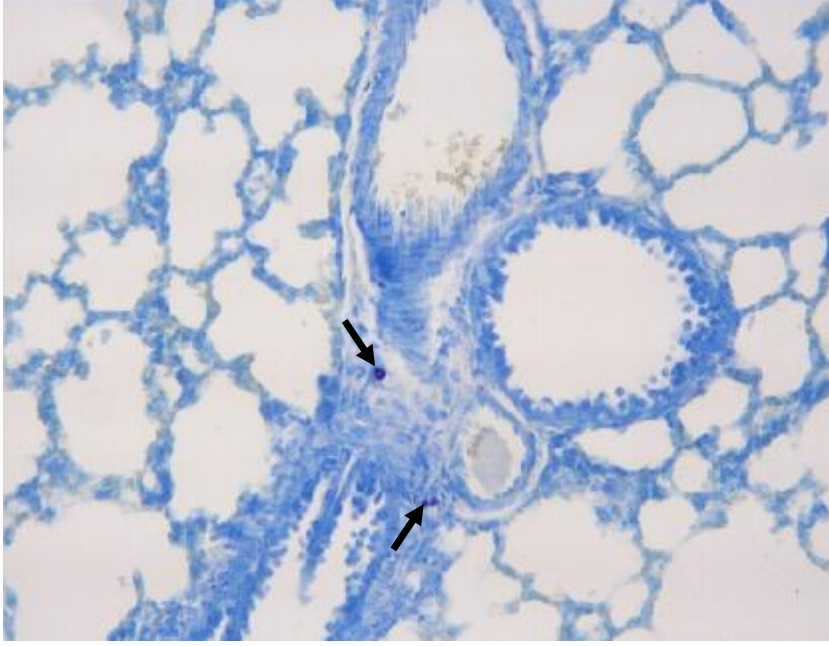
**Resim 11: MEL grubu; alveoler makrofajların görünümü (oklar) kontrol ve  
diğer sham gruplarına benzer olarak izlenmekte. PAS X40.**

Toluidin mavisi boyama metodu uygulanmış kesitlerde kontrol grubuna benzer şekilde, bu gruplarda da mast hücrelerine bronş, bronşiyol ve damarların etrafındaki bağ dokusu içerisinde rastlandı (Resim 12, 13 ve 14). Ortalama mast hücre sayısı SF grubunda  $2.6 \pm 0.6$ , EA grubunda  $2.1 \pm 0.3$  ve MEL grubunda  $2.8 \pm 0.5$  olarak tespit edildi. Gruplar arasında mast hücre sayısı bakımından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0.05$ ).

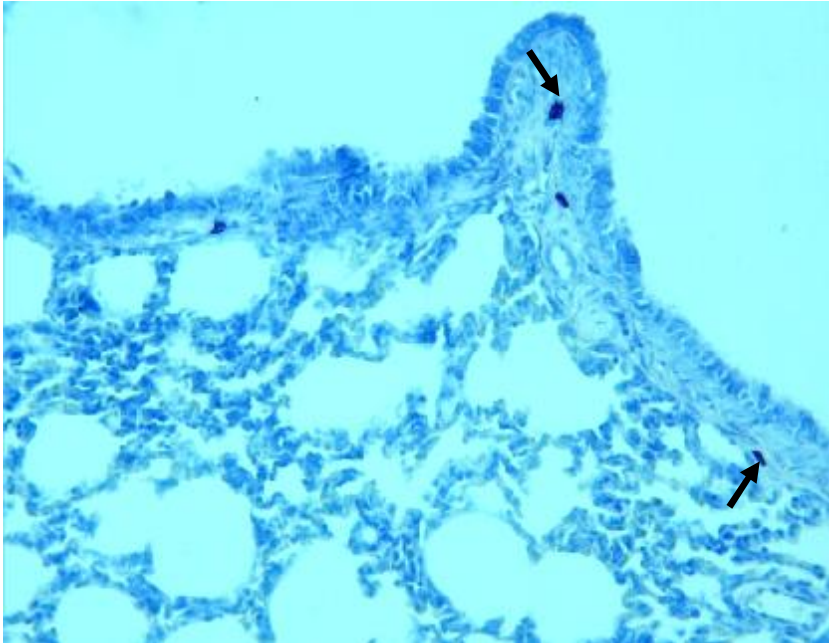


**Resim 12: SF grubu; bronşiyol ve damar duvarında mast hücrelerinin görünümü (oklar). Toluidin mavisi X20.**





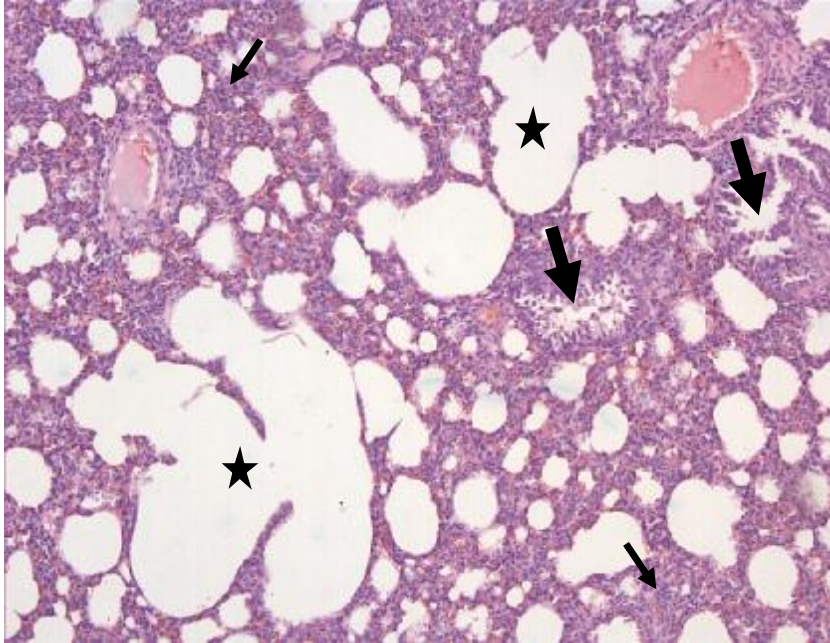
**Resim 13: EA grubu; bronşiyol ve damar duvarındaki mast hücreleri (oklar).  
Toluidin mavisi X20.**



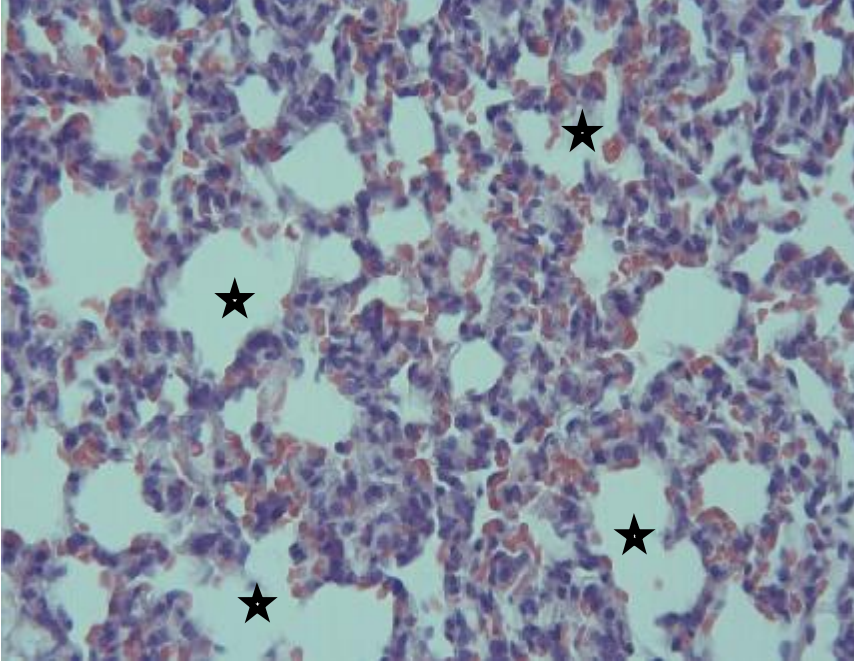
**Resim 14: MEL grubu; bronşiyol duvarında izlenen mast hücreleri (oklar).  
Toluidin mavisi X20.**

### NT Grubu

H-E boyama metodu uygulanan kesitler incelendiğinde, akciğerin bazı alanlarının az sayıda alveolden, diğer bazı alanlarının ise alveollerin birbirleri ile birleşmesi sonucu meydana gelen geniş hava boşluklarından oluştuğu görüldü (Resim 15). Semikantitatif olarak yapılan histolojik değerlendirme sonucunda alveol gelişiminin yetersiz olduğu alanlar (alveolarizasyon kaybı)  $0.76 \pm 0.10$  olarak bulunurken, alveollerin birleşmesi sonucu oluşan amfizemik alanlar  $0.75 \pm 0.14$  olarak tespit edildi. Kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında, bu grupta alveol gelişiminin az olduğu alanlar ve amfizemik alanların istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu izlendi ( $P < 0.0001$ ). Bronşiyolden sonra dallanarak oluşan terminal ve respiratuar bölümlere nadir olarak rastlandı. Distal hava yollarında izlenen bu azalma ile beraber alveollerin sayısında da azalma izlendi. Bu grupta ortalama alveol sayısı  $16.8 \pm 0.7$  olarak tespit edildi. Kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında, NT grubunda alveol sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $P < 0.0001$ ). Ayrıca alveollerin boyut ve şekilleri düzensizdi (Resim 16).

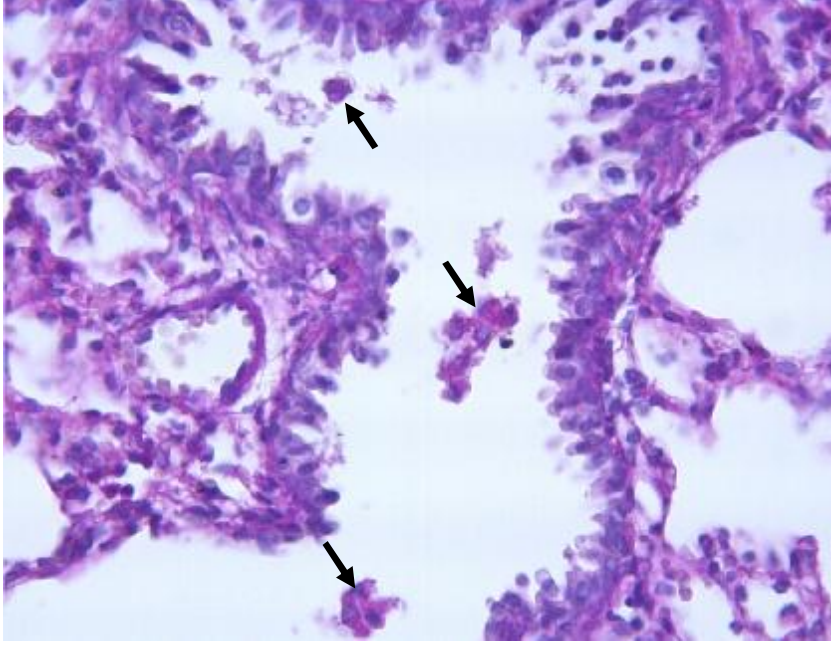


**Resim 15: NT grubu; alveol gelişiminin olmadığı alanlar (ince ok), amfizemik alanlar (yıldızlar) ve tam açılmamış bronşiyoller (kalın ok). H-E X10.**

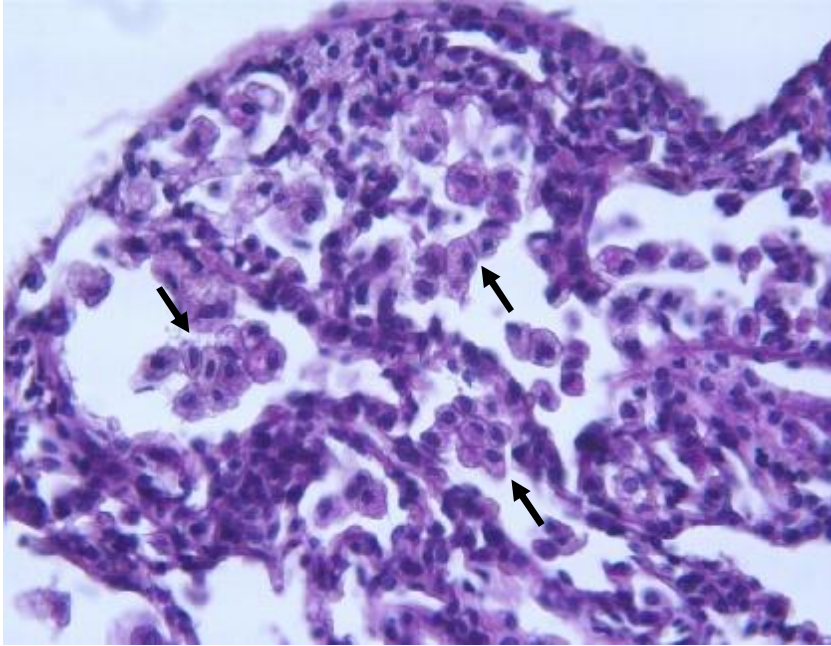


**Resim 16: NT grubu: alveoller düzensiz olarak izlenmekte (yıldız). H-E X40.**

Dikkat çeken diğer bir bulgu PAS boyama metodu uygulanan kesitlerde bronşiyollerin (Resim 17) ve alveollerin (Resim 18) lümenleri içerisinde tek tek ya da gruplar halinde PAS (+) alveoler makrofajların izlenmesiydi. Ortalama alveoler makrofaj sayısı  $8.6 \pm 0.6$  olarak tespit edildi. Kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında, bu grupta alveoler makrofaj sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ( $P < 0.0001$ ).

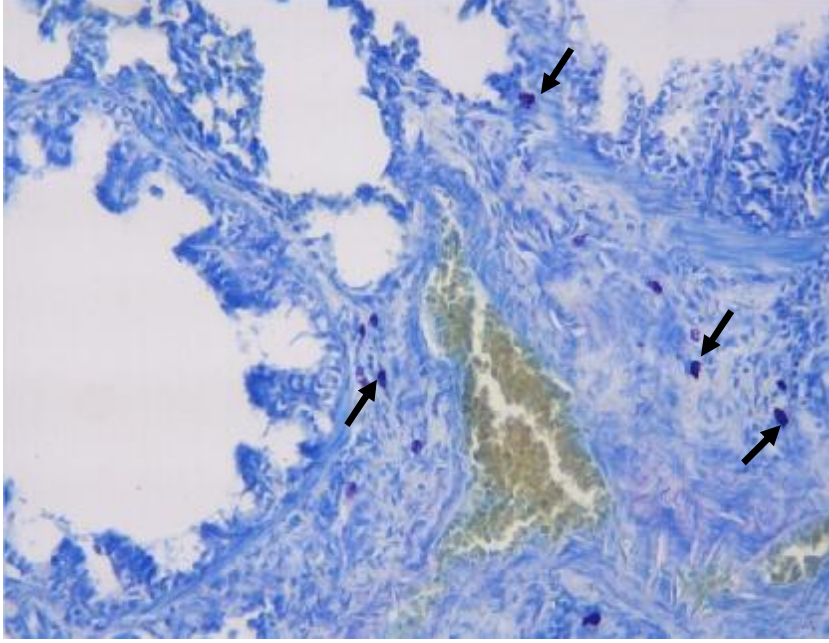


**Resim 17: NT grubu; bronşiyol lümeninde gruplar halinde izlenen alveoler makrofajlar (oklar). PAS X40.**



**Resim 18: NT grubu; alveol lümeni içerisinde çok sayıda ve gruplar halinde izlenen alveoler makrofajların görünümü (oklar). PAS X40.**

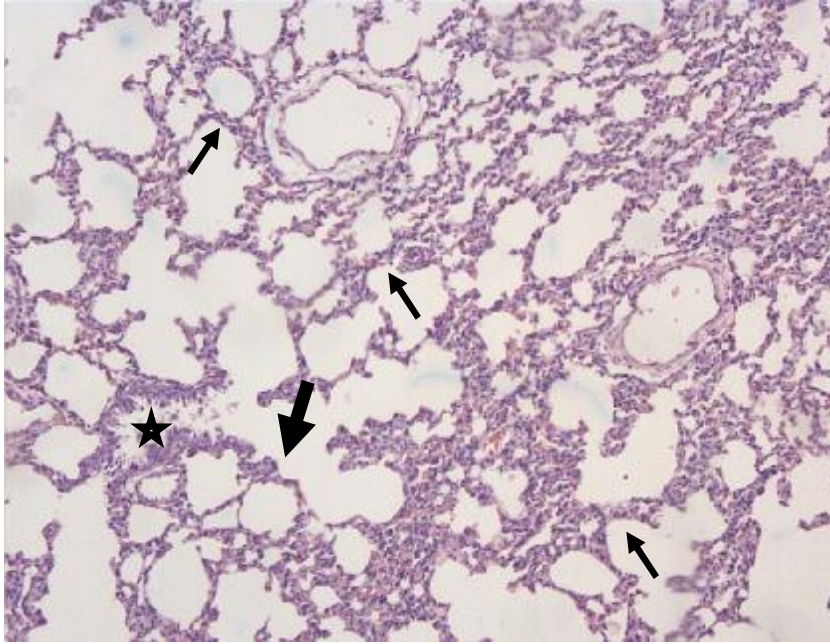
Toluidin mavisi boyama metodu uygulanan kesitlerde mast hücreleri, bronşiyol ve damarların etrafında mavi-mor renkte boyandılar (Resim 19). Bu grupta ortalama mast hücre sayısı  $5.9 \pm 0.9$  olarak saptandı. Kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında; NT grubunda, mast hücre sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ( $P=0.0002$ ).



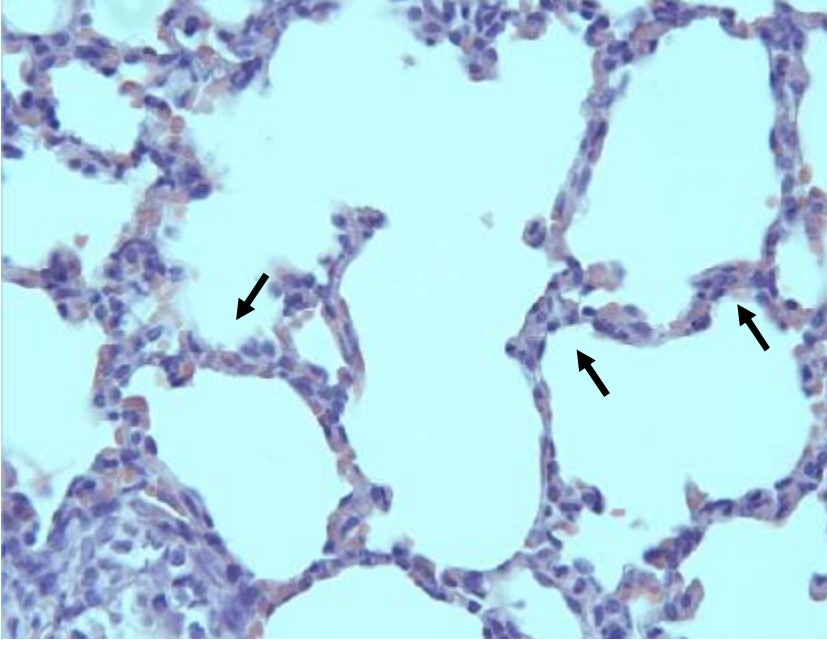
**Resim 19: NT grubu; bronşiyol duvarında çok sayıda izlenen mast hücreleri (ok). Toluidin mavisi X20.**

### NT + MEL Grubu

H-E boyama metodu uygulanan preparatlar incelendiğinde; alveollerde yer yer amfizematöz genişlemeler ve alveoler septalardaki kalınlaşma bulguları dışında, bu grubun akciğer kesitlerinin kontrol ve sham gruplarına benzer olduğu izlendi (Resim 20 ve 21). Histolojik değerlendirme sonucunda alveol gelişiminin yetersiz olduğu alanlar (septasyon kaybı)  $0.30 + 0.06$ , amfizematöz genişlemeler ise  $0.16 + 0.04$  olarak bulundu. Alveol gelişiminin yetersiz olduğu alanlar ve amfizematöz genişlemeler bakımından, NT + MEL grubunda, NT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptandı ( $P < 0.0001$ ). Diğer yandan, bu parametreler yönünden, kontrol ve sham grupları ile NT + MEL grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P > 0.05$ ). Ortalama alveol sayısı  $19.8 \pm 0.6$  olarak tespit edildi. Bu grupta, alveol sayısı, nikotin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken ( $P < 0.0001$ ), sham grupları ile karşılaştırıldığında grupların birbirine benzer olduğu görüldü ( $P > 0.05$ ).

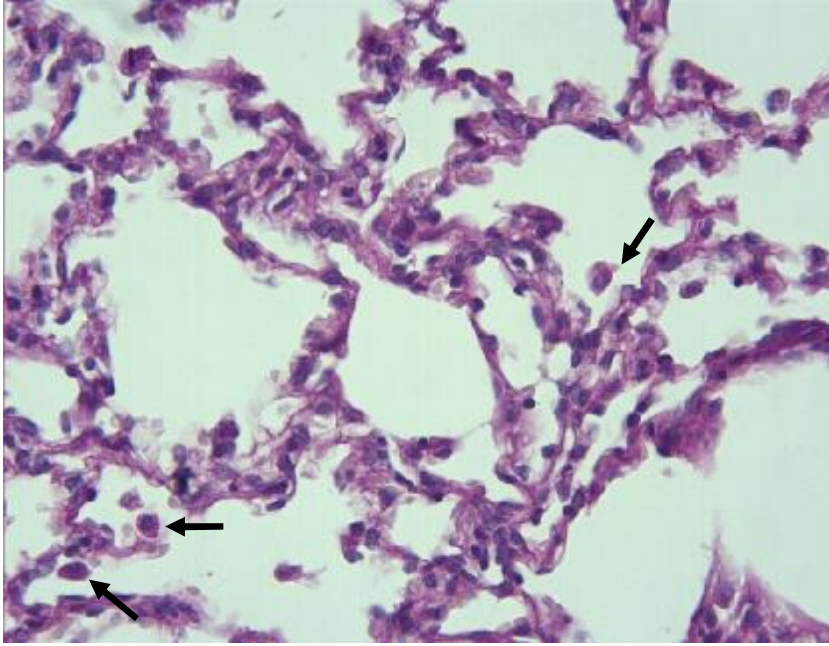


**Resim 20: NT + MEL grubu; terminal bronşiyol (yıldız), respiratuar bronşiyol (kalın ok) ve alveoller (ince ok) izlenmekte. H-E X10.**



**Resim 21: NT + MEL grubu; alveollerin görünümü. H-E X40.**

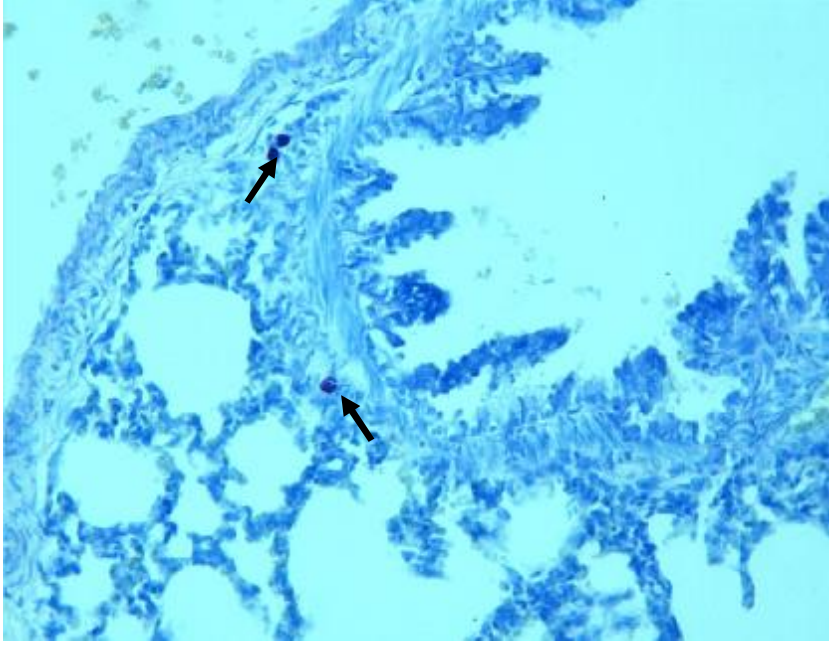
PAS boyama metodu uygulanan kesitler incelendiğinde alveoler makrofajlar, alveol ve bronşiyollerin lümenlerinde izlendi (Resim 23). Ortalama alveoler makrofaj sayısı  $5.2 \pm 0.4$  olarak bulundu. Alveoler makrofajların sayısı NT grubuna göre bu grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştı ( $P < 0.0001$ ). Ancak kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında alveoler makrofaj sayısı bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $P < 0.0001$ ).



**Resim 22: NT + MEL grubu; alveoler makrofajlar (oklar). PAS X40.**



Toluidin mavisi boyama metodu uygulanmış kesitlerde mast hücreleri bronşiyol ve damarların çevresinde izlendi (Resim 23). Ortalama mast hücre sayısı  $3.4 \pm 0.6$  olarak bulundu. Bu grupta, mast hücre sayısı, NT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken ( $P < 0.0001$ ), kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmadı ( $P > 0.05$ ).



**Resim 23: NT + MEL grubu; bronşiyol duvarında mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi X20.**

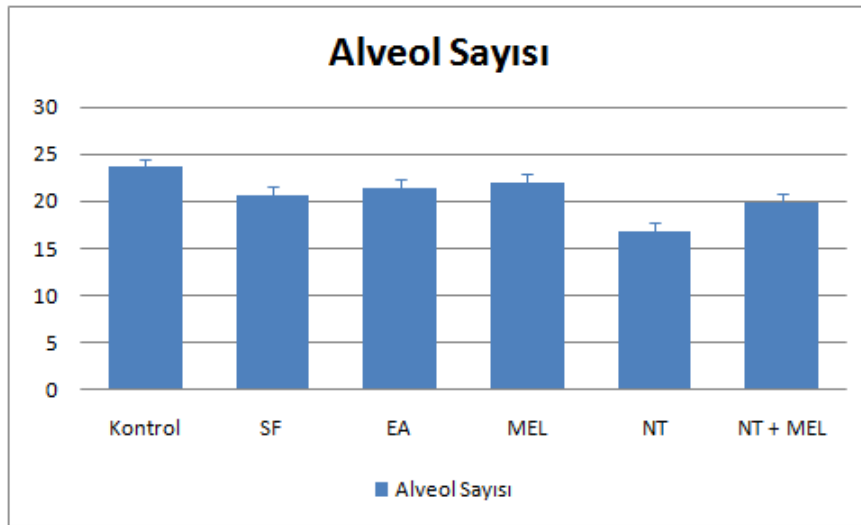
Histolojik skorlama bulguları, Tablo III ve Tablo IV'te; alveol sayısı, Grafik 1 ve Tablo V'te; alveoler makrofaj sayısı, Grafik 2 ve Tablo VI'da; mast hücre sayısı, Grafik 3 ve Tablo VII'de verildi.

**Tablo III.** Grupların amfizem skorlama bulguları ve karşılaştırması.

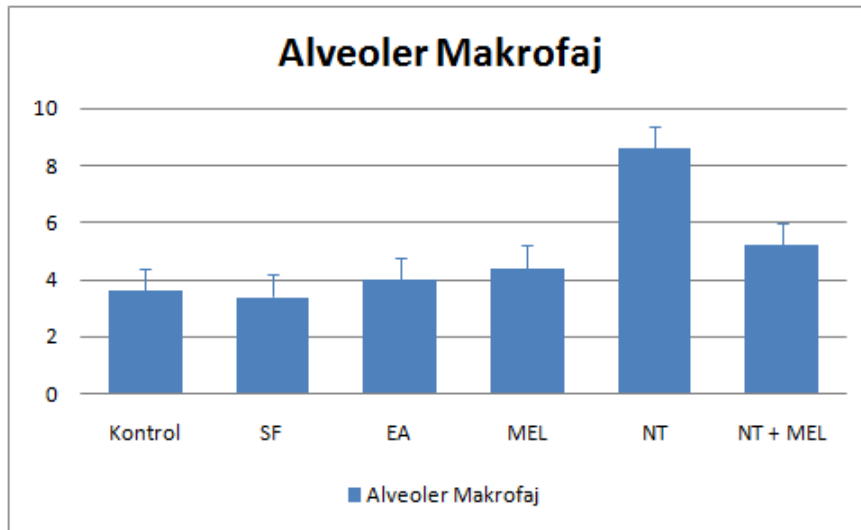
Grup	Amfizem	P<0,0001
Kontrol	0,08 ± 0.03	5
SF	0,06 ± 0.03	5
EA	0,10 ± 0.03	5
MEL	0,11 ± 0.04	5
NT	0,75 ± 0.14	1, 2, 3, 4, 6
NT + MEL	0,16 ± 0.04	5

**Tablo IV.** Grupların alveolarizasyon kaybı skorlama bulguları ve karşılaştırması.

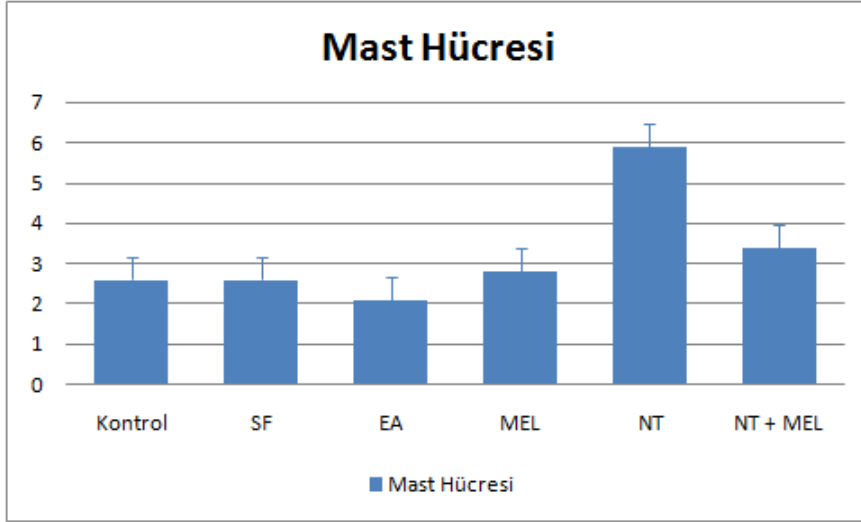
Grup	Septasyon Kaybı	P<0,0001
Kontrol	0,15 ± 0.04	5
SF	0,25 ± 0.06	5
EA	0,19 ± 0.04	5
MEL	0,13 ± 0.04	5
NT	0,76 ± 0.10	1, 2, 3, 4, 6
NT + MEL	0,30 ± 0.06	5

**Grafik 1.** Grupların ortalama alveol sayıları.**Tablo V.** Grupların ortalama alveol sayılarının karşılaştırılması.

Grup	Alveol Sayısı	P<0,0001
Kontrol	23.6 ± 0.7	2, 3, 5, 6
SF	20.6 ± 0.8	1, 5
EA	21.4 ± 0.8	1, 5
MEL	21.9 ± 0.8	5
NT	16.8 ± 0.7	1, 2, 3, 4, 6
NT + MEL	19.8 ± 0.6	1, 5

**Grafik 2.** Grupların ortalama alveoler makrofaj sayısı.**Tablo VI.** Grupların ortalama alveoler makrofaj sayılarının karşılaştırılması.

Grup	Alveolar Makrofaj	P<0,0001
Kontrol	3.6 ± 0.3	5, 6
SF	3.4 ± 0.4	5, 6
EA	4.0 ± 0.5	5, 6
MEL	4.4 ± 0.6	5, 6
NT	8.6 ± 0.6	1, 2, 3, 4, 6
NT + MEL	5.2 ± 0.4	1, 2, 3, 4, 6

**Grafik 3.** Grupların ortalama mast hücre sayısı.**Tablo VII.** Grupların ortalama mast hücre sayılarının karşılaştırılması.

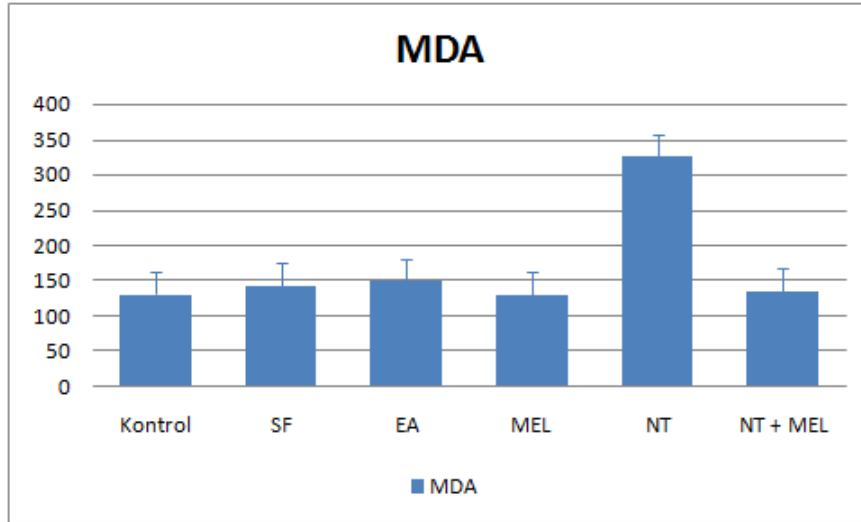
Grup	Mast Hücreleri	P=0.0002
Kontrol	2.6 ± 0.6	5
SF	2.6 ± 0.6	5
EA	2.1 ± 0.3	5
MEL	2.8 ± 0.5	5
NT	5.9 ± 0.9	1, 2, 3, 4, 6
NT + MEL	3.4 ± 0.6	5

#### 4.4. Biyokimyasal Bulgular

NT grubuna ait akciğerlerdeki MDA seviyesinin ( $325.0 \pm 27.3$ ), kontrol ve sham grupları (Kontrol;  $130.6 \pm 4.9$ , SF;  $142.9 \pm 3.7$ , EA;  $149.1 \pm 5.1$ , MEL;  $130.4 \pm 7.6$ ) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselmiş olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, NT + MEL grubunun MDA seviyesinin ( $135.1 \pm 9.3$ ), NT grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli şekilde azalmış olduğu gözlemlendi ( $p < 0.0001$ ).

Grupların MDA seviyeleri, Grafik 4 ve Tablo VIII 'de verildi.

**Grafik 4.** Grupların MDA seviyesi.



**Tablo VIII.** Grupların MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

Grup	MDA (nmol/gr)	P < 0,0001
Kontrol	130.6 ± 4.9	2, 3, 5
EA	142.9 ± 3.7	1, 4, 5
SF	149.1 ± 5.1	1, 4, 5, 6
MEL	130.4 ± 7.6	2, 3, 5
Nikotin	325.0 ± 27.3	1, 2, 3, 4, 6
Nikotin + MEL	135.1 ± 9.3	3, 5

## 5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre gelişmiş ülkelerdeki kadınların yaklaşık %20'si, gelişmekte olan ülkelerdeki kadınların ise yaklaşık %9'u sigara içmektedir (1). Sigara bağımlılığı olan kadınların çoğunun gebelik ve emzirme dönemlerinde de sigara içme alışkanlıklarını devam ettirmeleri nedeniyle, sigara içiminin bebekte oluşturacağı zararlı etkileri araştırmaya yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır.

NT sigara dumanının en önemli bileşenlerinden biridir ve deneysel çalışmalarda, sigaranın toksisitesinin oluşmasında genellikle NT kullanılmıştır (93). Hızlı bir şekilde plasentadan geçerek amniyotik sıvıya karışan NT, fetusun derisi tarafından emilir. Doğumdan sonra ise, anne sütü ile beslenen bebeğe, annenin plazmasındaki konsantrasyondan 2-3 kat daha yüksek miktarda NT geçer (54). Çalışmalar maternal sigara içiminin, fetus dokularında NT ve kotinin birikimine neden olduğunu göstermiştir (94).

Deneysel çalışmalarda birçok farklı dozda NT uygulanmıştır (93, 95). Jalali ve ark., Canöz ve ark. çalışmalarında NT'yi 3 mg/kg dozda uygulamışlardır (96, 97). Bu dozun sıçanlarda oluşturduğu plazma NT seviyesi, ağır sigara içicilerinde bulunan plazma NT seviyesi aralığındadır (98). Biz de bu çalışmada NT'yi, gebeliğin ilk gününden laktasyonun son gününe kadar 3 mg/kg dozda uyguladık. Memeli akciğer gelişimi klasik olarak, psödoglandular evre, kanaliküler evre, terminal kese dönemi ve alveoler evre olarak ayrılmıştır (95, 96). Böylece çalışmamızda akciğer gelişiminin bütün dönemleri boyunca sıçanlar nikotine maruz bırakılmıştır.

Çalışmamızda gebelik ve laktasyon süresince, ip olarak NT uygulanan sıçanların yavrularının vücut ağırlıkları kontrol ve sham grupları ile benzer olarak bulundu. Maritz ve ark. da maternal NT'ye maruz kalan yavruların vücut ağırlıklarının etkilenmediğini rapor etmişlerdir (100). Guan ve ark. sıçanlarla yaptıkları çalışmada NT'yi sıçanların aktif fazları (karanlık) boyunca, beyindeki 4. ventrikül içerisine infüze etmişlerdir (101). Aktif fazda NT uygulamasının yiyecek alımında büyük bir düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir (100). Biz çalışmamızda NT'yi, her sabah (saat 09:00) sıçanlar inaktif fazda (aydınlık) ve yiyecek alımları en az seviyede iken uyguladık. NT'nin ömrü yaklaşık 90 dakikadır (100). Bu çalışmada NT'nin sıçanlara enjekte edilmesinden, 9 saat sonra sıçanların aktif fazı başladı. Bu

nedenle NT verilmesi sıçanların yiyecek alımını etkilemediğinden, NT grubundaki yavru sıçanların vücut ağırlıkları da etkilenmedi.

İnsanlarda maternal sigara içiminin, yavruda solunum sistemi hastalıkları insidansındaki yükselmeye ilişkili olduğu birçok çalışmayla gösterilmiştir (102). Yapılan son çalışmalarda gebelik süresince sigara dumanına maruz kalan sıçan yavrularının akciğerlerinde, septal büyüme ve buna bağlı olarak alveolarizasyon hızının yavaşladığı rapor edilmiştir (103, 104). Sekhon ve ark., prenatal NT maruziyetinin maymun fetuslarında akciğer gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (105). Biz de çalışmamızda maternal NT uygulanan yavru sıçanların akciğerlerinde alveollerin gelişmediği alanlara rastladık. Ayrıca bu sıçanların akciğerlerinde alveollerin sayısı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede azalmıştı. Akciğer gelişiminde fibroblastlar ve elastik lifler, septasyon ve alveollerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (106). Sigara dumanına maruziyet, fibroblast hücre döngüsü geçiş zamanını uzatması ve böylece proliferasyonunu, migrasyonunu ve aktivitesini inhibe etmesi yoluyla bronşiyollerin dallanmasını ve dolayısıyla alveolarizasyonu engellemektedir (107). Bu nedenle akciğer fibroblast fonksiyonlarının engellenmesi alveol oluşumunda bozulmaya, buna bağlı olarak da alveol sayısında kalıcı bir azalmaya yol açabilir (39). Petre ve ark. da, fetal ve neonatal NT verilen sıçanların postnatal akciğer gelişiminin ve alveolarizasyonun bozulmasını, NT'nin akciğer vaskülarizasyonunu önemli derecede düşürmesine bağlamışlardır (108). Diğer yandan NT'nin dokularda süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksit oluşumunu arttırdığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir (93, 120, 124). Esfahani ve ark. yaptıkları in vitro çalışmalarda süperoksit anyonu ve hidrojen peroksitin embriyo gelişimini bloke ettiğini göstermişlerdir (109). Bu nedenle NT serbest oksijen radikallerinin oluşumunu indükleyerek de akciğer gelişim sürecini inhibe etmiş olabilir.

Çalışmamızda gözlemlediğimiz diğer bir bulgu, alveollerin genişlemesi ile karakterize amfizemik alanlardı. Amfizem terminal bronşiyollerin distalindeki hava alanlarının kalıcı olarak, anormal bir şekilde genişlemesi ile meydana gelmektedir (110). Bu süreçte alveol duvarının geri çekilmesi ile alveol kanalı dilate olur, alveol çapı artar ve alveolar septa devamlı olarak kısalır veya tamamen ortadan kalkabilir (111). Araştırmacılar sigara dumanının pulmoner amfizem için en önemli risk



faktörü olduğunu kanıtlamışlardır (112). Maritz ve ark. yaptıkları bir çalışmada, sigara dumanının en önemli alkoldi olan NT'nin maternal maruziyeti sonucunda mikroskopik amfizem geliştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, amfizem oluşmuş akciğerde alveol sayısının, amfizem oluşmamış akciğerdekinden daha az sayıda olduğu da rapor edilmiştir (111). Maternal NT maruziyetinin yavrularda amfizeme neden olduğuna dair iki mekanizma bulunmaktadır. Birincisi enerji metabolizmasının NT tarafından geriye dönüşümsüz olarak inhibe edilmesi sonucu akciğer hücrelerinin ölümü ve amfizem gibi akciğer bütünlüğünün bozulmasıdır. İkincisi ise proteaz-antiproteaz dengesini bozarak proteaz aktivitesini artırmasıdır. Çalışmalar NT'nin alveolar makrofajlar için bir kemotaktik ajan olarak rol oynadığını göstermektedir. Akciğerde biriken makrofajlar elastaz gibi proteazlar salgılamaktadır. Böylece bu hücreler, alveollerin etrafını saran ve onları destekleyen bağ doku çatısını yıkarak amfizem oluşumuna neden olmaktadır (110). Bu çalışmada prenatal ve neonatal dönemde NT uygulanan sıçanların akciğerlerinde alveoler makrofaj sayısının kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi.

Mononükleer fagositik sistemin pulmoner üyeleri olan alveoler makrofajlar, patojenlere ve diğer çevresel değişikliklere karşı akciğeri savunmada ve akciğer parankimasının onarımında merkezi bir rol oynar. Alveoler makrofajlar çoğunlukla respiratuar epitel yüzeyinde yerleşim gösterirler ve dış çevreye direkt olarak maruz kalırlar. Akciğerin maruz kaldığı çevresel risklerin en yaygın olanlarından biri sigara dumanıdır (113). Araştırmalar sigara dumanının, insanlarda ve deney hayvanlarında alveoler makrofajların mobilizasyonuna neden olduğunu göstermiştir (115). Harada ve ark da çalışmalarında sigara dumanına maruziyetin, alveoler makrofaj sayısında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu artışa sigara dumanındaki tar ve NT içerikli partikül bileşenlerinin yol açtığını rapor etmişlerdir (116). Biz de çalışmamızda NT uygulanan grupta alveoler makrofaj sayısının, kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını tespit ettik.

Çalışmamızda, NT grubundaki akciğer mast hücre sayılarının kontrol ve sham gruplarına göre belirgin olarak arttığını gözlemledik. Erbagci ve ark. da sigara içenlerin akciğer ve derilerinde, hücre aktivasyonuna bağlı olarak mast hücre sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir (117). Kemik iliğinden köken alan mast hücreleri, allerjik ve immünolojik reaksiyonların yanı sıra, inflamatuvar

reaksiyonlarda da rol oynayan hücrelerdir (118). Yapılan in vitro çalışmalarda mast hücre membranları üzerinde  $\alpha$ -7,  $\alpha$ -9 ve  $\alpha$ -10 gibi kolinerjik sisteme ait AChR'lerinin bulunduğu gösterilmiştir. Yahara ve ark. NT'nin akciğer mast hücre aktivasyonunu, membranda bulunan bu reseptörler üzerinden etkilediğini bildirmişlerdir (119).

Sigara dumanının temel toksik bileşeni olan NT'nin, reaktif oksijen türlerinin üretimini uyararak, oksidatif stresin oluşumuna neden olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca NT'nin mitokondrial yolakta solunum zincirini etkileyip süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksit oluşumunu arttırdığı rapor edilmiştir. Diğer bir mekanizmayla, NT hücre içi metabolizması esnasında sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesini artırarak serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır (120). Artmış oksidatif stres altında reaktif oksijen radikalleri, DNA ve proteinlerin oksidatif hasarı ile membran lipid peroksidasyonunu içeren çeşitli mekanizmalarla hücre hasara neden olmaktadır (121). Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin hücre membranlarındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek peroksit ve aldehit gibi çeşitli ürünlere yıkılması ile sonuçlanan reaksiyon zinciridir (122). MDA dokularında lipid peroksidasyonunu göstermek için kullanılan en yaygın parametredir. MDA seviyelerinde yükselme serbest radikaller tarafından oluşturulan hücre membran hasarını göstermektedir (123). Baykan ve ark ile Narin ve ark çalışmalarında, gebelik ve laktasyon dönemlerinde uygulanan NT maruziyetinin doku MDA seviyesinde artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir (94, 124). Bu çalışmada da nikotine maruz kalan sıçanların akciğer dokularında, MDA seviyesinin kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı derecede arttığı tespit edildi. Akciğer hastalıkları için en önemli risk faktörlerinden biri olarak tanımlanan NT'nin akciğerde oksidan-antioksidan dengesini bozarak akciğer hastalıklarının gelişme olasılığını arttırdığı bildirilmiştir (125). Bu durum gebelik ve laktasyon dönemlerindeki NT maruziyetinin, anne ile birlikte yavrunun da oksidan-antioksidan dengesini bozarak (54) akciğer metabolizmasını ve yapısal gelişimini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir (126).

Çalışmamızda, maternal NT'ye maruz kalan yavru sıçanların akciğerlerinde gözlenen histolojik ve biyokimyasal hasarın, MEL tedavisi ile önemli şekilde düzeldiği izlendi. MEL'in güçlü bir endojen antioksidan olduğu bilinmektedir.

Termodinamik görüş, bu antioksidan ajanın sahip olduğu yüksek oranda reaktif oksijen türlerini doğrudan süpürme yeteneğinin, moleküler yapısındaki zengin elektron içeriğinden kaynaklandığını bildirmiştir (89). Lipid peroksidasyonunu düşürmede etkili ve serbest radikalleri süpüren çok sayıda sentetik ve doğal antioksidanlar bulunmasına rağmen, bu antioksidanların plasental bariyeri geçme yetenekleri birbirinden farklıdır. Örneğin vitamin E en iyi bilinen antioksidanlardan biridir. Saun ve ark. anneye uygulanan vitamin E nin, umbilikal kord ve plasentada, maternal plazmadan daha düşük seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç Vitamin E nin plasentaya geçişinin yetersiz olduğunu göstermektedir (127). E vitamininin tersine MEL'in fetusa geçişi daha kolaydır (128). Nitekim araştırmacılar anneye verilen MEL'in değişikliğe uğramadan plasentaya geçerek fetal dolaşıma girdiğini (129) ve anne sütüne karıştığını (83) göstermişlerdir. Aynı bulgu Yallon ve ark. tarafından koyunlarda, Reppert ve ark. tarafından da Rhesus maymunlarında gözlemlenmiştir (130, 131). Hızlı plasental transfer ve hücre membranlarından kolay geçişi, MEL'in molekül yapısının küçük olması ve lipofilik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bundan dolayı fetusta serbest radikallerin neden olduğu hasarın önlenmesinde maternal MEL verilmesi diğer antioksidan ajanlara göre daha etkilidir (132). Biz de fetal dokudaki etkinliğinden dolayı nikotinin neden olduğu oksidatif hasarın önlenmesinde, antioksidan ajan olarak MEL'i kullandık.

Çalışmamızda, nikotin grubundaki yavru sıçanların akciğerlerinde izlenen amfizematik ve alveol gelişiminin yetersiz olduğu alanların, NT + MEL grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını gözlemledik. Çalışmalarda MEL'in embriyonel dönemde reaktif oksijen türlerini azalttığı, antioksidan enzimleri arttırdığı, fetal dönemde ise sirkadiyen ritmi düzenlediği, hücre proliferasyonu ve fetal gelişim üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir (133). Slominski ve ark, Roth ve ark. in vitro kültür sistemlerinde MEL'in embriyodaki hücre siklusunu ve hücre bölünmesini etkilediğini göstermişlerdir (134, 135). Danilova ve ark. zebrafish embriyolarında MEL reseptör ekspresyonu başladıktan sonra proliferasyon hızının önemli derecede arttığını bildirmişlerdir (136). Biz bu çalışmada MEL'in hem güçlü bir oksijen radikal süpürücü olması hem de embriyonel hücre siklusu üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı NT'nin neden olduğu alveol kaybını düzelttiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda MEL uygulaması ile, NT' nin neden olduğu alveoler makrofaj ve mast hücre sayısındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını tespit ettik. Qiao ve ark., MEL'in makrofajların aktivasyonunun engellenmesi gibi antiinflamatuvar fonksiyonlarının olduğunu rapor etmişlerdir (137). MEL ve metabolitleri potansiyel olarak inflamatuvar süreçte immünomodülatör ajan olarak etki gösterirler. MEL'in antiinflamatuvar etkisi, COX2 üzerindeki spesifik inhibisyonuna bağlıdır (138).

Mast hücreleri ve makrofajlar aralarındaki etkileşim nedeniyle, deri, peritoneal kavite ve akciğer gibi organlarda birbirlerine yakın yerleşirler. Makrofajlar reaktif oksijen radikallerinin temel kaynaklarından biri olarak bilinir. Emily Swindle ve ark. makrofajlar tarafından üretilen reaktif oksijen radikallerin mast hücre aktivasyonunda önemli role sahip olduğunu bildirmişlerdir (139). MEL'in reaktif oksijen radikalleri ile etkileşimi, bir elektron vererek zararsız meloninyl katyon radikali oluşturma şeklindedir. MEL'in in vivo şartlarda doku ve hücreleri reaktif oksijen radikallerinden korumada, eşit dozlarda kullanılan vitamin C ve E'den birkaç kat daha güçlü olduğu bildirilmiştir (140). Diğer yandan MEL'in etki mekanizmasını araştıran Li ve ark. çalışmaları sonunda, aktive olan mast hücre mediyatörlerinin (TNF- $\alpha$ , ICAM-I) ekspresyonu üzerine, MEL tedavisinin inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (141). Biz bu çalışmada MEL'in makrofaj ve mast hücreler üzerine etkisinin, bu antioksidan ajanın hem serbest radikal süpürücü özelliği hem de immünomodülatör fonksiyonlarının etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Bu çalışmada NT'nin neden olduğu oksidatif hasarın göstergesi olan lipid peroksidasyonun MEL tedavisiyle düzeldiği gözlemlendi. NT, etkisini nAChR'lerini bağlayarak göstermektedir. nAChR'ler etkinleştirildiğinde, hücre içine Ca<sup>+</sup> iyon akışı yükselir (14, 15). İntrasellüler Ca<sup>+</sup> konsantrasyonunun yükselmesi organel fonksiyonu ve intrasellüler sinyalleri engelleyerek hücrede oksidatif strese yol açan reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine neden olur (142). Böylece dokuda serbest yağ asiti konsantrasyonu ve MDA seviyesi yükselir (13).

NT ile indüklenmiş organ hasarının patofizyolojisinin, lipid peroksidasyonundaki yükselme ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (126). Lipid peroksidasyonu ile oluşan radikaller başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup, hücrenin diğer bölümlerine yayılıp doku hasarına neden olurlar (143). MEL yayılmakta olan, peroksil radikallerini

yakalayarak lipid peroksidasyonunu sonlandırmaktadır (81). MDA lipid peroksidasyonunun en önemli ürünüdür (144). Birçok çalışmada lipid peroksidasyonuna bağlı olarak yükselen MDA seviyesinin MEL uygulaması ile belirgin şekilde düştüğü rapor edilmiştir (145, 146). Baykan ve ark. maternal NT maruziyetine bağlı olarak yavru sıçanların kalp dokularında MDA seviyesinin arttığını ve MEL tedavisi ile bu artışın anlamlı derecede azaldığını bildirmişlerdir (124). Diğer bir çalışmada da yetişkin sıçanların akciğerlerinde NT ile uyarılan oksidatif hasarın, MEL uygulanması ile hafiflediği rapor edilmiştir (128). Bu araştırmacılar çalışmalarında NT'ye bağlı olarak, yükselen MDA seviyesinin MEL tedavisiyle belirgin şekilde azalmasını, hem serbest radikalleri radikal olmayan türlere metabolize etmesine hem de diğer antioksidanların sentezini sağlayan enzimleri uyarmasına bağlamışlardır (128, 146).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sonucunda gebelik ve laktasyon süreçlerinde NT uygulanan sıçanların yavrularına ait akciğer kesitlerinde, bazı alanlarda alveol gelişiminin yetersiz olduğu bazı alanlarda da alveollerin birleşerek geniş hava boşluklarına dönüştüğü izlendi. Ayrıca, NT'nin alveoler makrofaj ve mast hücre sayısını belirgin derecede arttırdığı tespit edildi. Biyokimyasal analizlerde ise MDA seviyesinin anlamlı derecede artmış olarak gözlemlendi.

Diğer yandan NT uygulanan sıçanlara, MEL verilmesi ile yavruların akciğerlerinde izlenen histolojik ve biyokimyasal hasarın hafiflediği görüldü. Akciğerde NT'nin neden olduğu alveolarizasyondaki bozulma ve amfizemik bulgular NT + MEL grubunda belirgin derecede azaldı. Bu grupta alveoler makrofaj ve mast hücre sayılarının NT grubuna göre anlamlı derecede azaldığı saptandı. Ayrıca, biyokimyasal analizlerde MEL uygulamasıyla MDA seviyesinin istatistiksel olarak önemli derecede düştüğü gözlemlendi.

Bu çalışma, gebelik ve laktasyon boyunca maternal NT maruziyetinin, yavruların akciğer gelişimi üzerinde önemli yapısal değişikliklere neden olduğunu, antioksidan özelliği bilinen MEL'in de NT'nin neden olduğu akciğer hasarını hafiflettiğini göstermektedir. Sonuç olarak, sigara içen veya gebelik ve laktasyon dönemlerinde sigara dumanına maruz kalan annelerin, bu süreçlerde, plasental bariyeri hızlı ve kolay geçen antioksidanları kullanmalarının, yavruların normal akciğer gelişiminin korunmasına katkısı olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Özmen B. (2004). Gebelikte sigara içiminin plasenta ve yenidoğan üzerine etkileri. Uzmanlık tezi, *Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma hastanesi III. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği*, İstanbul.
2. King, A. 1994. Unexplained fetal growth retardation: What is the cause? *Arch Dis Child*, 70, 225.
3. Andres, RL., Day, MC. (2000). Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol*, 5(3), 231-41.
4. Kublay, G., Terzioğlu, F., Karatay, G. 2008. Gebelik ve sigara. *Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü*, Ankara.
5. Dowling, O., Rochelson, B., Way, K., Al-Abed, Y., Metz, CN. (2007). Nicotine inhibits cytokine production by placenta cells via NFkappa $\beta$ : potential role in pregnancy-induced hypertension. *Mol Med*, 13, 576-83.
6. Button, TM., Maughan, B., McGuffin, P. (2007). The relationship of maternal smoking to psychological problems in the offspring. *Early Hum Dev*, 83(11), 727-32.
7. Fowler, PA., Cassie, S., Rhind, SM., Brewer, MJ., Collinson, JM., Lea, RG., Baker, PJ., Bhattacharya, S., O'Shaughnessy, PJ. (2007). Maternal smoking during pregnancy specifically reduces human fetal Desert hedgehog gene expression during testis development. *J Clin Endocrinol Metab*, 13.
8. Doğan, YH. (2004). Sigara içme davranışında cinsiyet farkı ve nikotinin temel etki mekanizmaları. *Türk Aile Hek Derg*, 8(4), 177-182.
9. Guan, ZZ., Yu, WF., Nordberg, A. (2003). Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells. *Neurochem Int*, 43, 243-9.
10. Luck, W., Nau, H., Hansen, R., Steldinger, R. (1985). Extent of nicotine and cotinine transfer to the human fetus, placenta and amniotic fluid of smoking mothers. *Dev Pharmacol Ther*, 8, 384-95.
11. Labrecque, M., Marcoux, S., Weber, JP., Fabia, J., Ferron, L. (1989). Feeding and urine cotinine values in babies whose mothers smoke. *Pediatrics*, 83, 93-7.

12. Oncken, CA., Henry, KM., Campbell, WA., Kuhn, CM., Slotkin, TA., Kranzler, HR. (2003). Effect of maternal smoking on fetal catecholamine concentrations at birth. *Pediatr Res*, 53, 119-24.
13. Ashakumary, L., Vijayammal, PL. (1996). Additive effect of alcohol and nicotine on lipid peroxidation and antioxidant defence mechanism in rats. *J Appl Toxicol*, 16, 305-8.
14. Hogg, RC., Ragggenbass, M., Bertrand, D. (2003). Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 147, 1-46.
15. Leonard, S., Bertrand, D. (2001). Neuronal nicotinic receptors: from structure to function. *Nicotine Tob Res*, 3, 203-223.
16. Sekhon, H.S., Jia, Y., Raab, R., Kuryatov, A., Pankow, J.F., Whitsett, J.A., Lindstrom, J., Spindel, E.R. (1999). Prenatal nicotine increases pulmonary alpha7 nicotinic receptor expression and alters fetal lung development in monkeys. *J. Clin. Invest*, 103, 637-647.
17. Reiter RJ. (1993). Interactions of the Pineal Hormone Melatonin with Oxygen-Centered Free Radicals: A Brief Review. *Braz J Med Biol Res*, 26, 1141-55.
18. Rezzani R, Rodella LF, Bonomini F et al. (2006). Beneficial effects of melatonin in protecting against cyclosporine A-induced cardiotoxicity are receptor mediated. *J Pineal Res*, 41, 288-95.
19. Yıldırım, M. (1997). *İnsan Anatomisi (3. Baskı)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
20. Sancak, B., Cumhuri, M. *Fonksiyonel Anatomi, Baş-Boyun ve İç Organlar. (1999)*. Odtü Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş., Metu Press Yayınları.
21. Arıncı, K., Elhan, A. (2001). *Anatomi (3. Baskı)*. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti.
22. Kuran, O. (1993). *Sistemik Anatomi (3. Baskı)*. İstanbul: Filiz Kitabevi
23. Gray, H., Standring, S. (2005). *Gray's Anatomi-The Anatomical Basis Of Clinical Practise (39th ed)*. London: Elsevier Churchill Livingstone
24. Putz, R., Pabst, R. (2006). *Sobotta İnsan Anatomi Atlası. (6. Türkçe Baskı)*. ( A. Elhan Çev).
25. Şeftalioğlu, A. (1998). *Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi (3. Baskı)*. Ankara: Tıp&Teknik Yayıncılık Ltd. Şti.



26. Moore, K.L., Persaud, T.V.N. (2009). *İnsan Embriyolojisi (8. Baskı)*. (H. Dalçık ve M. Yıldırım Çev.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri
27. Sadler, T.W. (20011). *Langman's Medikal Embriyoloji (11. Baskı)*. (A.C. Başaklar Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık
28. Petorak, İ. (1989). *Medikal Embriyoloji (2. Baskı)*. İstanbul: Beta Basın-Yayım-Dağıtım A.Ş.
29. Kayalı, H., Şatıroğlu, G., Taşyürekli, M. (1989). *İnsan Embriyolojisi (6. Baskı)*. İstanbul: Evrim Basın-Yayım-Dağıtım A.Ş.
30. Ross, M.H., Pawlina, W. (2006). *Histology: A Text And Atlas (5th ed.)*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
31. Eşrefoğlu, M. (2009). *Özel Histoloji*. Malatya: Medipress Matbaacılık Ltd. Şti
32. Junquera, L.C., Corneiro, J., Kelley, R.O. (2009). *Temel Histoloji Test ve Atlas*. (S. Solakoğlu Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
33. Ovalle, W.K. Nahirney, P.C. (2009). *Netter Temel Histoloji*. (S. Müftüoğlu Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
34. Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. (R. Demir Çev.) Ankara: Palme Yayıncılık.
35. Correia S, Nascimento C, Gouveia R, Martins S, Sandes AR, Figueira J, Valente S, Rocha E, Da Silva L. (2007). Pregnancy and smoking: an opportunity to change behaviours. *Acta Med Port*, 20(3), 201-7.
36. Kaminsky LM, Ananth CV, Prasad V, Nath C, Vintzileos AM, New Jersey Placental Abruptio Study Investigators. (2007). The influence of maternal cigarette smoking on placental pathology in pregnancies complicated by abruptio. *Am J Obstet Gynecol*, 197(3), 275.
37. Cornelius MD, Leech SL, Goldschmidt L, Day NL. (2000). Prenatal tobacco exposure: is it a risk factor for early tobacco experimentation? *Nicotine Tob Res*, 2, 45-52.
38. Kang, S.W., Park, H.J., Ban, Y.J., Chung, J.H., Chun, G.S., Cho, J.O. (2011). Effect of nicotine on apoptosis in human gingival fibroblasts. *Arh Oral Biol*, 56(10), 1091-7.

39. Maritz G.S. (2011). Harding R. Life-long Programming Implications of Exposure to Tobacco Smoking and Nicotine Before and Soon After Birth: Evidence for Altered Lung Development. *Int J Environ Res*, 8, 875-898.
40. Kayaalp, S.O. (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt (12. Baskı)*. Feryal Matbaacılık San. Ve Tic. Ltd. Şti. Ankara
41. Yıldız, D. (2004). Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol*, 43, 619–632.
42. Hukkanen, J., Jacop, P., Benowitz, N.L. (2005). Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev*, 57-79.
43. Kozlowski, LT., Mehta, NY., Sweeney, CT., Schwartz, SS., Vogler, GP., Jarvis, MJ., West, RJ. (1998). Filter ventilation and nicotine content of tobacco in cigarettes from Canada, the United Kingdom, and the United States. *Tob Control*, 7(4), 369–375.
44. Benowitz, NL., Jacob, P. 3<sup>rd</sup>. (1984) Daily intake of nicotine during cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther*, 35(4), 499–504].
45. Soloway, SB. (1976). Naturally occurring insecticides. *Environ Health Perspect*, 14, 109–117
46. Tomizawa, M., Casida, JE. (2003). Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu Rev Entomol*, 48, 339–364.
47. Ünüvar, S. (2007). Nikotin toksisitesi üzerine seçici siklooksijenaz-2 inhibisyonunun etkisi. Yüksek lisans tezi. *İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd.* Malatya.
48. Barlow, R.B., Hamilton, J.T., (1965). The stereospecificity of nicotine. *Brit J Pharmacol*, 25, 206 – 212.
49. Armstrong, DW., Wang, X., Ercal, N. (1998). Enantiomeric composition of nicotine in smokeless tobacco, medicinal products and commercial reagents. *Chirality*, 10, 587–591.
50. Pankow, JF. (2001). A consideration of the role of gas/particle partitioning in the deposition of nicotine and other tobacco smoke compounds in the respiratory tract. *Chem Res Toxicol*, 14, 1465–1481.

51. Rose, J.E., Behm, F.M., Westman, E.C., Coleman, R.E. (1999). Arterial nicotine kinetics during cigarette smoking and intravenous nicotine administration: implications for addiction. *Drug Alcohol Depend*, 56(2), 99–107.
52. Lunell, E., Molander, L., Ekberg, K., Wahren, J. (2000). Site of nicotine absorption from a vapour inhaler—comparison with cigarette smoking. *Eur J Clin Pharmacol*, 55(10), 737–741
53. Matta, S.G., Balfour, D.J., Benowitz, N.L., Boyd, R.T., Buccafusco, J.J., Caggiula, A.R., Craig, C.R., Collins, A.C., Damaj, M.I., Donny, E.C., Gardiner, P.S., Grady, S.R., Heberlein, U., Leonard, S.S., Levin, E.D., Lukas, R.J., Markou, A., Marks, M.J., McCallum, S.E., Parameswaran, N., Perkins, K.A., Picciotto, M.R., Quik, M., Rose, J.E., Rothenfluh, A., Schafer, W.R., Stolerman, I.P., Tyndale, R.F., Wehner, J.M., Zirger, J.M. (2007). Guidelines on nicotine dose selection for in vivo research. *Psychopharmacology*, 190, 269-319.
54. Onuki, M., Yokoyama, K., Kimura, K., Sato, H., Nordin, R.B., Naing, L., Morita, Y., Sakai, T., Kobayashi, Y., Araki, S. (2003). Assessment of urinary cotinine as a marker of nicotine absorption from tobacco leaves: A study on tobacco farmers in Malaysia. *J Occup Health*, 45, 140-145.
55. Kalayciyan, A., Serdaroğlu, S. (2005). Nikotin ve deri. *Dermatose*, 4(3), 127-133.
56. Unwin N. (1995). Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature*, 373, 37-43.
57. Sgard, F., Charpantier, E., Bertrand, S., Walker, N., Caput, D., Graham, D., Bertrand, D., Besnard, F. (2002). A novel human nicotinic receptor subunit,  $\alpha 10$ , that confers functionality to the  $\alpha 9$ -subunit. *Mol Pharmacol*, 61, 150-159.
58. Costa, F., Soares, R. (2009). Nicotine: a pro-angiogenic factor. *Life Sci*, 84, 785–790
59. Benowitz, N.L., Peyton, J III., Reese, T., Rosenberg, J. (1982). Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man. *J Pharmacol Exp Ther*, 221, 368–372.
60. Godin, C.S., Crooks, P.A., (1986). In vivo depletion of S-adenosyl-L-homocysteine and S-adenosyl-L-methionine in guinea pig lung after chronic S-(2)-nicotine administration. *Toxicol Lett*, 31, 23 – 29.

61. Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM. (1997). A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther*, 282, 1608–1614.
62. Dempsey, D.A., Benowitz, N.L. (2001). Risks and benefits of nicotine to aid smoking cessation in pregnancy. *Drug Saf*, 24, 277-322.
63. Frank, L., Sosenko, I.R. (1987). Prenatal development of lung antioxidant enzymes in four species. *J Pediatr*, 110, 106-110
64. Asikainen, T. M., Raivio, K.O., Saksela, M., Kinnula, V. L. (1998). Expression and developmental profile of antioxidant enzymes in human lung and liver. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 19, 942–949.
65. Walther, F.J., Wade, A.B., Warburton, D., Forman, H.J. (1991). Ontogeny of antioxidant enzymes in the fetal lamb lung. *Exp Lung Res*, 17, 39-45.
66. Benowitz, N.L., Hukkanen, J., Jacob, P. (2009). Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Hand Exp Pharmacol*, 192, 29-60.
67. Turner, D.M., (1969). The metabolism of nicotine in the cat. *Biochem J*, 115, 889–896.
68. Balabanova, S., Buhler, G., Schneider, E., Boschek, H.J., Schneitler, H., (1992). Nicotine excretion by the apocrine and eccrine sweat in smokers and passive smokers. *Hautarzt*, 43(2), 73–76.
69. Seaton, M.J., Kyerematen, G.A., Vesell, E.S., (1993). Rates of excretion of cotinine, nicotine glucuronide, and 3-hydroxyco-tinine glucuronide in rat bile. *Drug Metab Dispos*, 21(5), 927–932
70. Mello, P.R.B., Pinto, G.R., Botelho, C. (2001). The influence of smoking on fertility, pregnancy and lactation. *J Pediatr (Rio J)*, 77(4), 257-64
71. Zhao, Z., Reece, E.A. (2005). Nicotine-induced embryonic malformations mediated by apoptosis from increasing intracellular calcium and oxidative stress. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 74, 383-39.
72. Einarson, A., Riardo, S. (2009). Smoking in pregnancy and lactation: a review of risks and cessation strategies. *Eur J Pharmacol*, 65, 325-330.
73. Hukkanen, J., Pelkonen, O., Raunio, H. (2001). Expression of xenobiotic-metabolizing enzymes in human pulmonary tissue: possible role in susceptibility for ILD. *Eur Respir J Suppl*, 32, 122-126.

74. Russell, M.A., Feyerabend, C. (1978). Cigarette smoking: A dependence on high-nicotine boli. *Drug Metab Rev*, 8, 29-57.
75. Lee, C.Z., Royce, F.H., Denison, M.S., Pinkerton, K.E. (2000). Effect of in utero and postnatal exposure to environmental tobacco smoke on the developmental expression of pulmonary cytochrome P450 monooxygenases. *J Biochem Mol Toxicol*, 14, 121-130.
76. Luck, W., Nau, H. (1984). Nicotine and cotinine concentrations in serum and milk of nursing smokers. *Br J Clin Pharmacol*, 18, 9-15.
77. Sekhon HS, Keller JA, Proskocil BJ, Martin EL, Spindel ER. (2002). Maternal nicotine exposure upregulates collagen gene expression in foetal monkey lung. Association with alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 26, 31-41
78. Maneckjee, R., Minna, J.D. (1994). Opioids induce while nicotine suppresses apoptosis in human lung cancer cells. *Cell Growth Differ*, 5, 1033-1040.
79. Proskocil, B.J., Sekhon, H.S., Jia, Y., Savchenko, V., Blakely, R.D., Lindstrom, J., Spindel, E.R. (2004). Acetylcholine is an autocrine or paracrine hormone synthesized and secreted by airway bronchial epithelial cells. *Endocrinology*, 145, 2498-2506.
80. Poeggeler, B., Reiter, R.J., Tan, D-X., Chen, L.D., Manchester, L.C. (1993). Melatonin, Hydroxyl Radical-Mediated Oxidative Damage, and Aging: A hypothesis. *J Pineal Res*, 14, 151-68.
81. Yazıcı, C., Köse, K. (2004). Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-65.
82. Reiter, R.J., Tan D-X, Terron, M.P., Flores, L.J., Czarnocki, Z. (2007). Melatonin and Its Metabolites: New Findings Regarding Their Production and Their Radical Scavenging Actions. *Acta Biochimica Polonica*, 1-9.
83. Altun, A., Vardar, A., Altun, B.U. Melatonin ve Kardiyovasküler Sistem. (2001). *Ana Kar Der*, 1, 283-8.
84. Mesenge, C., Margaille, I., Verrecchia, C., Allix, M., Boulu, R.G., Plotkine, M. (1998). Protective Effect of Melatonin in a Model of Traumatic Brain Injury in Mice. *J Pineal Res*, 25, 41-6.

85. Kaptanoglu, E., Tuncel, M., Palaoglu, S., Konan, A., Demirpence, E., Kilin, K. (2000). Comparison of the Effects of Melatonin and Methylprednisolone in *Experimental Spinal Cord Injury J Neurosurg*, 93, 77-84.
86. Shiu, S.Y.W. (1986). Changes in Tissue Melatonin Levels Following Cold Exposure in Rats, Hamsters and Pigeons. *Journal of the Hong Kong Medical Association*, 38(2).
87. Reiter, R.J. (1998). Oxidative Damage in the Central Nervous System: Protection by Melatonin. *Progress in Neurobiology*, 56, 359-84.
88. Gilgun-Sherki, Y., Rosenbaum, Z., Melamed, E., Offen, D. (2002). Antioxidant Therapy in Acute Nervous System Injury: Current State. *Pharmacol Rev*, 54, 271-84.
89. Reiter, R.J., Tan, D-X, Sainz, R.M., Mayo, J.C., Silvia, L.B. (2002). Melatonin: Reducing the Toxicity and Increasing the Efficacy of Drugs. *J Pharmacy and Pharmacology*, 54, 1299-321.
90. Reiter, R.J., Poeggeler, B., Tan, D-X., Chen, L., Manchester, L.C., Guerrero, J.M. (1993). Antioxidant Capacity of Melatonin: A Novel Action not Requiring a Receptor. *Neuroendocrinol*, 15(1+2), 103-16.
91. Bancroft JD, Stevens A., *Theory and Practice of Histological Techniques, fourth edition*. Churchill Livingstone Medical Division of Pearson Professional Limited. 1996.
92. Buege JA, Aust SD. (1978), Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 12, 302-310.
93. Narin, F., Yavaşcan, S., Narin, N., Akgün, H., Baykan, A., Üzümlü, K., Saraymen, R. (2006). Yenidoğan ratlarda nikotin ile oluşturulan miyokardiyal hasarın biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 4(2), 49-57.
94. Jauniaux, E., Gulbis, B., Acharya, G., Thiry, P., Rodeck, C. (1999). Maternal tobacco exposure and cotinine levels in foetal fluids in the first half of pregnancy. *Obstet Gynecol*, 93, 25-29
95. Maritz, G.S., Windvogel, S. (2003). Chronic maternal nicotine exposure during gestation and lactation and the development of the lung parenchyma in the offspring Response to nicotine withdrawal. *Pathophysiology*, 10, 69-75.

96. Canöz, Ö., Güneş, T., Deniz, K., Akgün, H., Balkanlı, S. (2006). Perinatal expression of HSP70 and VEGF in neonatal rat lung vessels exposed to nicotine during gestation. *Apmis*, 114, 10-4.
97. Jalali, M., Nikraves, M.R., Moeen, A.A., Mohammadi, S., Karimfar, M.H. (2010). Effects of Maternal Nicotine Exposure on Expression of Collagen Type IV and its Roles on Pulmonary Bronchogenesis and Alveolarization in Newborn Mice. *Iran J Allergy Asthma Immunol.*, 9(3), 169-73.
98. Tolson, C.M., Seidler, F.J., McCook, E.C., Slotkin, T.A. (1995). Does concurrent or prior nicotine exposure interact with neonatal hypoxia to produce cardiac cell damage? *Teratology*, 52, 298–305.
99. Amy, R.W., Bowes, D., Burri, P.H., Thurlbeck, W.M. (1977). Postnatal growth of the mouse lung. *J Anat*, 124 (Pt1), 131-151.
100. Maritz, G.S., Rayise, S.S. (2011). Effect of maternal nicotine exposure on neonatal rat lung development: protective effect of maternal ascorbic acid supplementation. *Experimental Lung Research*, 37, 57–65
101. Guan, G., Kramer, S.F., Bellinger, L.L., Wellman, P.J, Kramer, P.R. (2004). Intermittent nicotine administration modulates food intake in rats by acting on nicotine receptors localized to the brainstem. *Life Sci*, 74, 2725–2737.
102. Fergusson, D.M., Horwood, L.J., Shannon, F.T., Taylor, B. (1981). Parental smoking and lower respiratory illness in the first 3 years of life. *J Epidemiol Commun Health*, 35, 180–184.
103. Collins, M.H., Moessinger, A.C., Kleinerman, J., Bassi, J., Rosso, P., Collins, A.M., James, L.S., Blanc, W.A. (1985). Fetal lung hypoplasia associated with maternal smoking: a morphometric analysis *Pediatr Res*, 19, 408–412.
104. Vidic, B., Shabahang, N., Ujevic, M.M., Van de Zande, F. (1989). Differentiation of interstitial cells and stromal proteins in the secondary septum of the early postnatal rat: effect of maternal chronic exposure to whole cigarette smoke, *Anat Rec*, 223, 165–173.
105. Sekhon, H.S., Proskocil, B.J., Clark, J.A., (2004). Spindel, E.R. Prenatal nicotine exposure increases connective tissue expression in foetal monkey pulmonary vessels. *Eur Respir J*, 23, 906–915.

106. Kauffman, S.L., Burri, P.H., Weibel, E.R. (1974). The postnatal growth of the rat lung. II. Autoradiography. *Anat Rec*, 180, 63-76.
107. Nakamura, Y., Romberger, D.J., Tate, L., Ertl, R.F., Kawamoto, M., Adachi, Y., Mio, T., Sisson, J.H., Spurzem, J.R., Rennard, S.I. (1995). Cigarette smoke inhibits lung fibroblast proliferation and chemotaxis. *Am J Respir Crit Care Med*, 151, 1497-1503
108. Petre, M.A., Petrik, J., Ellis, R., Inman, M.D., Holloway, A.C., Labiris, N.R. (2011). Fetal and neonatal exposure to nicotine disrupts postnatal lung development in rats: role of VEGF and its receptors. *Int J Toxicol*, 30(2), 244-52.
109. Nasr-Esfahani, M.H., Johnson, M.H. (1992). How does transferrin overcome the in vitro block to development of the mouse preimplantation embryo? *J Reprod Fert*, 96, 41-48.
110. Maritz, G.S. (1997). Maternal nicotine exposure induces microscopic emphysema in neonatal rat lung. *Pathophysiology*, 4, 1-7
111. Maritz, G.S. (2002). Maternal nicotine exposure during gestation and lactation of rats induce microscopic emphysema in the offspring. *Experimental Lung Research*, 28, 391-403.
112. Snider, G.L. (1989). Chronic obstructive pulmonary disease: risk factors, pathophysiology and pathogenesis. *Annu Rev Med*, 40, 411-429.
113. Shapiro, S.D. (1999). The macrophage in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 160, 29-32.
114. Rabe, K.F., Hurd, S., Anzueto, A., Barnes, P.J., Buist, S.A., Calverley, P.Y., Fukuchi, C., Jenkins, R., Rodriguez-Roisin, C., Weel, W., Zielinski, J. (2007). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med*, 176, 532-555.
115. Müller, K.M., Hirschberg, M. (1984). Alveolar macrophages after chronic tobacco smoke inhalation and after artificial respiratory therapy for acute pulmonary failure. *Klin Wochenschr.*, 62 (2), 43-50.
116. Harada, T., Baskur, P.K. (1998). Pulmonary macrophage mobilization in Hamsters after cessation of smoking. *Exp Anim*, 47(1), 43-47.



117. Erbagci, Z., Erkilic, S. (2002). Can smoking and/or occupational UV exposure have any role in the development of the morpheaform basal cell carcinoma? A critical role for peritumoral mast cells. *Int J Dermatol*, 41(5), 275–8.
118. Dvorak, A.M., Tepper, R.I., Weller, P.F., Morgan, E.S., Estrella, P., Monahan-Earley, R.A., Galli, S.J. (1994). Piecemeal Degranulation of Mast Cells in the Inflammatory Eyelid Lesions of Interleukin-4 Transgenic Mice, Evidence of Mast Cell Histamine Release in Vivo by Diamine Oxidase-gold Enzyme Affinity Ultrastructural Cytochemistry. *Blood*, 83: (12), 3600-12.
119. Kageyama-Yahara, N., Suehiro, Y., Yamamoto, T., Kadowaki, M. (2008). IgE-induced degranulation of mucosal mast cells is negatively regulated via nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Biophys Res Commun*, 377, 321–325.
120. Sütçü, R., Doğuç, D., Aktürk, O., Altuntaş, İ., Delibaş, N. (2006). Subkronik nikotin uygulamasının ratlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak Derg*, 13 (3), 17-20.
121. Leon, J., Acuna-Castro, D., Escames, G., Tan, D.X., Reiter, R.J. (2005). Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *J Pineal Res*, 38, 1-9.
122. Halliwell, B.. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. (1991). *Am J Med*, 91, 14-21.
123. Makker, K., Agarwal, A., Sharma, R. (2009). Oxidative stress & male infertility. *Indian J Med Res*, 129, 357-367.
124. Baykan, A., Narin, N., Narin, F., Akgün, H., Yavaşcan, S., Saraymen, R. (2008). The protective effect of melatonin on nicotine induced myocardial injury in newborn rats whose mothers received nicotine. *Anadolu Kardiyol Derg*, 8, 243-8.
125. Kalpana, C., Menon, V.P. (2004). Modulatory effects of curcumin on lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity. *Pol J Pharmacol*, 56, 581–586.
126. Maritz, G.S., Burger, B. (1992). The influence of maternal nicotine exposure on neonatal lung carbohydrate metabolism. *Cell Biol Int Rep*, 16, 1229–1236.
127. Van saun, R.J., Herot T.H., Stowe, H.D. (1988). Maternal and fetal relationship in serum vitamin E level. *J Nutr*, 119, 1156–1164.

128. Schenker, S., Yang, S., Perez, A., Acuff, R.V., Papas, A.M., Henderson, G., Lee, M.P. (1998) Antioxidant transport by the human placenta. *Clin Nutr*, 17, 159–167.
129. Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda C. (2000). Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J Pineal Res*, 28, 89–96.
130. Yallon, S.M., Longo, L.D. (1987). Melatonin rhythms in fetal and maternal circulation during pregnancy in the sheep. *Am J Physiol*, 252, 799–805.
131. Reppert, S.M., Chez, R.A., Anderson A., Klein, D.C. (1979). Maternal-fetal transfer of melatonin in non-human primate. *Pediatr Res*, 13,788–791.
132. Wakatsuki, A., Okatani, Y., Izumiya Y.C., Ikenoue, N. (1999) Melatonin protects against ischemia and reperfusioninduced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain. *J Pineal Res*, 21, 115–122.
133. Tamura, H., Nakamura, Y., Terron, M.P., Flores, L.J., Manchester, L.C., Tan, D.X., Sugino, R., Reiter, R.J. (2008). Melatonin and pregnancy in the human. *Rep Toxicol*. 25, 291-303.
134. Slominski, A., Prunski D. (1993). Melatonin inhibits proliferation and melanogenesis in rodent melanoma cells. *Exp Cell Res*, 206, 189–194.
135. Roth, J.A., Rabin, R., Agnello, K. (1997). Melatonin suppression of PC12 cell growth and death. *Brain Res*. 768, 63–70.
136. Danilova, N., Krupnik, V.E., Sugden, D., Zhdanova, I.V. (2004). Melatonin stimulates cell proliferation in zebrafish embryo and accelerates its development. *Faseb J*, 18(6), 751-3.
137. Qiao, M., Je-Ping, Y., Jian- Ming, X., Wei, W., Li, X., Li, X. (2002). Melatonin reduces colon immunological injury in rats by regulating activity of macrophages. *Acta Pharmacol Sin*, 23(10), 882-886.
138. Mayo J.C., Sainz R.M., Tan D.X., Hardeland R., Leon J., Rodriguez C., Reiter RJ. (2005). Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol*. 165(1-2), 139-49.

139. Swindle, E.J., Hunt, J.A., Coleman, J.W. (2002). A comparison of reactive oxygen species generation by rat peritoneal macrophages and mast cells using the highly sensitive real-time chemiluminescent probe pholasin: inhibition of antigen-induced mast cell degranulation by macrophage-derived hydrogen peroxide. *J Immunol*, 169(10), 5866-73.
140. Tan, D.X., Reiter, R.J., Manchester, L.C., Yan, M.T., El-Savi, M., Sainz, Z., Mayo, J.C., Kohen, R., Allegra, M., Hardeland, R. (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2(2), 181-192.
141. Li, J.H., Yu, J.P., Yu, H.G., Xu, X.M., Yu, L.L., Liu, J., Luo, H.S. (2005). Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis. *Mediators of Inflammation*, 4, 185-193.
142. Zhao, Z., Reece, E.A. (2005). Nicotine-Induced Embryonic Malformations Mediated by Apoptosis From Increasing Intracellular Calcium and Oxidative Stress. *Birth Defects Res*, 74, 383-391
143. Halliwell, B. (1991). Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *Am J Med*, 91, 14-21.
144. Mercan, U. (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYÜ Vet Fak Derg.*, 15 (1-2), 91-96.
145. Zararsız, İ., Kuş, İ., Çolakoğlu, N., Pekmez, H., Yılmaz, H.R. Sarsılmaz, M. (2004). Formaldehit Maruziyeti Sonucu Sıçan Akciğerinde Oluşan Oksidatif Hasara Karşı Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi: Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışma. *Van Tıp Derg*, 11(4), 105-112.
146. El-Sokkary, G.H., Cuzzocrea, S., Reiter, R.J. (2007). Effect of chronic nicotine administration on the rat lung and liver: Beneficial role of melatonin. *Toxicology*, 239, 60-67.



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 27-12-2012  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2012/A-117  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Türü : Wistar Albino sıçan  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar Albino sıçan  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 22 adet dişi ve 12 adet erkek  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 180-220 gr / 4-5 aylık

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Nigar VARDI' nın yürütücüsü olduğu "Gebelik ve laktasyon döneminde nikotine maruz kalan Wistar albino sıçanların yavrularının akciğerlerinde meydana gelen değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine melatoninin etkileri" isimli 2012/A-117 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Denei Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye	Doç. Dr. Abdurrahman KARAMAN Üye
Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye Katılmadı
Salih AVCI Sivil Üye Katılmadı	Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye Katılmadı	

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı: Azibe

Soyadı: Yıldız

Doğum Yeri: Merkez/Malatya

Doğum Tarihi: 01.03.1982

### **Eğitim Bilgileri**

Fatih Lisesi-Malatya (1996-1999).

İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Lisans Eğitimi-Malatya (2001-2005).

Fırat Üniversitesi, Tezsiz Yüksek Lisans Eğitimi-Elazığ (2006-2007).

İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabim Dalı, Yüksek Lisans Eğitimi-Malatya (2009-2012).

### **İletişim Bilgileri**

[azibe.yildiz@inonu.edu.tr](mailto:azibe.yildiz@inonu.edu.tr)