

**T.C.**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYONU**  
**SONRASINDA GELİŞEN UZAK ORGAN HASARI**  
**ÜZERİNE KANNABİNOİDLERİN ETKİSİ**

**Ecz. Burcu KARAÜZÜM**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**

**ZONGULDAK**  
**2019**

**T.C.**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYONU**  
**SONRASINDA GELİŞEN UZAK ORGAN HASARI**  
**ÜZERİNE KANNABİNOİDLERİN ETKİSİ**

**Ecz. Burcu KARAÜZÜM**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**

**ZONGULDAK**

**2019**

**KABUL VE ONAY:**

**“MEZENTER İSKEMİ REPERFÜZYONU SONRASINDA GELİŞEN UZAK ORGAN HASARI ÜZERİNE KANNABİNOİDLERİN ETKİSİ”** başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

26/06/2019

**Başkan: Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**

**Üye: Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ**

**Üye: Dr. Öğr. Üyesi Namık BİLİCİ**

**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

TARİH 29/06 2019

Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZKAÇMAK  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu tezi hazırlama sürecinin her aşamasında sabırla ve özveriyle bana emek veren, bilimsel desteğini ve yol göstericiliğini asla esirgemeyen çok değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ'ye,

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalımızdaki çalışmalarım sırasında kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Zekiye Nur BANOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Zehra KURÇER'e, Sayın Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ'e,

Tez çalışmalarım esnasında gerçekleştirilen histolojik incelemeler için ve çalışmalarım ilerlerken paylaştığı değerli görüşleri için Sayın Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH ve Dr. Öğretim Üyesi Kanat GÜLLE'ye, biyokimyasal incelemeler için Sayın Prof. Dr. Murat CAN ve Doç. Dr. Berrak GÜVEN'e,

Çalışmam sırasında destekleriyle katkıda bulunan değerli arkadaşlarım Ezgi AKDENİZ ve Ebru KOCAKAYA'ya,

Zor günlerin yükünü varlığıyla ve sevgisiyle hafifleten, çalışma zamanlarımda beni sabırla bekleyen sevgili kızım ADA'ya,

Eğitim sürecimde ve ötesinde, bana her zaman destek olan, varlıklarıyla güç bulduğum aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Burcu KARAÜZÜM**

**Zonguldak, 2019**

## ÖZET

**Burcu KARAÜZÜM, Mezenter İskemi Reperfüzyonu Sonrasında Gelişen Uzak Organ Hasarı Üzerine Kannabinoidlerin Etkisi. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2019**

Bu çalışma, kannabinoidlerin mezenter iskemi/reperfüzyonu sonrasında uzak organlarda görülen hasar üzerine etkilerini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Süperior mezenter arterde 30 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon yapılarak, sıçanlarda mezenter İ/R modeli oluşturulmuştur. Model oluşturulmadan 30 dakika önce monoasilgliserol lipaz inhibitörü JZL184 (8 mg/kg dozunda i.p.), non-selektif kannabinoid reseptör agonisti kannabidiol (10 mg/kg dozunda i.p.) ve selektif kannabinoid-2 reseptör agonisti JWH133 (10 mg/kg dozunda i.p.) uygulanmıştır. Akciğer ve bağırsak doku örnekleri alınarak apoptoz yolaklarına (kaspaz 3, 8, 9) ve doku hasarına ilişkin inceleme yapılmıştır. Histopatolojik incelemede, akciğer dokusunda, JZL184, alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır. JWH133 ise nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmış, alveolar konjesyonu azaltmasına karşın bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bağırsak dokusunda, intestinal mukozal hasarda kannabidiol ve JZL184'ün iskemi grubuna göre epitel hasarını azalttığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. İmmünohistokimyasal incelemede, akciğer dokusunda kannabidiol, kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunu, JZL184 kaspaz 8 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır. Bağırsak dokusunda, kannabidiol ve JZL184, kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır. JWH133 ise bağırsak dokusunda kaspaz 3 ve 8 ekspresyonunu azaltmış ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile mezenter iskemi/reperfüzyonu ile oluşturulan akut akciğer ve bağırsak hasarında, kannabinoidlerin doku hasarı ve apoptotik yolaklar üzerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Elde edilen bu olumlu sonuçlar, kannabinoidlerin akciğer hastalıklarında potansiyel bir ilaç olarak ele alınmalarına olanak sağlayacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** Mezenter iskemi/reperfüzyon, Kannabinoidler, Akut akciğer hasarı, Uzak organ hasarı, Kannabinoid reseptörleri, Monoasilgliserol lipaz

## ABSTRACT

**Burcu KARAUZUM, The Effect of Cannabinoids on End Organ Injury Induced by Mesenteric Ischemia Reperfusion. Zonguldak Bülent Ecevit University, Health Science Institute, Department of Medical Pharmacology, Master of Science Thesis, Zonguldak, 2019**

The aim of this study was to investigate the effects of cannabinoids on damage in distant organs after mesenteric ischemia/reperfusion. The mesenteric I / R model was formed in rats with a 30-minute ischemia and 24-hour reperfusion in the superior mesenteric artery. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 (8 mg/kg ip), non-selective cannabinoid receptor agonist cannabidiol (10 mg/kg, ip) and selective cannabinoid-2 receptor agonist JWH133 (10 mg/kg, ip). Tissue samples were taken to examine the effects of drugs on apoptosis pathways (caspase 3, 8, 9) and tissue injury. In the histopathological examination, JZL184 significantly decreased alveolar congestion, hemorrhage, neutrophilic infiltration and alveolar wall thickness in lung tissue. JWH133 significantly decreased neutrophilic infiltration and alveolar wall thickness, but decreased alveolar congestion, but this decrease was not statistically significant. In intestinal mucosal damage in intestinal tissue, cannabidiol and JZL184 decreased epithelial damage compared to ischemia group but this decrease was not statistically significant. In immunohistochemical examination, cannabidiol showed a statistically significant decrease in expression of caspase 3, 8 and 9, and expression of JZL184 caspase 8 in lung tissue. In the intestinal tissue, cannabidiol and JZL184 significantly reduced the expression of caspase 3, 8 and 9. JWH133 decreased the expression of caspase 3 and 8 in intestinal tissue but this decrease was not statistically significant. In this study, it has been shown that cannabinoids have protective effect on tissue damage and apoptotic pathways in acute lung and intestinal damage caused by mesenteric ischemia/reperfusion. These positive results will enable cannabinoids to be considered a potential drug in lung diseases.

**Keywords:** Mesenteric ischemia/reperfusion, Acute lung injury, End organ injury, Cannabinoid receptors, Monoacylglycerol lipase

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL ve ONAY.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akut Akciğer Hasarı Sendromu/Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu.....	3
2.2. Akut Akciğer Hasarı/ Akut Solunum Sıkıntısı Sendromunda Patogenez.....	8
2.3. ARDS Tedavi Yaklaşımları.....	10
2.4. Akut Akciğer Hasarı/Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Deney Modelleri.....	10
2.4.1. Direk yöntemler.....	14
2.4.2. İndirekt yöntemler.....	18
2.4.3. Kombinasyon yöntemler.....	21
2.5. Mezenter İskemi/Reperfüzyon.....	22
2.5.1. Mezenter iskemi/reperfüzyon hasarı ve patofizyolojik mekanizmaları.....	24
2.6. Apoptoz.....	27
2.7. Nekroz .....	32
2.8. Kannabinoidler.....	34
2.8.1. Kannabinoidlerin etki mekanizmaları.....	36
2.8.2. Endokannabinoid sistem.....	39

2.9. Deneyde Kullanılan Etken Maddeler.....	44
2.9.1. JZL184.....	44
2.9.2. Kannabidiol.....	46
2.9.3. JWH133.....	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. Mezenter İskemi/Reperfüzyon Modeli.....	49
3.2. Deney Protokolü.....	50
3.2.1. İmmünohistokimyasal boyama metodu.....	51
3.2.2. Histopatolojik inceleme metodu.....	52
3.3. Kimyasal Maddeler.....	53
3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. Mezenter İ/R'nin İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi .....	54
4.2. MAGL İnhibitörü JZL184'ün Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi.....	54
4.3. Non-selektif Kannabinoid Reseptör Agonisti CB'nin Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi.....	54
4.4. Selektif CB2 Reseptör Agonisti JWH133'ün Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum Ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi.....	55
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	74
7. KAYNAKLAR.....	76
8. EKLER.....	97
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	97
9. ÖZGEÇMİŞ.....	98



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. 2-AG'nin şematik olarak biyosentezi.....	41
2. JZL184 kimyasal yapısı.....	45
3. Kannabidiolün kimyasal yapısı.....	47
4. JWH133 kimyasal yapısı.....	48
5. Sıçan akciğer ve bağırsak dokusu, hematoksilen/eosin boyama sonuçları.....	57
6. Sıçan akciğer dokusu, immunohistokimya boyama sonuçları. A (kontrol), B (IR), C (IR+ B2), D (IR+CD), E (IR+MA).....	58
7. Sıçan bağırsak dokusu, immunohistokimya boyama sonuçları. A (kontrol), B (IR), C (IR+ B2), D (IR+CD), E (IR+MA).....	59

## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1. Akciğer Hasarı Skoru (Murray Skoru).....	4
2. Akut Solunum Sendromu, Akut Akciğer Hasarı, AECC tanımları.....	5
3. ARDS Berlin Tanımı.....	6
4. ARDS'nin Etiyolojik Faktörleri.....	7
5. İnsan Akciğer Hasarının Özellikleri.....	11
6. Akciğer Hasarı Hayvan Modelleri ve ARDS ile Benzerlikleri, Farklılıkları ve Teknik Sorunlar.....	12
7. Kannabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistleri.....	38
8. Deney Grupları.....	50
9. İntestinal Mukozal Hasar Skorlama.....	53
10. Akciğer ve Bağırsak Dokularında İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi ile Kaspaz-3, Kaspaz-8 ve Kaspaz-9 Aktiviteleri.....	56

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>2-AG</b>	2-Araşidonil gliserol
<b>8-OH-dG</b>	8-Hidroksi-2-deoksi guanozin
<b>ACEA</b>	Araşidonil 2- kloroetilanandamid
<b>AEA</b>	Anandamid
<b>AECC</b>	Amerikan- Avrupa Konsensus Konferansı
<b>ALI</b>	Akut akciğer hasarı
<b>AMI</b>	Akut mezenter iskemi
<b>ARDS</b>	Akut solunum sıkıntısı sendromu
<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>BALF</b>	Bronkoalveoler lavaj
<b>CB1</b>	Kannabinoid reseptörü tip-1
<b>CB2</b>	Kannabinoid reseptörü tip-2
<b>CB</b>	Kannabidiol
<b>CBV</b>	Cannabivarin
<b>CLP</b>	Çekal ligasyon ve bağlama
<b>DAD</b>	Difüze akciğer hasarı
<b>DAG</b>	Diaçilgliserol
<b>DAMP</b>	Deoksiadenozin monofosfat
<b>ECLS</b>	Ekstrakorporeal yaşam tedavisi
<b>ECS</b>	Endokannabinoid sistem
<b>EMT</b>	Endokannabinoid membran transporterlar
<b>FAAH</b>	Yağ asidi amin hidrolaz
<b>GABA</b>	Gama aminobutirik asit

<b>GPCR</b>	G-proteiniyle kenetlenmiş reseptör
<b>HCl</b>	Hidroklorik asit
<b>HFV</b>	Yüksek frekanslı ventilasyon
<b>I</b>	İskemi
<b>İ/R</b>	İskemi/Reperfüzyonu
<b>KMİ</b>	Kronik Mezenter İskemi
<b>IL-1</b>	İnterlökin 1
<b>IL-6</b>	İnterlökin 6
<b>IL-8</b>	İnterlökin 8
<b>IL-10</b>	İnterlökin 10
<b>IL-11</b>	İnterlökin 11
<b>LBP</b>	Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
<b>LIS</b>	Akciğer hasar skoru
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>LTB4</b>	Lökotren b4
<b>LV</b>	Likit ventilasyon
<b>MAGL</b>	Monoaçilgliserol lipaz
<b>MDA</b>	Malonaldehit
<b>MI</b>	Mezenter iskemi
<b>MVT</b>	Mezenter venöz tromboz
<b>NAD</b>	Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NAPE</b>	N-araşidonil fosfotidiletanolamin
<b>NAPE-PLD</b>	N-araşidonil fosfotidiletanolamin - spesifik fosfolipaz-D
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>OA</b>	Oleik asit

<b>PAF</b>	Trombosit aktive edici faktör
<b>PARP</b>	Poli ADP-riboz polimeraz
<b>PEA</b>	Palmitoiletanolamidi
<b>PEEP</b>	Ekspirasyon sonu pozitif basınç
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>SMA</b>	Süperior mezenter arter
<b>TAC</b>	Total antioksidan kapasite
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktör
<b>TRPV</b>	Geçici reseptör potansiyelli vanilloid reseptörü
<b><math>\Delta</math>4-THC</b>	Tetrahidrokannabinoid

## 1. GİRİŞ

İskemi, organ veya dokulara giden kanın herhangi bir nedene bağlı olarak belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulmasıdır. İskemiye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması, doku hasarı veya nekroz ile sonuçlanmaktadır (1).

Hızlı gelişen dolaşım yetmezliği ile karakterize olan mezenter iskemi, acil servise başvuran hasta popülasyonunda % 0,1 gibi düşük bir orana sahip olan ve nadir görülen bir durum olmasına karşın, akut olarak gelişen vakaların %24-94 arasında değişen yüksek oranlarda mortalite ile sonuçlanmasına neden olan bir tablodur (2, 3). Akut mezenter iskemi, özellikle çoklu komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda en sık görülen morbid bir hastalık sürecidir (4).

Mezenter iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı genellikle mezenter arter oklüzyonu, ince bağırsak transplantasyonu, vasküler cerrahi işlemler ve travma sonrasında oluşmaktadır (5). Bu hasar; mukozal bariyer fonksiyonunun bozulmasına bağlı gelişen mukozal ve vasküler permeabilite artışı, bakteriyel translokasyon ve sistemik inflamatuvar cevap akut vasküler yetmezlik ve çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır (6).

Mezenter İ/R'nin bağırsakta oluşturduğu lokal hasara ek olarak gelişen uzak organ hasarlarından en önemlisi akciğer hasarıdır. Mezenter İ/R esnasında inflamatuvar sitokinlerin ve aktive edilmiş nötrofillerin aşırı derecede salınımı sonucunda akut akciğer hasarı gelişmektedir. Bu durumda mevcut tedaviler yetersiz kaldığından dolayı akut akciğer hasarı mezenter İ/R hastaları için önemli bir ölüm nedeni haline gelmektedir. Bu nedenle, mezenter İ/R hasarının indirekt nedeni olarak gelişen akut akciğer hasarında kullanılan semptomatik tedaviler yerine yeni yaklaşımlara ve tedavide kullanılacak ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (7, 8).

Kannabinoidlerin birçok sistem üzerinde önemli fizyolojik ve farmakolojik etkileri bulunmaktadır (9, 10, 11). Kannabinoidler; endokannabinoidler, fitokannabinoidler ve sentetik kannabinoid analogları şeklinde sınıflandırılmaktadır (12). Endojen kannabinoid sistem (EKS); tip 1 ve tip 2 kannabinoid reseptörleri (CB1, CB2), endojen ligandlar, endokannabinoidlerin sentezini ve degradasyonunu sağlayan enzimlerden oluşmaktadır. EKS; ağrı, anksiyete, bağımlılık, öğrenme, inflamasyon ve immün yanıtın düzenlenmesi gibi süreçlerde rol oynamaktadır (13). Kannabinoidlerin akciğer üzerinde anti-inflamatuvar ve antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (9, 10, 11).

Araşidonat temelli lipidler olan anandamid (AEA) ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) en iyi bilinen endojen kannabinoidlerdir. AEA ve 2-AG etkilerini hücrelerde yer alan G-protein reseptör ailesine ait CB1 ve CB2 reseptörlerine bağlanarak göstermektedirler (14). CB1 ve CB2 reseptörleri adenilat siklaz ile negatif kenetlenmekte ve/veya protein kinaz (MAPK)'ı aktive etmektedir. Bunun yanı sıra endokannabinoidlerin CB1 ve CB2 reseptörleri haricinde, transient reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1), G proteine bağlı reseptör 55 (GPR55), G proteine bağlı reseptör 119 (GPR119), peroksizom aktive-proliferatör reseptörleri (PPARs) gibi reseptörleri de aktive edebildikleri gösterilmiştir (15, 16, 17).

AEA, yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından araşidonik asit ve etanolamine hidrolize edilmektedir. 2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizi ise monoaçilgliserol lipaz (MAGL) enzimi aracılığıyla olmaktadır (12, 18, 19). Bu enzimlerin inhibisyonu veya kannabinoid reseptör agonistleri aracılığıyla endokannabinoid tonusunun arttırılması, pek çok hastalık modelinde yeni tedavi hedefleri olarak araştırılmaktadır.

Bu çalışma ile süperior mezenter arterde (SMA) 30 dakika iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulanarak akut akciğer hasar modeli gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, İ/R sonucu meydana gelen bağırsak hasarı ve ikincil olarak gelişen uzak organ (akciğer) hasarı üzerine, monoaçilgliserol lipaz (MAGL) inhibitörü JZL184, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti kannabidiol (CB) ve selektif CB2 reseptör agonisti JWH133'ün olası koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Akut Akciğer Hasarı Sendromu/Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

Laennec tarafından 1821'de nonkardiyak orijinli pulmoner ödem ile karakterize yeni bir sendrom tanımlamıştır. Daha sonra bu sendromu tanımlamak için “çift zatürree”, “şok akciğeri”, “travmatik ıslak akciğer”, “konjestif atelektazi”, “şok akciğeri” ve “Da Nang akciğeri” gibi çeşitli terimler kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda yapılan araştırmalar neticesinde akut akciğer hasarı (ALI) ve akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) tanımlanmıştır (20, 21).

ALI, kritik hasta popülasyonunda önemli bir morbidite ve mortalite kaynağıdır. ALI, hidrostatik pulmoner ödem belirtisi olmayan ve sol atriyal hipertansiyona ait klinik kanıt bulunmayan hipoksemili bilateral akciğer infiltratlarının akut başlangıcı olarak tanımlanmaktadır (22). Ek olarak, ALI gelişiminde arteriyel oksijenin, solunan oksijen fraksiyonuna oranı ( $PaO_2 / FiO_2$ ), pozitif son ekspiratuar basınç seviyesinden (PEEP) bağımsız olarak 300 mmHg veya daha düşük olmalıdır. ALI'nin en şiddetli şekli olan ARDS, arteriyel oksijenin, 200 mmHg veya daha düşük kapasitede solunan oksijen fraksiyonuna oranı olarak değerlendirilmektedir. ALI ve ARDS terimleri zaman zaman birbirlerinin yerine kullanılsa da, kesin ölçütlere göre, ARDS hastalığın en ağır şeklini yansıtmaktadır (23).

ARDS, mekanik ventilasyonun sağlanamadığı durumlarda hastaların büyük çoğunluğunun kaybedildiği, hipoksemi ile karakterize olarak hayatı tehdit eden ve akut gelişen solunum yetmezliği ile tetiklenen çoklu risk faktörleri içeren bir sendromdur (24, 25). ALI ve ARDS hızlı başlangıçlı solunum yetmezliğini takiben doğrudan veya dolaylı olarak gelişen akciğer parankiminde ya da damar yapısında oluşan hasar ile karakterizedir. ALI / ARDS'nin akciğer patolojisi akut ve fibroproliferatif evreye ayrılabilir, ancak oluşan hasarın altında yatan nedenlere bağlı olarak farklılıklar oluşmaktadır (26).

ARDS, 1967 yılında Ashbaugh ve ark. tarafından (27), akut solunum yetmezliği olan on iki kritik hasta grubunda her iki akciğerin akut anormalliği ile karakterize farklı bir klinik oluşumu tanımlamak için ilk kez kullanılmıştır. 1994 yılında, onlarca farklı tanımlamanın ardından, Amerikan-Avrupa Konsensus Konferans Komitesi, ALI/ARDS için bir konsensus tanımının kabul edilmesini



önermiştir (22). Avrupa Yoğun Bakım Derneği, Amerikan Toraks Derneği ve Yoğun Bakım Derneği 2011 yılında Berlin’de ARDS tanımının revizyonu için toplanmış olup, bu toplantıda yapılan “Berlin tanımı” doğrultusunda ARDS’nin ALI’nin şiddetli formu olduğu kabul edilmiş, bunun yanı sıra komite ALI tanımının gereksiz olduğu ve uygunsuz kullanıldığı kanaatine vararak, ARDS’yi hafif (ılımlı), orta ve ağır olarak değerlendirmiştir (28, 29).

ARDS ve ALI için üç farklı tanımlama yapılmış olup, güncel olarak 2011 yılında belirlenen Berlin tanımı kullanılmaktadır. ALI/ARDS’ye ilişkin yapılan tanımlamalara ait bilgiler aşağıda yer almaktadır:

- i. Murray Akciğer Hasar Skorum Sistemi: 1988 yılında Murray ve arkadaşları ARDS’nin çeşitli patofizyolojik özelliklerini dikkate alarak genişletilmiş bir tanımlama yapılmasını önermiştir. Murray Skorum Sistemi; hipoksi skorlaması, solunum sistemi kompliyansı skorlaması, göğüs radyolojisi skorlaması ve ekspirasyon sonu pozitif basınç (PEEP- Positive End Expiratory Pressure) olmak üzere dört farklı kriterden oluşmaktadır. Her bir kriter, durumun şiddetine göre 0 ila 4 arasında skorlanmaktadır. Son puan kullanılan bileşenlerin sayısına göre toplu puanın bölünmesiyle elde edilmektedir. Sıfır puan akciğer hasarının olmadığını, 1- 2.5 puan arası hafif-orta akciğer hasarını ve 2.5 üzeri puan ARDS’nin varlığını göstermektedir (Tablo 1) (30, 31).

**Tablo 1.** Akciğer Hasarı Skoru (Murray Skoru) (1988) (30, 31)

Akciğer röntgen skoru		Hipoksemi skoru	
Alveolar konsolidasyon yok	0	PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> >300	0
1 Kadranda konsolidasyon	1	PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> 225-299	1
2 Kadranda konsolidasyon	2	PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> 175-224	2
3 Kadranda konsolidasyon	3	PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> 100-174	3
4 Kadranda konsolidasyon	4	PaO <sub>2</sub> / FiO <sub>2</sub> <100	4
PEEP ihtiyacı (Ventile edilirken)		Dinamik akciğer kompliyans (Ventile edilirken)	
0	<5 (cm H <sub>2</sub> O)	0	> 80 (ml/cmH <sub>2</sub> O)
1	6-8 (cm H <sub>2</sub> O)	1	60-79 (ml/cmH <sub>2</sub> O)
2	9-11 (cm H <sub>2</sub> O)	2	40-59 (ml/cmH <sub>2</sub> O)
3	12-14 (cm H <sub>2</sub> O)	3	20-39 (ml/cmH <sub>2</sub> O)
4	> 15 (cm H <sub>2</sub> O)	4	< 19 (ml/cmH <sub>2</sub> O)

ARDS'li bir hastanın LIS sistemine göre aldığı puanları toplandığında: 0 puan normal, 0.1-2.5 puan hafif veya orta, ARDS >2.5 şiddetli ARDS olarak değerlendirilmektedir.

- ii. Amerika-Avrupa Konsensus Toplantısı: 1994 yılında yapılan Amerika-Avrupa Ortak Konsensus Konferansı (AECC)'nda ARDS; solunum yetmezliğinin ani olarak başlaması, akciğer grafisinde bilateral infiltrasyonlar, PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> oranı ≤200 mmHg ile tanımlanan hipoksemi ve kanıta dayalı olmayan sol atriyal hipertansiyon bulgusu veya kardiyojenik ödem ekarte eden 18 mmHg (ölçülürse) altında pulmoner kapiller basınç tarafından tetiklenen solunum yetmezliği olarak tanımlanmıştır. Aynı konferansta ARDS'nin akut akciğer hasarının (ALI) şiddetli formu olduğu kabul edilmiş (6) ve ARDS'den tek farkının hipoksemi derecesi olduğu, bu derecenin ise 200 < PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> ≤ 300 mmHg olarak tanımlandığı ifade edilmiştir (Tablo 2) (25, 32).

**Tablo 2.** Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu, Akut Akciğer Hasarı, AECC Tanımları (1994) (33)

Klinik	Akut Akciğer Hasarı	Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
Başlangıç	Akut	Akut
Hipoksemi	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> ≤ 300 (40 kPa) (PEEP'ten bağımsız)	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> ≤ 200 (27 kPa) (PEEP'ten bağımsız)
Radyoloji	Pulmoner ödem ile uyumlu bilateral infiltrasyonlar	Pulmoner ödem ile uyumlu bilateral infiltrasyonlar
Nonkardiyak neden	Sol atriyal hipertansiyonun klinik bulgusunun olmaması veya PCWP ≤ 18 mmHg	Sol atriyal hipertansiyonun klinik bulgusunun olmaması veya PCWP ≤ 18 mmHg

AECC: American European Consensus Conference

PCWP: Pulmoner kapiller uç/oklüzyon basıncı

kPa : Kilopaskal

PEEP : Ekspirasyon sonu pozitif basıncı

1994 yılındaki Amerika-Avrupa Konsensus Konferansı Komitesinin tanımı sonrasında klinik araştırmalar belirli standartlara uymuş, elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması kolaylaşmıştır (32).

iii. Avrupa Yoğun Bakım Derneği, Amerikan Toraks Derneği ve Yoğun Bakım Derneği 2011 yılında Berlin’de ARDS tanımının revizyonu için toplanmış olup, toplantı sonunda ARDS ile ilgili yeni bir tanımlama oluşturulmuş, bu yeni tanıma Berlin tanımlaması adı verilmiştir. Bu tanıma gore ARDS; akut akciğer hasarı (Acute Lung Injury-ALI) sol atriyal hipertansiyon yokluğunda, iki taraflı pulmoner infiltrat ve  $PaO_2 / FiO_2$  (P / F) oranı  $< 300$  olan akut solunum yetmezliği olarak tanımlanmıştır (34). Bu tanıma gore; ALI terimi kullanılmamaktadır. Komite ALI tanımının gereksiz olduğu ve uygunsuz kullanıldığı kanaatine vararak, ARDS’yi hafif (ılımlı), orta ve ağır olarak değerlendirmişti (Tablo 3) (29).

**Tablo 3.** ARDS Berlin Tanımı, 2011 (21)

Akut Akciğer Solunum Sıkıntısı Sendromu			
Kriter	Hafif	Orta	Ağır
Zamanlama	Akut başlangıç, bir hafta içinde başlayan klinik ve yeni/kutleşen solunum semptomları		
Hipoksemi	$PaO_2/FiO_2 = 201-300$ mmHg ve $PEEP/CPAP \geq 5$	$PaO_2/FiO_2 \leq 200$ mmHg ve $PEEP \geq 5$	$PaO_2/FiO_2 \leq 100$ mmHg ve $PEEP \geq 10$
Ödem nedeni	Kalp yetmezliği veya sıvı yüklemesi ile tamamen açıklanamayan solunum yetmezliği		
Radyolojik anormallikler	Bilateral opasiteler*	Bilateral opasiteler*	En az üç kadranı kaplayan opasiteler*
Ek fizyolojik düzensizlikler	N/A	N/A	$CRS < 40$ ml/cmH <sub>2</sub> O veya $VE_{corr} > 10$ L/dakika

\*Efüzyon, nodül, kitle veya lobar/akciğer kollapsı ile tamamen açıklanamayan

\*\*Hiçbir risk faktörü yoksa objektif değerlendirmeye ihtiyaç vardır.

$VE_{corr} = VE \times PaCO_2/40$  (vücut yüzey alanı ile düzeltilmiş dakika ventilasyonu), CRS: istirahatte akciğer kompliyansı, CPAP: devamlı pozitif hava yolu basıncı N/A: uygulanabilir değil kullanılamaz.

Akut solunum yetmezliği görülen bazı hastalarda, Berlin kriterlerini karşılayan ARDS ortak risk faktörlerine rastlanmamaktadır. Bu tabloya ARDS'yi taklit eden histolojik diffüz alveolar hasar yoksunluğu adı verilmektedir. Gibelin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ortak risk faktörü eksikliği olan ARDS hastalarında mortalite oranının oldukça yüksek olduğu grlmştir. Atipik ARDS'lerde bronkoalveoler lavaj sıvısı (BAL) sitolojisi ve akciğerin bilgisayarlı tomografi (CT) taraması yapılarak bu hastaların kortikosteroid içeren ilaç tedavilerine cevap verip vermediği incelenmelidir (35).

ARDS, direkt akciğerini ilgilendiren sebeplere (pulmoner/direkt ARDS) veya sistemik bir hastalık kaynaklı ortaya çıkan sekonder (ekstra pulmoner/indirekt ARDS) nedenlere bağlı olarak gelişebilmektedir (Tablo 4) (30)

**Tablo 4.** ARDS'nin Etiyolojik Faktörleri

Pulmoner	Ekstrapulmoner
Aspirasyon pnömonisi	Sepsis
İnfeksiyöz pnömoni	Septik şok
Suda boğulma	Bakteriyemi
Pulmoner kontüzyon	Akut pankreatit
Toksik inhalasyon	Yanıklar
Kan transfüzyonu	çoklu travma
Yağ embolisi	Gazlı gangren
Septik emboli	Reperfüzyon hasarı
Amnotik sıvı embolisi	Kafa travması

ARDS, pulmoner veya ekstrapulmoner faktörler nedeniyle akut olarak başlamaktadır. İlk durumda doğrudan akciğer hasarı, diğer durumda ise gelişen sistemik inflamatuvar süreç sonrası dolaylı akciğer hasarı söz konusudur. Sepsis, ARDS oluşumunun en önemli nedenlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer ARDS nedenlerine bakıldığında, pulmoner kaynaklı ARDS nedenlerinin başında mide içeriğinin aspirasyonu yer almaktadır. Ayrıca akciğer kontüzyonu, yağ embolisi, boğulma, duman inhalasyonu ve reperfüzyon hasarı doğrudan akciğer hasarı

sonrasında ARDS'ye yol açabilecek nedenlerdir. Ekstrapulmoner nedenler arasında ise çoklu travma, kardiyopulmoner by-pass cerrahisi, akut pankreatit, ilaç intoksikasyonları, kan ve kan ürünleri transfüzyonu bulunmaktadır (32).

ARDS; yüksek görülme insidansı, ölüm oranının yüksekliği, uzun vadeli sekel ve spesifik farmakolojik tedavisinin olmaması nedeniyle en önemli ve kritik tablolardan birini oluşturmaktadır. ARDS'nin histolojik bulgusu diffüz akciğer hasarı (DAD)'dır. ARDS hastalarının yaklaşık % 50'sinde DAD görülmekte, geriye kalan hastalar ise heterojen bir grup oluşturmaktadır. Ancak çoğunluğu iyi tanımlanabilen hastalıklar olduğundan dolayı, doğru teşhis edildiğinde tedavinin başarı oranı oldukça yüksektir (36).

## **2.2. Akut Akciğer Hasarı/ Akut Solunum Sıkıntısı Sendromunda Patogenez**

ARDS, çeşitli pulmoner ve ekstrapulmoner nedenlere yanıt olarak akciğerin diffüz inflamasyonu ile karakterizedir. ALI/ARDS'deki temel patoloji, alveol-kapiller permeabilitede artışa bağlı olarak gelişen akciğer hasarı ve pulmoner ödem olmaktadır. Endotelyal hasar, nötrofil aktivasyonu, serbest radikallerin oluşumu, koagülasyon sisteminin aktivasyonu ve pro-inflamatuvar mediatörlerin salınmasını içeren bir inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir (37). ARDS'ye neden olan faktörler, alveolo-kapiller membranın zarar görmesine ve protein bakımından zengin ödem sıvısının alveollere sızmasına neden olmaktadır. Sonuçta akciğer intersitisyumunda ve distal hava boşluklarında protein açısından zengin ve nötrofilik pulmoner ödem birikimi meydana gelmektedir. Protein açısından zengin ödem sıvısında çok sayıda nötrofil, monosit, epitel hücreleri, sitokinler, proteazlar, oksidanlar ve prokoagülan faktörler dahil olmak üzere proinflamatuvar mediyatörler yer almaktadır (38, 39).

Sendromun akut fazında, bronşiyal ve alveoler epitel hücreleri dökülmekte ve protein bakımından zengin hiyalin membranlar bazal membran üzerinde oluşmaktadır. Nötrofiller; hasara uğrayan kapiller endotele yapışarak, interstisyum içinde protein bakımından zengin ödem sıvısı ile dolmuş olan hava boşluğunda konumlanmaktadır. Hava boşluğunda, alveoler makrofajlar tarafından sitokinler, interlökin (IL) 1, 6, 8 ve 10 ve tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) salgılanmaktadır. Bunlar lokal olarak nötrofilleri aktive ederek, kemotaksis için uyarmaktadır. IL-1, aynı zamanda fibroblastların ekstraselüler matriks üretimini de stimüle edebilmektedir.

Nötrofiller; oksidanlar, proteazlar, lökotrienler ile trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi diğer proinflamatuvar moleküllerin salınımını sağlamaktadır. Çözünür TNF reseptörü, IL-8'e karşı otoantikolar ve IL-10, IL-11 gibi sitokinleri içeren anti-inflamatuvar mediyatörler alveolar ortamda bulunmaktadır. Protein açısından zengin ödem sıvısının alveol içerisine girişi sürfaktanın etkisizleşmesine yol açmaktadır (39).

ARDS'nin fizyolojik bozuklukları, pulmoner ödem kaynaklı alveollerde kapanma eğilimi, oksijen tedavisine direnç gösteren hipoksemi, solunum kompliyansının azalması gibi gelişen olaylara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (40, 41).

İnsanlarda ALI / ARDS başlangıcındaki akut fizyolojik değişiklikler arasında, genellikle ekspirasyon sonu pozitif basınç (PEEP) yanıt veren ve düşük akciğer yoğunluğunun neden olduğu total torakal uyumda düşüş olan ağır hipoksemi yer almaktadır. Endotel ve epitel geçirgenliğinin artışı, ekstrasvasküler alanda ödem gelişimine neden olmaktadır. Bu değişiklikler ventilasyon / perfüzyon uyumsuzluğuna ve şant fraksiyonunda artışa neden olmaktadır (42).

Patofizyolojik mekanizmalar, oluşan hasara bağlı olarak değişmektedir. Otopsi bulgularında ARDS'nin erken döneminde epitelyal ve endotel hücre hasarına bağlı alveolar ödem ile yansıyan artmış geçirgenlik ve nötrofil infiltrasyonu gibi birçok yaygın patolojik pulmoner değişiklik görülmektedir (25). Hastalarda gelişen akciğer patolojisine ilişkin yapılan çalışmalar, ALI/ARDS seyri esnasında, şiddetli epitel ve endotel hasarını ve geç fibroproliferatif cevabın oluştuğunu doğrulamaktadır (43).

Akciğer alveoler ödem sıvısında ya da bronkoalveoler lavaj mayinde (BAL) yapılan çalışmalar, akciğerde, proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinleri içeren, fibrin açısından zengin proteinli eksuda gelişimi ile karakterize, akut bir nötrofilik inflamatuvar yanıtın mevcut olduğunu göstermektedir (44).

ARDS'de gözlenen kompleks patofizyoloji, farmakolojik tedavi açısından da çoklu potansiyel hedefleri ortaya çıkarmaktadır (37). Nitrik oksit (NO), prostaglandin vb. farmakolojik tedavilerin, oksijenizasyonu kısa süreli düzeltmesi ancak klinik sonuçları değiştirmemesine rağmen umut vaat ettiği görülmektedir (30).

### 2.3. ARDS Tedavi Yaklaşımları

1967'den bu yana patogenezi ve tedavi olanakları hakkında çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, akciğer koruma stratejilerinden daha etkili bir ARDS tedavi şekli henüz bulunamamıştır (25). Bu nedenle, tedavi semptomatik ve destekleyici olmaktan ileri gidememiştir. Mevcut tedavi olanakları, farmakolojik ve non-farmakolojik tedaviler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (30).

ARDS için etkili farmakoterapi son derece sınırlı kalmaktadır. Uzun yıllardır yapılan klinik çalışmalara rağmen, ARDS'li tüm hastaların tedavisi için hiçbir spesifik farmakolojik tedavi ortaya çıkamamıştır. Bugüne kadar sadece akciğer koruyucu ventilasyon stratejileri bu hastalarda olumlu sonuçlar verebilmiştir. Farmakoterapinin cesaret verici sonuçlarına rağmen, ARDS tedavisi için umut verici terapötik hedefler günümüzde de yoğun olarak araştırılmaktadır (37).

Farmakolojik tedavi kapsamında; sürfaktan, nitrik oksit, kortikosteroid, antioksidanlar (asetilsistein), prostoglandin inhibitörleri (indometasin), vasodilatatörler (sodyum nitroprusid), fosfodiesteraz inhibitörleri (pentoksifilin) ve tromboksan sentaz inhibitörleri (ketokonazol) kullanılmaktadır. Bu tedavi yaklaşımları henüz standart tedavi şemalarında yer bulamamışlardır ve spesifik tedavi bulma yolunda yoğun araştırmalar devam etmektedir. Nonfarmakolojik tedavide ise; ventilasyon tedavisi, pron pozisyonu, yüksek frekanslı ventilasyon (HFV), ekstrakorporal yaşam tedavisi (ECLS), likit ventilasyon (LV) ve sıvı rejimi gibi tedavi süreçlerinden oluşmaktadır (30, 45).

### 2.4. Akut Akciğer Hasarı/Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Deney Modelleri

İnsanlarda akut akciğer hasarı histopatolojik olarak nötrofilik alveolit, alveolar epitel ve endotelyum hasarı, hiyalin membran oluşumu ve mikrovasküler trombüs hasarı ile karakterizedir (46) Tablo 5'te akciğer hasarının oluşturduğu klinik, fizyolojik, biyolojik ve patolojik özellikler gösterilmiştir.

Akciğer hasarı mekanizmalarını araştırmak için, farklı deneysel akciğer hasar modelleri kullanılmaktadır. İdeal bir ALI / ARDS hayvan modeli, insanda meydana gelen ALI / ARDS' nin temel patolojik özellikleri olan hiyalin membran birikmesi ve mikrotrombüs oluşumu ile birlikte ciddi bir nötrofilik alveolit patolojisinin üçünün de

oluşturulduğu bir model olmalı, ortaya çıkan fizyolojik ve patolojik değişiklikler de dahil olmak üzere ALI/ARDS'nin mekanizmalarını ve sonuçlarını gösterebilmelidir (47).

**Tablo 5.** İnsan Akciğer Hasarının Özellikleri (48)

Klinik özellikler	Akut başlangıç Diffüz bilateral alveoler hasar Akut eksüdatif faz Fibrosis ile iyileşme
Fizyolojik değişiklikler	V / Q anormallikleri Şiddetli hipoksemi Azalmış kompliyans Alveolar sıvı klirensinde bozulma
Biyolojik değişiklikler	Artan endotel ve epitel geçirgenliği Akciğerlerdeki sitokin konsantrasyonlarında artış Proteaz aktivasyonu
Patolojik değişiklikler	Nötrofilik alveoler infiltratlar İntra-alveolar koagülasyon ve fibrin birikimi Alveolar epitelin hasarlanması ile bazal membranın bütünlük kaybı

Tablo 6'da hayvanlarda oluşturulan farklı akut akciğer hasarı modelleri verilmektedir. Tabloda, farklı modellerle insanda gelişen akciğer hasarı arasındaki benzerlik ve farklılıklar gösterilmiş olup, her modelin önemli avantajları ve dezavantajları belirtilmiştir. Görüldüğü üzere hayvan modellerinin hiçbiri, ALI/ARDS'nin tüm histopatolojik özelliklerini tatmin edici şekilde oluşturamamaktadır. Bu nedenle, bir ALI/ARDS hayvan modelini seçerken, çalışmanın hipotezi tarafından test edilecek olan ALI/ARDS'nin temel özelliklerini dikkate almak ve sonra bu özellikleri oluşturan bir model seçmek önemlidir. Örneğin, epitel hasarı mekanizmalarını incelemekle ilgilenen bir araştırmacı, akciğerin iskemi reperfüzyonu veya asit aspirasyonu gibi, hiyalin membranlarının belirgin gelişimini sağlayacak bir model seçmeyi tercih etmelidir (47).



**Tablo 6.** Akciğer Hasarı Hayvan Modelleri ve ARDS İle Benzerlikleri, Farklılıkları Ve Teknik Sorunlar (48)

Model	ARDS ile benzerlikler	ARDS ile farklılıklar	Teknik sorunlar
Oleik asit	Akut ve onarım aşamaları insan benzer histopatolojik ve fizyolojik özelliklere sahiptir.	İnsan ARDS'sinin sadece bir kısmı yağ embolisinden kaynaklanır. Septik ARDS'nin fizyopatolojisini modellemez.	İyi tekrarlanabilirlik Küçük hayvanlarda zor olablen oleik asidin intravenöz enjeksiyonunu gerektirir.
LPS	İntrapulmoner sitokinlerde artış ile nötrofilik inflamatuvar yanıt	Alveoler kapiller geçirgenlikteki değişiklikler hafiftir.	Tekrarlanabilir bir yöntemdir.
Asit aspirasyonu	Nötrofilik infiltrasyon ile alveoler / kapiller bariyerin bozulması	İnsanlar saf asidi değil, mide içeriğini aspire ederler.	Tekrarlanabilir bir yöntemdir. Hasar oluşturan ve oluşturmeyen dozlar arasındaki aralık dardır.
Hiperoksi	Epitel hasarı ve nötrofilik infiltrasyonun akut fazını takiben Tip II hücre proliferasyonu ve skar gelişimi	Normal insan akciğerlerinde % 100 oksijen akciğer hasarına neden olmamaktadır; hiperoksinin ARDS patogenezinde yer alıp almadığı belli değildir.	İyi tekrarlanabilirlik İstenilen gaz konsantrasyonlarının takibi için özel ekipman gerektirir.
Bleomisin	Akut inflamatuvar yaralanma ve ardından seyreden geri dönüşümlü fibrozis	Hiyalin membranlar oluşmaz. Fizyopatolojik önemi açık değil.	İyi tekrarlanabilirlik
Tuzlu yıkama	Sürfaktanın tükenmesi Azalmış akciğer kompliyans Bozulmuş gaz değişimi	Ek bir uyarı olmadan, geçirgenlikte minimal bozulma ve küçük polimorfonükleer nötrofil (PMN) göçü	Hayvanlara prosedür boyunca ve sonrasında anestezi yapılmalı, entübe edilmeli ve ventilasyon sağlanmalıdır.

**Tablo 6.** Akciğer Hasarı Hayvan Modelleri ve ARDS İle Benzerlikleri, Farklılıkları Ve Teknik Sorunlar (48) (Devamı)

Model	ARDS ile benzerlikler	ARDS ile farklılıklar	Teknik sorunlar
Non-pulmoner iskemi / reperfüzyon	Akciğerlerde artmış mikrovasküler geçirgenlik ve PMN sekestrasyonu	Yaralanma hafiftir ve inflamatuvar bileşen çoğunlukla interstisyumla sınırlıdır	Komplike hayvan ameliyatı gerektirir
İntravenöz bakteri	İnterstisyel ödem, intravasküler konjesyon, PMN sekestrasyonu	Minimal alveolit; nötrofilik membran oluşumu yok	Önemli biyolojik değişkenlik
İntrapulmoner bakteriler	Artmış geçirgenlik, interstisyel ödem, nötrofilik alveolit	Erken ARDS'de nadir görülen kültürler	Önemli biyolojik değişkenlik
Peritonit	Artmış geçirgenlik Değişken derecelerde nötrofilik alveolit	Minimal membran oluşumu	Biyolojik değişkenlik Hasar oluşturacak doz lethal doza yakındır.
Çekal ligasyon ve bağlama	Artmış geçirgenlik Değişken derecelerde nötrofilik alveolit	Minimal membran oluşumu	Biyolojik değişkenlik Cerrahi müdahale gereksinimi
Pulmoner iskemi / reperfüzyon	Pulmoner vasküler permeabilitede artış PMN infiltrasyonu	Hasar genellikle hemorajiktir	Komplike hayvan ameliyatı gerektirir.

Akut akciğer hasarı deney modelleri direkt, indirekt ve kombinasyon modelleri olarak üç grup altında incelenmektedir.

#### 2.4.1. Direk yöntemler

##### Lipopolisakkarit (LPS)

Gram negatif bakterilerin dış membran komponenti olan lipopolisakkarit (LPS), saflaştırılmış glikolipit yapıya sahiptir. LPS toksisitesi, içeriğinde bulunan lipit A yapısından kaynaklanmaktadır. LPS, immün sistemin potent bir aktivatörüdür. LPS, makrofajlardan IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklemesinden dolayı septik şok ve çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (49, 50).

LPS serumda, spesifik bir lipopolisakkarit bağlayıcı proteine (LBP) bağlanmakta ve LPS-LBP kompleksi oluşmaktadır. LPS-LBP kompleksi inflamatuvar mediyatörlerin salınımını tetikleyerek monositler, makrofajlar ve diğer hücrelerde bulunan CD14 / TLR-4 reseptör kompleksini aktive etmektedir (51).

LPS'nin intravenöz uygulanmasını takiben öncelikle kapiller endotelinde hasar meydana gelmektedir. Apoptoza bağlı olarak ilerleyen hücre hasarı nekroz ile sonuçlanmaktadır. LPS uygulaması sonucunda oluşan hemodinamik yanıt, lökopeni, kardiyak output ve arteriyel basınçta azalma ile karakterizedir. Postkapiller ven direncine bağlı olarak pulmoner arteriyel basınçta artış görülmektedir. Akciğerlerde alveoler ve arteriyel oksijen farkı oluşmakta ve oluşan artışa bağlı olarak da hipoksemi gelişmektedir (48, 52).

LPS, gram negatif bakterilere yanıt olarak sepsiste önemli bir mediyatördür. Bu durum, sistemik yoldan LPS uygulamasını, sepsis modeli oluşturmada kullanılan ilk yöntemlerden biri haline getirmektedir. Bilindiği üzere sepsis tablosu, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), septisemi, ciddi sepsis ve septik şok şeklinde devam etmektedir. LPS uygulamasından kısa bir süre sonra, pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı yüksek oranda tetiklendiğinden dolayı SIRS gelişmektedir. Aynı zamanda doza bağımlı olarak mortalite riski artmaktadır (53, 54).

LPS, hayvan akciğerine intravenöz, aerosol formda, intranazal birikimle, trakeostomi veya endotrakeal tüple intratekal yoldan uygulanabilir. LPS uygulamasına bağlı olarak oluşturulan deney modellerinde uygulama dozu, kullanılan LPS'nin tipine

ve hayvanın türüne göre değişmektedir. Örneğin düşük dozda LPS uygulaması, koyun, domuz ve kedilerde pulmoner inflamasyon oluştururken, rodent ve köpeklerde bu etkiyi oluşturamamaktadır (55).

İnsanlara oranla fare ve sıçanlar endotoksinlere karşı daha dirençlidir. LPS uygulaması ile hayvanlarda oluşturulan ARDS modellerinde, insanda görülen ARDS'de oluşan endotel ve epitel hasarı kadar hasar oluşmamaktadır. Mevcut veriler, LPS uygulamasının, endotoksemi veya SIRS'ın patofizyolojik süreçlerini incelemek ve endotoksik şok modeli oluşturmak için kullanılabileceğini göstermektedir (41, 54).

### **Asit aspirasyonu**

İlk olarak 1946'da Mendelson tarafından gastrik içeriğin aspirasyonunu takiben akut solunum yetmezliğinin gelişmesi tanımlanmıştır. Gastrik içeriğin aspirasyonu, ARDS için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Gastrik içerik düşük pH'ya sahip olduğundan, hayvanlarda akciğer hasarı oluşturmak için hidroklorik asit (HCl) kullanılmaktadır. Düşük pH'nın yanı sıra aspire edilen gastrik ve orofarengeal içerikte yer alan yiyecek artıkları ve bakteriyel ürünler, yüksek osmolarite gibi birçok etmen de aspirasyona bağlı akut akciğer hasarı patogeneğinde rol oynamaktadır (56, 57).

Hayvan mekanik olarak ventile edilirken HCl'nin doğrudan trakea veya bronşa uygulanması ile model oluşturulmaktadır. HCl, akciğerlerde hızla nötralize olur. Bu nedenle, HCl konsantrasyonu oluşan hasarın şiddetini etkilemektedir. Özellikle asit aspirasyonu sonucu sıklıkla ARDS geliştiği görülen yoğun bakım hastalarının gastrik içeriğinin pH değeri düşüktür. Bu nedenle deney modeli oluşturulurken genellikle 0.1 N HCl uygulanır. Bazı çalışmalarda daha yüksek pH'ya sahip 0.5 N HCl uygulaması da yapılmaktadır. Bir başka uygulama yolu ise; düşük olan pH değerinin yükseltilebilmesi için %0,3'lük NaCl'nin HCl ile pH 1,2-1,5 olana kadar titre edilmesidir (55).

Düşük pH asit aspirasyonu uygulaması sonucunda nötrofile bağımlı akut akciğer hasarı oluşmaktadır. Bu hasar; fizyolojik olarak akciğer uyumu ve hacminde azalma; histolojik olarak ise nekroz, alveol epitel ve endotelinde hasar, akut nötrofilik inflamasyon, hemoraji, intra-alveolar ve interstisyel ödem ile karakterizedir. Asit aspirasyonu, alveoler epitel sıvı transportunda bozunmaya ve sonuç olarak pulmoner kan akışı veya vasküler filtrasyondan bağımsız olarak alveoler sıvı klerensinde

değişikliğe neden olmaktadır. Bununla birlikte asit aspirasyonu kapiller endotelinde de hasar meydana getirmektedir. HCl'nin akciğerlere uygulanması, hava yolu direncinde ve pulmoner arter basıncı, pulmoner vasküler rezistans ve şant fraksiyonunda artışa neden olur. Pulmoner kapiller uç (kama) basıncı ve kalp atışı değişmeden kalır. Kardiyak output ve ortalama arter basıncı ise ya değişmeden kalır ya da azalır. Ana sistemik sonuçlar nötropeni ve trombositopenidir. Asit aspirasyon yöntemi epitel hasarı için iyi bir deney modelidir. Bu modelde, insan ALI/ARDS'ye göre nötrofil cevabı daha az belirgindir (57, 58).

## Hiperoksi

Yüksek konsantrasyonda oksijenin solunmasının akciğer hasarına neden olabileceği, 1783 yılında Antonie Lavoisier'in kobaylar üzerinde yaptığı deneysel çalışma ile bulunmuştur. Hayvanların  $FIO_2 \geq 1.0$  şiddetinde oksijene maruz kaldıklarında şiddetli inflamasyon ve yüksek ateş sonucunda öldükleri görülmüştür. Hiperoksi uygulaması sonucu oluşan akciğer hasarı ile ARDS, sepsis ve travma modeli oluşturulabilmektedir (48).

Oksijen toksisitesi hakkında kesin bir bilgi olmamasına karşın, oksijen hasarının direkt olarak moleküler oksijenden kaynaklı reaktif oksijen radikalleri veya nitrik oksit gibi yapılarla etkileşim sonucunda oluştuğu düşünülmektedir. Hiperoksi varlığında mitokondri ve diğer organeller normal hücresel solunumda olduğundan daha fazla miktarda süperoksit anyonu oluşturur. Fazla miktardaki süperoksit anyonları, antioksidan enzim kapasitesini aştığından ortamdan temizlenemez ve hücresel glutasyonu tüketirler. Bunun yanı sıra süperoksit anyonu, nitrik oksit ile reaksiyonu sonucunda oksidan bir molekül olan peroksinitriti oluşturur. Bu ürünlerin birikimi ile proteinler oksitlenir, membran lipitleri ve nükleik asitlerin peroksidasyonu meydana gelir. Nekroz ve apoptozun gelişmesi ile hasar oluşur (59).

Hayvan türlerinin hiperoksiye duyarlılığında farklılıklar bulunmaktadır. 1899 yılında James Lorrain Smith tarafından bu konuda yapılan çalışmada, bir hafta boyunca 0.4  $FIO_2$  soluyan farelerde toksisite oluşmadığı, 0.7-0.8  $FIO_2$ ' ye maruz bırakılan farelerin yarısının solunum yetmezliğinden öldüğü görülmüştür. Smith tarafından, 0.7  $FIO_2$ ' ye uzun süre maruz kalmanın, toksisite eşiğini büyük ölçüde temsil ettiği; 0.8  $FIO_2$  uygulaması ile oluşan toksik etkinin hayvanların vücut direncine göre değiştiği gösterilmiştir. Eksüdatif fazda, alveoler tip-1 hücrelerin ölümü, endotel

hücrelerinde şişme ve nekroz, interstisyel ödem ve alveollerin eksüdatif sıvı ile dolması; proliferatif fazda ise, endotel hücrelerinde ve tip II pnömositlerde proliferasyon ve bunların alveoler bazal membranı kaplaması gözlenir (60).

### **Sümfaktan deplesyonu (Salin lavajı)**

Akciğer sümfaktanı alveoler tip II hücrelerince (granüler pnömosit) sentezlenerek salgılanmakta ve alveol yüzey sıvısının önemli bir komponentini oluşturmaktadır. Protein ve fosfolipitlerin karışımından oluşan sümfaktan akciğer fonksiyonu için gereklidirler (61).

Sümfaktan, yüzey gerilimini düşürerek, alveoler alanların düşük akciğer volümünde kollabe olmasını önler. Sümfaktan proteinleri, sümfaktanı stabilize etmesinin yanı sıra, akciğerlerdeki immün savunmayı da modüle eder. Salin (tuzlu su) lavajı, alveoler yüzey sıvısında yer alan sümfaktan lipit konsantrasyonunda azalmaya sebep olur. Bunun sonucunda alveoler yüzey geriliminde değişim meydana gelir. Akciğer hasarı, polimorfonükleer lökosit (PMN) bağımlı olarak gelişir ve protein permeabilite artışı, interstisyum ve hava yolunda PMN infiltrasyonu, sitokin üretim artışı ve hyalin membran oluşumu ile karakterizedir (55, 62).

Sümfaktan deplesyon modeli, yetişkin domuz, koyun ve köpeklerde kullanılmaktadır. Bu model, 30 ila 40 mL / kg sıcak (37°C ila 38°C) izotonik serum fizyolojik solüsyonunun (%0,9 NaCl), sırtüstü yatış pozisyonunda olan veya akciğerlerinin 20 ile 30 cm yüksekliğine endotrakeal tüp yerleştirilen hayvana verilmesi ile oluşturulmaktadır. Bu prosedür, oluşturulmak istenen düzeyde akciğer hasarına ulaşılan kadar her 10 dakikada bir tekrarlanır (63, 64).

Alveoler epitel hasarı ve alveoler alanlara proteinden zengin ödem sıvısının eksüdasyonu, ALI/ARDS gelişiminde sümfaktan yapı bozukluğu oluşmasına neden olur. Salin lavajı uygulaması, alveoler epitelde önemli bir hasar oluşturmaz, sümfaktanın tükenmesine neden olur. Salin lavaj uygulamasına mekanik ventilasyon eklendiğinde epitel hasarı da gelişmektedir (64).

## **Akciğer iskemi reperfüzyonu**

Akciğer İ/R hasarı; hızlı gelişen oksidatif stres, pulmoner vasküler permeabilite artışı, ödem oluşumu, PMN infiltrasyonu, defektif gaz değişimi sonucunda endotel ve epitel yapının bozulması ve hemoraji ile karakterizedir (65).

Akciğerler pulmoner ve bronşiyal vasküler sistem ile kanlanmaktadır. Akciğerde iskemi pulmoner arterin klemplenmesi ile oluşturulmaktadır. Oluşan akciğer hasarı akciğerlerin iskemik dönemde sönük olması, bronşiyal ve pulmoner dolaşımın birlikte blokasyonu ile derinleşmektedir. Pulmoner arter yerine hilusun kapatılması halinde sirkülasyon durmaktadır (66).

Bir akciğerde İ/R hasarı oluştuğunda diğer akciğerde de inflamatuvar yanıt ile permeabilite değişikliği ve PMN infiltrasyonundan kaynaklanan hafif bir hasar gözlenmektedir. Akciğerlerde, reperfüzyon esnasında, doğal immün hücreler hızlıca aktive olmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinlerin ve deoksiadenozin monofosfatın (DAMP) salınımı direkt doku hasarını ve inflamasyonu azaltmaktadır (67).

İ/R hasarı sonuçları türler arasında farklılık göstermektedir Bu deney modeli tavşanlar başta olmak üzere sıçan, köpek, koyun, domuz, kedilerde kullanılmaktadır (55, 68).

### **2.4.2. İndirekt yöntemler**

#### **Akciğer dışı iskemi/reperfüzyonu**

Bu model ile oluşan akciğer hasarı, iskemiye uğratılan alana (karaciğer, böbrek, barsak, arka bacak), alanın büyüklüğüne, iskemi ve reperfüzyonun süresine bağlıdır. Genel olarak bu modelin oluşturulması için mezenter arter kullanılmaktadır. Büyük hayvanlarda en çok kullanılan damar süperior mezenter arterdir, farede ise arka bacak iskemisi kullanılmaktadır (69, 70).

Kemirgen modellerinde atravmatik vasküler klempleme ile geçici olarak dolaşımın engellenmesi veya süperior mezenter arterin (SMA) kalıcı vasküler oklüzyonu (ligasyonla) ile intestinal iskemi hasarı oluşturulmaktadır. İskemi sonrası doku reperfüzyona uğratılmaktadır (71, 72).

Bu uygulamaya bağlı olarak hayvanda gelişen sistemik yanıt, kardiyak outputta azalma, hipotansiyon, metabolik asidoz, PMN aktivasyonu, mononükleer

hücre ve nötrofil infiltrasyonu, proteinöz alveoler eksuda ve vasküler tıkanıklık ile interstisyel hücrelerde yaygın artış şeklinde gelişmektedir (73).

Bu model daha çok sıçan ve farelerde kullanılmaktadır, ancak tavşan ve koyun çalışmaları da bulunmaktadır. Mezenter İ/R sonrasında uzak organ hasarı görülmektedir. Uzak organ hasarının meydana geldiği organlardan biri de akciğerdir. Akciğer hasarı bu modelde sirküle eden PMN'lere bağlıdır ve ayrıca akciğer hasarında proteinöz alveoler eksuda gözlenmektedir. Mezenter arterde oluşturulan iskeminin süresi, uzak organlarda meydana gelecek hasarın şiddetini etkilemektedir. Meydana gelen akciğer hasarı insanda gelişen akciğer hasarına benzediğinden bu model sıklıkla kullanılmaktadır (70, 73).

### **İntravenöz bakteri**

Bu model intravenöz yoldan peritona veya akciğerlere canlı bakteri (*Escherichia coli*, *klebsiella* vb.) enjeksiyonuyla sepsis oluşturulmasına imkan sağlamaktadır (74).

İntravenöz bakteri uygulaması, devamlı infüzyon veya bolus şeklinde yapılmaktadır. Bakteri uygulaması sonrasında bir saat içinde hipotansiyon ve lökopeni görülmekte, ardından septik şok, intravasküler koagülasyon ve ölüm meydana gelebilmektedir. Hayvan hayatta kalır ise devam eden 1-3 saat içinde kısa süreli bir hemodinamik stabilizasyon fazı meydana gelmektedir. Bu fazın ardından akciğerlerde PMN sekestrasyon, pulmoner mikrovasküler permeabilite artışı, interstisyel ödem, şant fraksiyonu ve pulmoner arter basıncında artış, intravasküler trombozun eşlik ettiği mikrovasküler hasar oluşmaktadır. Alveol epiteli intravenöz bakterilere dirençli olsa da bakteriyel tutunmanın yüksek olması halinde nötrofilik alveolit veya intra-alveoler ödeme rastlanmaktadır. Bakteri uygulaması ARDS'ye benzer olarak epitel ve hiyalin membran hasarına neden olmaktadır (75, 76, 77).

Bu model akciğer hasarı oluşturulması için kemirgen veya koyunlara tercih edilen modeller arasında yer almaktadır (78, 79).



## **Çekal ligasyon ve bağlama (CLP)**

İnsanlarda gelişen bakteriyal enfeksiyon ve akut peritonit tablosunu oluşturmak amacıyla çekal ligasyon ve perforasyon modeli (CLP) sıklıkla kullanılmaktadır. Modelin mortalitesi ve şiddeti, çekal ligasyon sayısı ve iğne çapına bağlı olarak kronik peritoneal enfeksiyondan letal septik şoka kadar değişiklik göstermektedir (41).

CLP uygulamasında çekum bağlanarak bir iğne ile 3-5 kez delinmekte ve abdominal insizyon kapatılmaktadır. Hasarın şiddeti çekumdaki delik sayısına ve deliklerin oluşturulması için kullanılan iğnenin büyüklüğüne bağlı olmaktadır. CLP uygulaması peritonite neden olmakta ve hayvan, progresif bir şekilde lökopenik hale gelmektedir. Epitel dokuda permeabilite artmakta ve alveolar boşlukta PMN birikimi, nötrofilik inflamasyon, kardiyak output ve kan basıncında artış, pulmoner hipertansiyon ve hipoksemi gözlenmektedir. 18 ila 72 saat içinde akciğerlerde geçirgenlik artmakta ve alveolar duvar kalınlaşmaktadır. İntersitisyel ve alveolar açıklıklarda nötrofil birikimi görülmektedir (80, 81).

CLP uygulaması sonucunda gelişen hasar farklılık gösterebilmektedir. Bunun nedeni kolon florasında bulunan bakteri florasının çeşitliliğidir. CLP uygulaması sepsis ve organ hasarının iyi bir şekilde modellenmesini sağlamaktadır. Dezavantajı major cerrahi gereksinimidir (82, 83).

## **Oleik asit**

Memelilerde en sık bulunan serbest yağ asidi oleik asittir (OA). Ayrıca, uzun kemik travması geçirmiş hastalardaki pulmoner embolide gözlenen total yağ asitlerinin yaklaşık %50'sinde OA yer almaktadır. OA'nın deneysel modellerde artan serbest yağ asidi düzeyine bağlı olarak akciğer hasarı oluşturduğu ve ARDS'yi indüklediği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda ARDS hastalarından alınan plazma ve bronkoalveoler lavaj sıvısı analiz edildiğinde yüksek OA seviyesi görülmektedir (84).

OA ile oluşturulan deney modeli, ALI ve ARDS'nin gelişme mekanizmalarını incelemek ve yeni tedavi yöntemleri üzerinde çalışmak için sıklıkla kullanılan bir modeldir. OA, genellikle etanol ile çözüldükten sonra periferik veya santral venden uygulanmaktadır. Ayrıca, direkt olarak sağ atriyum ya da pulmoner artere de uygulama yapılabilmektedir. Oleik asit uygulamasından 5 dakika sonra ilk lezyonlar

görülmektedir. Maksimum akciğer hasarı 12. saatte elde edilmekte ve 24. saate doğru bu etki azalmaktadır (64, 85, 86).

Oleik asit (OA) uygulaması, lipid embolisini taklit ederek endotel toksisitesine neden olmaktadır. Bu nedenle, OA'nın intravenöz yolla verilmesinden kısa bir süre sonra pulmoner vasküler endotel hücrelerinde hasar oluşmaktadır. Ardından inflamasyon ve akciğer hasarı gelişmektedir. OA, endotel geçirgenliğini arttırmakta ve alveolokapiller membran yapısı bozulmasına neden olmaktadır. Bununla beraber, intraalveoler ve interstisyel sıvı artışı, hemoraji, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, oksidan enzimlerin aktivasyonu, sitokin salınımı, adezyon molekülleri ve reaktif oksijen ürünlerinin salınımı meydana gelmektedir (87) .

Tekrarlayan OA dozları neticesinde ise fibrozis oluşumu görülmektedir. Akut faz nekroz ve mikrovasküler trombozisle karakterizedir. Bunu tip II hücrelerin proliferasyonu ve subplevral alanlarda fibrotik odakların geliştiği tamir fazı takip etmektedir. Hasar nötrofilik infiltrasyona bağlı olarak meydana gelmemektedir. Hasar oluşumunda endotel hasarı kritik rol oynamaktadır (48, 88).

### **2.4.3. Kombinasyon yöntemleri**

Sinerjik etkileri nedeniyle mekanik ventilasyon sonrasında sürfaktan deplesyonu (salin lavajı) uygulaması, CLP uygulamasının ardından hemoraji gelişimi, intraperitoneal LPS uygulamasını takiben intravenöz OA uygulaması akut akciğer hasarı oluşturulması için kullanılan kombine yöntemlerdir (47, 89).

Benzer şekilde, intravenöz LPS uygulaması ve beraberinde mekanik ventilasyon, kompleks transkripsiyon yollarının aktivasyonu ve orta tidal hacimde akciğer inflamasyonu üzerinde sinerjik etki oluşturmaktadır. Direkt pulmoner etkilere ek olarak, mekanik ventilasyon ve intravenöz LPS, çoklu organ yetmezliğinin patogenezi ile ilgili olan sistemik organ disfonksiyonuna da neden olmaktadır (43).

Akut akciğer hasarı modellerinin sistemik etkileri ve akciğer üzerine etkileri konusunda avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Deney modeli seçilirken bu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır (90).

## 2.5. Mezenter İskemi/Reperfüzyonu

Oksidatif ve apoptotik mekanizmalar vasıtasıyla gelişen İ/R kaynaklı doku hasarı, akut böbrek hasarı, travma, miyokard infarktüsü, iskemik inme, akciğer hasarı, dolaşım arresti, orak hücre hastalığı ve uyku apnesi dahil olmak üzere çok çeşitli patolojilerde morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. İskemiye uğrayan organda gözlemlenen metabolik olaylardaki dengesizlik, derin doku hipoksisine ve mikrovasküler fonksiyonlarda bozukluğa neden olmaktadır. İskeminin uzun sürmesi mortalite oranını arttırmaktadır (91).

Mezenter arterde meydana gelen iskemi, erken teşhisi ve tedavisi güç bir hastalıktır. İskemi sonrası gelişen reperfüzyon hasarından, serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan oksidatif hasar sorumlu tutulmaktadır. Reperfüzyon, doğal veya adaptif immün yanıt ile hücre ölüm pogramlarının aktivasyonunu daha da şiddetlendirmektedir. Bu durum reperfüzyon hasarı olarak tanımlanmaktadır (92; 93).

Barsak, tüm iç organlar arasında İ/R hasarına karşı en hassas organdır. Barsak İ/R, genellikle akut mezenter iskemi, travma, kardiyopulmoner resusitasyon, serebrovasküler infarkt, organ transplantasyonları, hemorajik şok, trombolitik tedavi, ciddi yanıklar, abdominal aort anevrizması cerrahisi, vasküler cerrahi dahil bazı cerrahi işlemlerde ortaya çıkan ciddi bir klinik olaydır (94, 95).

Akut mezenter iskemi (AMİ); iskemi, hücresel hasar veya intestinal nekroza bağlı olarak ince bağırsağın bir bölümüne kan akımının aniden durması şeklinde tanımlanabilmektedir. AMİ, mezenter arter embolisi (%50), mezenter arter trombozu (%15-25) veya mezenter venöz tromboz (%5-15) olarak gelişmektedir. Tedavi edilmediği takdirde hastanın ölümüne yol açan AMİ'nin görülme sıklığı düşüktür. Acil servislere, nedeni bilinmeyen abdominal ağrı kaynaklı başvuruların % 0.09 - % 0.2'sini oluşturmaktadır. İskeminin uzun sürmesi % 50-80 oranındaki yüksek ölüm oranlarının azaltılması için hızlı tanı ve müdahale önem arz etmektedir. AMİ, özellikle çoklu komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda en sık görülen morbid bir hastalık sürecidir (96). AMİ, arteriyel embolizm, arteriyel tromboz, mezenter venöz tromboz (MVT) ve mezenter arteriyel vazokonstriksiyon veya düşük kardiyak out-puta bağlı hipoperfüzyon gibi tıkaçıcı olmayan nedenler ile oluşabilmektedir (3).

Süperior mezenter arter embolisi (SMA) en sık görülenidir. Mezenter iskemi riski yüksek olan hastalarda genellikle atriyal fibrilasyon, dilate kardiyomiyopati, aritmi ve kapak hastalığı gibi emboliden kaynaklanan kardiyak nedenler

görülmektedir. Bu hastaların yaklaşık üçte birinin bir embolik olay bir geçmişi bulunmaktadır. Prognozun düşük olması sadece tanının geç konmasına bağlı olmayıp, yandaş hastalıklar ve bağırsak iskemisinin lokal ve sistemik etkilerinin mortalite oranlarını arttırmasından kaynaklanmaktadır. İskeminin süresi, mezenter arter tıkanmasının seviyesi ve kolleteral akımın oranı akut arteriyel tıkanma sonrası bağırsak hasarını belirleyen etkenlerdir. Elli yaş üstü hastalarda, kardiovasküler hastalık ile birlikte açıklanamayan karın ağrısı varlığında mezenter iskemiden şüphelenilmelidir (97).

Kronik mezenter iskemi (KMİ), 1918 yılında Goodman tarafından abdominal anjina olarak adlandırılmıştır. Birçok nedene bağlı olarak gelişebilen KMİ vakalarının %95'i difüze aterosklerotik hastalıklar ile ilişkilidir. Diğer etiyojiler ise fibromusküler displazi, vaskülit, Takayasu arteriti, malignite, kokain bağımlılığı ve radyasyon kaynaklıdır. Sigara kullanımı, hipertansiyon, diabetes mellitus ve hiperkolesterolemi arteroskleroz gelişimine zemin hazırladığından KMİ için de risk faktörü haline gelmektedir. Spesifik belirtilerin yokluğu veya sessiz seyir nedeniyle hastalık sıklıkla ilerleyen aşamalarda teşhis edilebilmektedir. Bu hastalarda en sık görülen semptom; sabit, difüze, lokalize olmayan veya periumblikal abdominal ağrı olmaktadır. KMİ hastalarında postprandiyal ağrı, mide bulantısı ve kilo kaybı görülmektedir (98, 99).

Mezenter arterlerdeki İ/R sonrasında mukozal bariyer fonksiyonunun bozulmasına bağlı gelişen mukozal ve vasküler permeabilite artışı, bakteriyel translokasyon ve sistemik inflamatuvar cevap, akut vasküler yetmezlik ve çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır. Bağırsak dokusunun yanı sıra mezenter İ/R sonrasında çeşitli inflamatuvar ve oksidatif mediyatörlerin salınarak dolaşıma katılması ile uzak organ hasarı gelişmektedir. ALI ve ARDS, mezenter İ/R'ye bağlı olarak gelişen komplikasyonlar arasında yer almaktadır. Dolayısıyla mezenter İ/R'ye bağlı gelişen uzak organ hasarlarından biri de akciğerde meydana gelen hasardır (100).

Bağırsak dokusuna kan akımının uzun süre sağlanamaması birçok işlevsel bozukluğa sebep olmaktadır. ATP'nin tükenmesi iskemik hasarı oluşturmaktadır. İskemiye uğramış olan dokulara kan akımının yeniden sağlanması hasarın ileri boyutlara ulaşmasını engellemektedir (101). İskeminin süre ve şiddetine bağlı olarak hücre ölümü meydana gelebilmektedir (97).

İ/R hasarı bir çok mekanizmanın fizyopatolojisinde temel rol oynamakta olup, akut mezenter arter tıkanması ve hemodinamik şok gibi durumlardan sonra meydana gelebilmektedir (102). Mezenter İ/R'ye bağlı oluşan lezyonlar ince barsak nakli sırasında da görülebilmektedir (103). Mezenter arterlerdeki İ/R sonrasında akut vasküler yetmezlik ve çoklu organ yetmezliği gelişebilmektedir ve bu durumlar morbidite ve mortalite oranlarını artırmaktadır (104).

### **2.5.1. Mezenter iskemi/reperfüzyon hasarı ve patofizyolojik mekanizmaları**

Abdominal aortun majör dalları olan çölyak trunkus, süperior mezenter arter ve inferior mezenter arter, sindirim kanalında özofagus proksimali ve rektum distali hariç olmak üzere kan dolaşımını sağlamaktadır (105).

Mezenter dolaşım, intrinsek, nörolojik ve humoral kontrol mekanizmaları ile kontrol edilmektedir.

- a) İntrensik kontrol: Doku oksijenasyon değişiklikleri veya barsaklardaki duvar basıncı değişikliklerine yanıt olarak dokuda yeterli kan akımı ve oksijen ihtiyacını karşılamaya yönelik kontrol mekanizmasıdır.
- b) Nörolojik kontrol: Şok vb. durumlarda hayati organlardaki kan akımını artırmak amacıyla, splanknik sinirler aracılığıyla iletilen sempatik uyarı ile mezenter arterde vazokonstriksiyon oluşmakta ve barsaklardaki kan akımı azalmaktadır.
- c) Humoral kontrol: Mezenter dolaşım, kan yoluyla gelen endojen ve ekzojen vazoaaktif maddelerin etkisiyle artmakta veya azalmaktadır. Anjiotensin-II, vazopresin, prostaglandin-F<sub>2</sub>, somatostatin, alfa adrenerjik ajanlar vazokonstriksiyon yaparken, prostaglandin-E<sub>1</sub>, kolesistokinin, gastrin, glukagon ve beta adrenerjik ajanlar vazodilasyona neden olmaktadır. Bu kontrol mekanizmaları ile kan akımının düzenlenmesi sağlanmaktadır (106, 107).

Mezenter arter gibi pek çok dokuda iskemi gelişimi sonrasında hücre enzim aktivitelerinin, mitokondriyal fonksiyonun, hücresel yapının, membran transportunun ve antioksidan savunma sisteminin değişime uğradığı görülmektedir. Splanchnik dolaşım; gastrointestinal kanal, dalak, pankreas ve karaciğer kan

dolaşımından oluşturmaktadır. Splanknik dolaşımdaki kan akımı ortalama 1500 ml/dakikadır. Splanknik dolaşıma, yaklaşık olarak dinlenme halinde % 25 olmak üzere, postprandiyal kardiyak outputun % 35'i ulaşmaktadır. Mezenter kan akımının %70'i ise bağırsağın mukozal ve submukozal tabakalarını beslemekte, kalan kısmı ise muskuler ve serozal tabakalara kaynak sağlamaktadır. Hipoperfüzyon durumlarında oksijen ihtiyacının karşılanması ve mukozal bütünlüğün korunması için barsak kan akımının otoregülasyonunda splanknik dolaşım önem kazanmaktadır (108).

İskemik doku hasarı, dokuya giden kan akımının azalması ve oksijen yetersizliği ile başlamaktadır. Reperfüzyon ile birlikte hasarlanmış dokuların yeniden oksijenasyonu ile artarak devam etmektedir. İskeminin uzun sürdüğü durumlarda, hücrede ATP seviyesi azalmakta ve intraselüler pH değeri düşmektedir. Hücrelerdeki mitokondriyal ATP üretiminin azalması, anaerobik metabolizmanın hızlanmasına, laktat birikimine ve hücre içi asidoza sebep olmaktadır (109).

ATP'nin azalması ile birlikte ATP bağımlı  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  iyon pompaları yavaşlamakta ve hücre içi hidrojen artışı meydana gelmektedir. ATP bağımlı olmayan  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  pompası, artan hidrojen yükünü dengelemek için hücre içi kalsiyum miktarında artış sağlamaktadır. Meydana gelen kalsiyum artışı sitozolik proteazların aktive olmasına neden olmaktadır. İntraselüler proteazların aktif hale gelmesi ve dokuların reperfüzyon sonucunda oksijenasyonu sonucunda hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS) ile peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) gibi reaktif nitrojen türlerinin (RNS) salınımını sağlayan yolları hızlanmaktadır. Ortamda serbest radikallerin artışından kaynaklı gelişen inflamasyon, bu alana inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlar. Polimorf çekirdekli lökositler gibi endotelial hücreler başta olmak üzere inflamatuvar hücreler arasındaki etkileşimler, birçok sitokin salınmasına ve iskeminin yol açtığı hasarın reperfüzyonla genişlemesine yol açmaktadır (110).

İskemi sırasında oksijenasyonun azalması, oksidatif fosforilasyonu bozmakta ve tüm hücrelerin enerji kaynağını oluşturan ATP'nin ve aynı zamanda fosfokreatinin sentezini azaltmaktadır. İskemi halinde ATP, sırasıyla AMP, adenozin, inozin ve son olarak hipoksantine yıkılmaktadır (111).

İskemiye uğrayan dokularda ve hücrelerde ATP depolarının boşalması sonucunda hücre zarında yer alan iyon pompaları işlevlerini kaybetmektedir. Bu durumda, normal çalışma durumunun tersine potasyum ve magnezyum iyonları hücre içine girmekte, sodyum ve kalsiyum iyonları hücre dışına çıkmaktadır. Suyun

da hücre içine difüzyonuyla birlikte hücre deplazmolize uğramaktadır. Kalsiyumun hücre içindeki artışı kalsiyum bağımlı proteinazları aktive etmektedir. Ksantin dehidrojenaz enziminin, ksantin oksidaza dönüşümü bu enzimler tarafından sağlanmaktadır. Dokulara reperfüzyon sonrasında ulaşan oksijen, hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla önce ksantine, ardından ürik aside dönüşmesine neden olmaktadır. Bu dönüşüm esnasında ürün olarak reaktif oksijen türlerinden biri olan süperoksit anyonu oluşmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda açığa çıkan süperoksit anyonu, süperoksit dismutaz aracılığıyla hidrojen peroksit, ardından katalaz enzimi aracılığıyla suya dönüşmektedir. İ/R'nin meydana gelmesi ile ksantin oksidaz varlığında süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit antioksidan kapasiteyi aşarak ortamda temizlenemedi kalmaktadır. Ortamda biriken hidrojen peroksitin, Fe<sup>+2</sup> gibi metaller veya süperoksit radikalleri ile reaksiyona girmesi sonucunda, güçlü hidroksil radikali oluşmaktadır. Bahsi geçen olaylar sonucunda reaktif oksijen radikallerinin miktarındaki artışın, hücre membranlarındaki lipit yapılarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirdiği yapılan çalışmalarda görülmüştür (109, 112, 113).

Mezenter endotel hücrelerinde diğer hücrelerde de olduğu gibi iskemi nedeniyle sitokin (IL-1, IL-6, TNF-Alfa, INF gamma vb.), lökosit adezyon molekülü gibi proinflamatuvar gen ürünleri, endotelin, tromboksan A2 gibi biyoaktif bileşiklerin sentezinin arttığı, yapısal nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz-2 gibi bazı enzimlerin ve nitrik oksit, prostasiklin gibi bazı enzimlerin ürünlerinin azaldığı görülmektedir. İskemiden kaynaklanan bu proinflamatuvar durum doku hasarını daha da şiddetlendirmektedir. Doku hasarının geri dönüşsüz hale gelmesini önlemek için iskemiye uğrayan dokuya kan akımı yeniden sağlanmalıdır (109).

İskemiye uğrayan bir dokunun reperfüzyonu, iskemi hasarından daha büyük bir hasar meydana getirebilmektedir. Oksijen paradoksuna göre süresi ve yoğunluğuna bağlı olarak dokuların yeniden oksijenlenmesi dokuda oluşan hasarı daha da şiddetlendiren bir durumdur (114). Ancak; Blikslager ve ark.nın yapmış oldukları bir çalışmada, domuzlarda mezenter iskemi oluşturulduğunda kan akımının azalmasına bağlı olarak ksantin oksidaz-ksantin dehidrojenaz seviyesinin düştüğü ve reperfüzyon hasarının bu sebeple intestinal hasarda önemli bir rol oynamadığı gösterilmiştir. Bu durumun insanlarda da aynı şekilde olabileceği sonucuna varılmıştır (115).

Schoenberg ve ark.nın yapmış oldukları bir çalışmada, reperfüzyon sırasında oksijen radikalleri ve fosfolipaz A2 aktivasyonunun, intestinal iskemi sonrasında

hemorajik mukozal lezyonların gelişimini sağladığı görülmüştür. Radikal süpürücü maddeler ve fosfolipaz A2 inhibitörlerinin reperfüzyondan önce iskemi tedavisi boyunca kullanıldığında, bağırsakta oluşan reperfüzyon hasarını önleyebileceği kanısına varılmıştır (93, 116).

## 2.6. Apoptoz

Uzun yıllardır fizyolojik olarak oluşan hücre ölümü bilinmesine rağmen, “apoptosis” terimi ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie adındaki patologlar tarafından kullanılmıştır (117). Yayınladıkları bir makalede morfolojik açıdan nekrozdan farklı özelliklere sahip, daha önce tanımlanmamış bir hücre ölüm şekline bahsetmişler ve bu olaya apoptozis adını vermişlerdir. Yunancada ‘apo’ =ayrı, ‘ptosis’ =düşen anlamındadır. Apoptozis, hücrelerin düzenlenmesini sağlayan mitoz olayının aksine genetik olarak kontrol edilen ve programlı hücre ölümü olarak tanımlanmıştır (118).

1983 yılında Duke ve arkadaşları, jel elektroforezi ile apoptozda endonükleazların aktive olarak DNA kırıklarına neden olduğunu göstermiştir. Böylece apoptotik hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiştir. Bu tarihten sonra apoptoz ile ilgili çalışmalar hızlı bir şekilde artmıştır (117).

Apoptoz esnasında, komşu hücrelere hasar verilmeden, olumsuz yönde etkilemeden ve iz bırakmadan hedeflenen hücre yok edilmektedir. Apoptoza uğrayan hücreler organizma için gerekli olmayan, biyolojik misyonunu tamamlamış veya hasara uğramış olan hücrelerdir (119).

Apoptozisin temel işlevi ve amaçları şunlardır:

- Embriyo gelişimi, başkalaşım (metamorfoz) ve doku atrofisi sırasında olduğu gibi hücre gelişimi esnasında organizmaya, bir heykeltıraş titizliğinde şekil verilmektedir.
- Organizmanın toplam hücre sayısı düzenlenmektedir.
- Tümör hücreleri, virüsle kontamine olmuş hücreler, kendi başına buyruk hale gelen, kendine zarar veren ve hatta otoimmün hastalıklara yol açabilecek olan immün hücreler gibi istenmeyen ve tehlikeli hücreler ortadan kaldırılmakta ve bu hücrelere karşı savunma mekanizması oluşturulmaktadır (120).

-



Apoptozisi etkileyen hücre içi ve hücre dışı sinyaller ile diğer etkenler aşağıda belirtilmiştir;

1. Hücre içi sinyaller: Hipoksi, hücre içi kalsiyum düzeyi artışı, onarılamaz DNA hasarı, pH'nın azalması, hücre siklusunda bozulma, hücre metabolizmasında anormallikler.
2. Hücre dışı sinyaller: Hücre ölümünü inhibe eden veya hücre sağ kalımını arttıran hücre dışı moleküllerin kaybı, büyüme ve üreme faktörlerinin yetersizliği, bağırsak endoteli gibi dokularda proliferen olan labil hücre kaybı, akut inflamasyon sonrası nötrofillerin ölümü, Ölüm ligandları (Fas ligandı vb.), sitokinlerin çekilmesi sonrasında T ve B lenfositlerin ölümü, Graft-versus-host gibi T hücrelerinin konak dokusunu reddi reaksiyonları.
3. Diğer etkenler: Besin eksikliği, kimyasallar, radyasyon tedavisi, ısı, glukokortikoidler, serbest radikaller, viral enfeksiyonlar ve bakteriyel toksinler, kemoterapi ilaçları vb. (121, 122).

Apoptoz mekanizmaları, enerji bağımlı bir dizi moleküler olay zincirini içeren çok karmaşık bir olaydır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar ekstrensek yol ve intrinsek (mitokondriyal) yol olmak üzere iki ana apoptotik yolun olduğunu göstermektedir (123).

### **Ekstrensek Yol**

Kaspaz, apoptoz protein inhibitörü, B hücreli lenfoma (Bcl) -2 gen ailesi, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör geni ailesi gibi farklı gen aileleri veya p53 geni apoptoz sürecinde yer almaktadır (124). Hücre dışı uyarılar (ısı, hipoksi, hücre yaşlanması, kemoterapi, radyasyon gibi ajanlar vb.), büyüme faktörleri ve yaşam sinyallerinin azlığı ve sitotoksik T lenfositler aracılığıyla tetiklenen ölüm reseptörleri ekstrensek yolağa aracılık etmektedir. Ekstrensek yol, apoptozisin tetiklenmesini sağlayan ve hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen tümör nekrozis faktör reseptörü-1 (TNFR-1) ve Fas ölüm reseptörleri ile bu reseptörlerin ilgili ligandları etkileşime girmesi sonucu uyarılmasıyla indüklenmektedir. Hücre dışına bakan yüzü sistenince zengin olan bu reseptörlerin, apoptotik sinyal için gerekli ölüm bölgesi ise hücre içine bakan kısımlarında bulunmaktadır. Ölüm reseptörleri TNF-R1 (CD120a), CD95(APO-1/Fas), DR3 (APO-3, LARD, TRAMP, WSL1), TRAIL-R1 (APO-2, DR4), TRAIL-R2 (DR5, KILLER, TRICK2) ve DR6 olarak sıralanmaktadır. Apoptotik yolağı

stimule eden başlıca ligandlar TNF- $\alpha$ , Fas ve TRAIL'dır. Bu ligandların ölüm reseptörüne bağlanması sonucu aktive olan Kaspaz-8 diğer kaspazları indüklemekte ve hücre ölümüne yol açan olaylar dizisini başlatmış olmaktadır. TNFR-1 ve Fas ölüm reseptörleri, sitoplazmadaki TRADD (TNFR-1 associated death domain) ve FADD (Fas associated death domain) ölüm bölgelerini hedefleyerek protein etkileşimine yol açmaktadır. Prokaspaz-8, TRADD ve FADD tarafından aktive ederek kaspazların kaskad şeklinde ilerleyen aktivasyonlarını başlatmaktadır. Kaspaz 8 aktive olduktan sonra, kaspaz 3, 6 ve 7'yi aktive etmektedir. Aynı zamanda apoptoz başlatıcı özelliğe sahip aktif kaspaz 8, sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması için Bcl-2 proteinini Bid ve onun terminal bölgesine ayırarak aktifleştirmektedir. Akabinde mitokondri membranına Bid ve tBid'in translokasyonu gerçekleşmekte ve mitokondri membranında porlar açılmaktadır. Bid, sitokrom c, farklı yapıdaki proteinler ve Ca<sup>2+</sup> bu açılan porlardan mitokondriden sitoplazmaya serbestleşmektedir. Bu sırada oluşan apoptozom kaspaz-9'u aktifleştirmekte, kaspaz-9 ise prokaspaz-3'ü parçalayarak aktif kaspaz-3'ün oluşmasını sağlamaktadır. Aktif kaspaz-3 de kaspaz-6 ve kaspaz-7'yi aktive etmektedir. Bunun sonucunda ekstrensek yol, intrensek yolu (mitokondriyal yolu) da aynı zamanda aktif hale getirmiş olmaktadır (123-127).

### **İntrensek Yol**

DNA hasarı, sitotoksik stres, hücre içi pH'sında azalma, kalsiyum seviyesindeki artış vb. çeşitli hücre içi ölüm sinyalleri intrensek yolağı aktive etmektedir. Hücrenin apoptozise uğraması sürecini başlatan apoptotik uyarılar, mitokondrinin dış membran bütünlüğünü kaybetmesine ve membranın geçirgen hale gelmesine neden olmaktadır. Normalde hücreler arası alanda yer alan başta Sitokrom-c olmak üzere pro-apoptotik proteinler membranda açılan porlardan sitoplazmaya serbestleşmektedir. Sitokrom C, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan apoptotik proteaz aktive eden faktöre (APAF-1) bağlanarak apoptozom adı verilen yapıyı oluşturmaktadır. Apoptozom kaspaz-9'u aktive etmekte ve kaspaz-9 da efektör kaspazlar arasında yer alan prokaspaz-3'ün aktivasyonunu sağlamakta, kromatin kondensasyonu ve oligonükleozomal DNA fragmantasyonu ile gelişen apoptozun oluşmasını sağlamaktadır (126).

Kaspazlar apoptozis esnasında önemli rol oynayan sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Kaspazlar genellikle inaktif proenzimler olarak sitoplazmada

bulunmaktadır. Sağlıklı hücrelerde buldukları inaktif ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zincir olarak yer alabilmektedirler. Kaspazların aktif katalitik bölgelerinde sistein yer almakta olup substratlarını aspartat bulunan özel bir bölgeden kesmektedirler. Hücrelerde genellikle inaktif proenzim formunda bulunmakta ve apoptozisin aktive edilmesinde önemli bir rol üstlenmektedirler. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığıyla, iç sinyaller ise mitokondri aracılığı ile prokaspazları aktive etmektedir. Aktive olan prokaspazlar, zincirleme olarak proteaz kaskadının başlamasını sağlayan diğer kaspazları aktive etmektedir. Bu proteolitik kaspaz zinciri bir kaspazın bir diğerini aktive etmesi ile devam etmektedir ve apoptotik sinyal yolağını arttırarak hücrelerin hızla ölümüne neden olmaktadır. Sitokrom-c'nin sitoplazmaya salıverilmesinin prokaspaz-9'un aktivasyonu ile kaspaz kaskadını başlatmaktadır. Benzer şekilde kaspazlar da sitokrom-c'nin salıverilmesini sağlayarak kaskadın başlamasına sebep olabilmektedir. (121, 123, 125).

20'den fazla değişik türü tanımlanan kaspazların en büyük 10 türü aşağıda etkilerine göre gruplanarak gösterilmiştir (126, 127).

- Apoptoz ateşleyiciler: Kaspaz-2, Kaspaz-8, Kaspaz-9, Kaspaz-10
- Apoptoz bitiriciler (executioner): Kaspaz-3, Kaspaz-6, Kaspaz-7
- İnflamatuvar mediyatörler: Kaspaz-1, Kaspaz-4, Kaspaz-5

Hücrelerin apoptoza uğraması talimatını veren belirli sinyaller alındıktan sonra, hücrede bir dizi farklı değişiklik meydana gelmektedir. Kaspazların bahsedildiği üzere apoptoziste rolü büyüktür. Öncelikli olarak inaktif proteinler olarak sentezlenen bu proteolitik enzimler, hem intrinsek hem de ekstrinsek yol ile gelişen apoptozisin erken aşamalarında aktive edilmekte, hücresel hedeflerdeki tetrapeptit motifleri tanımakta ve mevcut substratı, bir karboksil tarafından ayırmaktadır. Bu protein ailesi, hücre iskeletindeki yapısal proteinler ve DNA onarım enzimleri de dahil olmak üzere normal hücresel fonksiyon için gerekli olan bileşenlerin parçalanmasını sağlamaktadır. Kaspazlar, aynı zamanda, çekirdekteki DNA'yı parçalayan DNAazlar gibi diğer enzimleri de aktive etmektedir. Hücre ölümü sırasında meydana gelen pek çok hücresel ve şekilsel değişimler, bu enzimlerin rol oynadığı birtakım süreçler neticesinde gelişmektedir. İntrinsek ve ekstrinsek yol farketmeksizin başlatıcı enzimler olan kaspaz 8 ve 9 aktive olduklarında hücrede ölüm süreci başlamakta ve bu sürecin geriye dönüşü olmamaktadır. Kaspaz 8 veya 9'un aktivasyonunu, bitirici (executioner) enzimler olan kaspaz 3 ve 6'nın aktive olması izlemektedir. Bitirici kaspaz enzimleri birçok hücre komponentini etkilemektedir. Bu enzimler nükleer

matriks ve sitoskeletal proteinleri parçalayarak sitoskeletal ve nükleer yıkıma yol açmaktadır. Ayrıca bitirici kaspazlar transkripsiyon, DNA replikasyon ve DNA onarımı ile ilgili proteinleri parçalamakta ve kaspaz-3 ise özellikle sitoplazmik DNAaz enzimini aktive ederek sarmalda ayrışmalara sebep olmaktadır (127, 128).

Apoptotik hücreler, apoptoz boyunca belirgin morfoloji göstermektedir. Apoptoz süresince hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Kalsiyum iyonları; endonükleaz, proteaz ve transglutaminaz aktivasyonunda, gen regülasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol almaktadır. Apoptoz uyarısı alan hücre bulunduğu ortamdaki uzaklaşarak, komşu hücrelerle bağlantısını koparıp büzüşmektedir. Tipik olarak hücre, hücre iskeletinde lamin ve aktin filamentlerin ayrılmasından sonra küçülmeye başlamaktadır. Kromatin yoğunlaşmakta ve çoğu durumda apoptotik hücrelerin çekirdekleri “at nalı” benzeri bir görünüm almaktadır. DNA nükleozom kısmından kesilerek tipik merdiven bant haline gelmektedir. Bu sırada hücre organelleri yapısal bütünlüklerini korumaktadır. Hücre zarı yapısında bulunan fosfatidil serin hücre zarının iç yüzünden dış yüzüne geçiş yapmaktadır. Hücre çekirdeği küçülerek parçalara, hücre ise zarla sarılı tomurcuklar halinde koparak apoptotik cisimciklere ayrılmaktadır. Apoptotik cisimcikler, makrofajlar tarafından tanınarak fagosite edilmektedir. Makrofajların bu cisimleri fagosite etmesini indüklemek amacıyla apoptotik hücrelerin membranlarında değişiklik gözlenmektedir. Bu değişiklik, fosfatidil serinin hücrenin iç kısmından dış yüzeye translokasyonu ile meydana gelmektedir (129, 130).

İntrensek ve ekstrinsek yol dışında perforin / granzim yolağı adı verilen farklı bir hücre ölüm mekanizması bulunmaktadır. Bu yolak hücrenin apoptoza uğramasını granzim A ya da granzim B yolaklarından biri ile indükleyebilmektedir. Her bir yolağın, enerji bağımlı moleküler olay dizisini başlatması için spesifik tetikleme sinyali gerekmektedir. Her bir yol, kendi başlatıcı kaspazını (8, 9, 10), onlar da bitirici olan kaspaz-3'ü aktive etmektedir. Granzim A ise, kaspazdan bağımsız olarak çalışmaktadır. Uygulama yolu, hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, sitoplazmik kabarcıklar ve apoptotik cisimlerin oluşumu ve son olarak bitişik parankimal hücreler, neoplastik hücreler veya makrofajlar tarafından apoptotik cisimlerin fagositozu gibi karakteristik sitomorfolojik özellikler ile sonuçlanmaktadır. Perforin/granzim yolaklarının birbirine bağlı olduğuna ve bir yoldaki moleküllerin diğerini etkileyebileceğine dair kanıtlar da bulunmaktadır. Perforin / granzim yolağı, ya granzim B ya da granzim A yoluyla apoptosisi indükleyebilmektedir. Bu yolak kaspaz-

3'ün bölünmesiyle başlamaktadır. Granzim A yolu, tek iplikçikli DNA hasarı yoluyla paralel, kaspazdan bağımsız bir hücre ölüm yolunu aktive etmektedir (129-131).

Apoptozis, çok hücreli organizmalarda ve birçok hastalığın tedavisinde homeostazi koruyarak sağkalımda önemli bir rol oynamaktadır. Çünkü bu mekanizmanın hatalı çalışması kanser, nörodejeneratif ve aynı zamanda birçok otoimmün hastalık tipi gibi çeşitli insan hastalıklarına neden olabilmektedir. Halen, kanserli hücreler gibi hedef hücrelerin apoptozisini indükleyerek belirli hastalıklara karşı farmakolojik olarak oldukça etkili olan çok sayıda sentetik ve doğal bileşikler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (132).

## 2.7. Nekroz

Nekroz; apoptoz ve otofaji gibi hücre ölüm şekillerinden biri olmasına karşın fizyolojik ve histolojik olarak farklı özelliklere sahip olan ve genellikle kontrolsüz olarak meydana gelen bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Nekroz patolojik bir olaydır. Apoptoz ise fizyolojik veya patolojik uyaranlarla oluşmaktadır (133).

Nekroz; iskemi, travma ve nörodejenerasyon oluşumunda önemli bir yere sahiptir. Nekroz oluşumunda, sinyal sonrası veya hasara bağlı gelişen lezyonlardan sonra mitokondriyal disfonksiyon, ROS gelişimi, ATP'nin tükenmesi, endojen proteazlar olan kalpainler ve katepsinler tarafından oluşturulan proteoliz ve erken plazma membran rüptürü gibi süreçler gözlenmektedir. Apoptoz ve otofajiyi regüle eden spesifik protein inhibisyonu hücre ölüm türünü nekroza çevirebilmektedir (134).

Rastgele gelişen ve genler tarafından kontrol edilemeyen kontrolsüz bir süreç olan nekroz, minimum enerji gereksinimine sahip olması ve herhangi bir homeostatik mekanizma tarafından düzenlenmemesi sebebiyle pasif bir işlem olarak kabul edilmektedir. Nekrotik hücre ölümü genellikle hipoksi, iskemi, hipoglisemi, toksin maruziyeti, reaktif oksijen metabolitlerine maruz kalma, aşırı sıcaklık değişiklikleri ve besin yoksunluğu gibi fizyolojik koşullardaki ciddi değişikliklere cevap olarak meydana gelmektedir. Bu maddelere maruziyet sonucunda hücre membranının geçirgenliğinin artması, hücre ve organellerin parçalanarak hücre içeriğinin intraselüler alana salınması süreci gerçekleşmektedir (135, 136).

Nekroz sırasında mitokondriyal ROS üretiminin arttığı, nonapoptotik proteazların aktive olduğu, ATP üretiminin azaldığı ve  $Ca^{+2}$  kanallarının açıldığı görülmektedir. Dışarıdan gelen fiziksel ve kimyasal uyarılar hücrenin iyon dengesinin

bozulmasını sağlamaktadır. NAD<sup>+</sup>, DNA tamirinden sorumlu hücresel enzim PARP (Poli ADP-riboz polimeraz) tarafından ikiye bölünmekte ve NAD kaybına neden olmaktadır. Bu durumda ortamda oluşan ATP noksanlığı iyon pompası yetersizliğine yol açmaktadır. Böylece hücre sıvı almakta ve organeller şişmektedir. Plazma membran bütünlüğü bozulmakta, osmotik basınçtan dolayı hücre patlayarak ölmektedir. Hücre ölümü sonrasında, hücre içeriğinin intraselüler boşluğa salınması yangıya (inflamasyon, iltihaplanma) sebep olmaktadır. Bu olayın karakteristik özelliği makrofaj ve nötrofillerin nekrotik dokuya göç etmesidir. Göç eden bu hücreler nekrotik dokuyu fagosite etmektedir. Bu nedenle inflamasyon nekrozun önemli bir işareti olarak değerlendirilmektedir (135, 137).

Apoptozis ve nekroz arasındaki farklar aşağıda belirtilmiştir:

- Nekroz fizyolojik bir ölüm şekliken apoptoz fizyolojik ve patolojik koşullara bağı olarak gelişebilmektedir.
- Apoptozda inflamasyonda oluşmazken nekrozda inflamasyon meydana gelmektedir.
- Apoptotik hücrelerde hücre membranı sağlamken nekrotik hücrelerde membran bütünlüğü kaybolmaktadır.
- Apoptotik hücrede küçülen kromatin paterni nekrozda hemen hemen normaldir fakat hücre şişmektedir.
- Apoptoziste hücrelerde kromatin nükleus membranının çevresinde konumlanmakta ve bu alanda yoğunlaşmaktadır. DNA'nın internükleozomal alanlarda 180 kb çiftinin katları olacak şekilde kırılması apoptozun en önemli özelliğidir. Nekrozda DNA rastgele parçalanmaktadır.
- Nekrotik hücreler sürecin tamamlanmasından sonra lizise uğramakta, apoptotik hücreler ise küçük cisimciklere parçalanmaktadır.
- Nekrozda ATP gerekmez, apoptoziste ATP gerekmektedir.
- Nekrozda iyon hemostazı bozulmaktadır. Apoptoziste bu süreç iyi ve kontrollüdür (117, 119, 127, 134, 137).

## 2.8. Kannabinoidler

*Cannabis* türlerinin en çok bilinen üç türü *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* ve *Cannabis ruderalis*'dir. *Cannabis* türü bitkilerden elde edilen maddelerin psikoaktif etkileri ve tıbbi amaçla kullanımı M.Ö. 4000 yıllarına kadar dayanmaktadır. Kannabinoid, *Cannabis* bitkisinden elde edilen bir grup aromatik hidrokarbon bileşiklerine verilen ortak isimdir. *Cannabis sativa*'dan türetilen en yaygın bileşikler, tetrahidrokannabinoid ( $\Delta^9$ -THC) ve kannabidiol (CB)'dür (138).

Kannabinoidler fitokannabinoidler, sentetik kannabinoidler ve endokannabinoidler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (139, 140, 141, 142).

a) Fitokannabinoidler ve analogları: *Cannabis sativa*'dan elde edilen doğal kimyasal bileşiklerdir. Bunlar;

- Tetrahidrokannabinoid ( $\Delta^9$ -THC)
- Kannabivarin (CBV)
- Kannabidiol (CB)
- Kannabigerol (CBG)
- Kannabişromene (CBC)
- Kannabisiklol(CBL)
- Kannabiyelsoyin (CBE)
- Kannabinol (CBN)
- Kannabinodiyol (CBL)
- Kannabitriyol (CBTL)
- Ajulemik asit

b) Sentetik Kannabinoidler: Endokannabinoid sistemi üzerinde etki oluşturan, fitokannabinoid veya endokannabinoidlerin doğal yollarla elde edilemeyen yapısal analoglarıdır. Bunlar;

- Klasik sentetik kannabinoidler: (-) HU-210, Nabilone, (+) HU-221,  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^8$ -THC and desacetyl-Lnantradol, JWH-133, JWH-139, HU-308, L-759633, L-759656
- Klasik olmayan sentetik kannabinoidler: WIN 55, 212-2, CP55940, CP55244, CP47497

- Aminoalkindiol: R-(+)-WIN55212, JWH-015, L-768242
  - Eikozanoidler: Methanandamid, araşidonil-2-kloroetilamid (ACEA), araşidonilsiklopropilamid (ACPA).
  - Diğerleri: SR141716A, SR144528
- c) Endojen Kannabinoidler (Endokannabinoidler): Canlı organizmalar tarafından üretilen ve endokannabinoid sistem üzerinde etki oluşturan kimyasal bileşiklerdir. Bunlar;

- Anandamid (AEA)
- 2- Araşidonil gliserol (2-AG)
- 2- Araşidonil gliserol eter
- O-Araşidonil ethanolamin
- N-Araşidonil dopamin

Kannabis ve bitki ekstrelerinin, keyif verici etkilerinin yanı sıra gastrointestinal hastalıkların semptomlarını hafiflettiği, aynı zamanda iştahın açılmasını sağladığı da yüzyıllardır bilinmektedir. *Cannabis* türlerinde 100'den fazla kannabinoid bulunmaktadır. *Cannabisin* içerdiği kimyasal kannabinoid varyasyonları bitkinin genetik yapısına, yetiştirilme koşullarına ve iklime göre değişkenlik göstermektedir. 1964 yılında Gaoni ve Mechoulam tarafından tetrahidrokannabinol ( $\Delta^9$ -THC) izole edilerek en büyük psikoaktif bileşen olduğu keşfedilmiştir. Bu çalışma kannabisin etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Yaklaşık 30 yıl sonra, CB1 ve CB2 reseptörlerinin tanımlanmasıyla THC'nin hücrel mekanizması aydınlatılmıştır (143).

Kannabinoidlerin ağrı, inflamasyon, epilepsi, uyku bozuklukları, multiple skleroz, Parkinson hastalığı, anoreksi, şizofreni, migren, spinal kord hasarı, glokom, kemoterapi sonrası gelişen bulantı ve kusma tedavisi gibi bir dizi klinik durum üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Kannabinoidlerin oral biyoyararlanımlarının düşük olması nedeniyle bahsi geçen endikasyonlarda kullanılmak üzere transdermal, intranazal ve transmukozal yoldan uygulamaya uygun ilaç formlarının geliştirilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda, kannabinoidlerin yüksek lipofilik yapıya sahip olması, çeşitli yollardan uygulanabilen nano boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemler için uygun adaylar olduğunu göstermektedir (144, 145, 146, 147).



### 2.8.1. Kannabinoidlerin etki mekanizmaları

Kannabinoid reseptörlerinin kannabinoid reseptörü tip-1 (CB1) ve kannabinoid reseptörü tip-2 (CB2) reseptörleri olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır. Bu reseptörler, G-protein bağlı 7-transmembran içeren (GPCRs) reseptörlerdir. CB1 reseptörleri beyin, spinal kord ve periferik sinir sisteminde, pre ve post sinaptik hücre membranlarında yer almaktadır. CB1 beyinde en çok bazal gangliyonlar, hipokampus de dahil limbik sistemde bulunmaktadır. CB1 reseptörleri hafızanın regülasyonu, kognoz, hareket kontrolünden sorumludur. İmmün fonksiyonlarla ilişkili periferik dokularda yer alan CB2 reseptörlerinin ise immünmodulator etkisi bulunmaktadır. Aynı zamanda CB2 reseptörleri inflamasyonun inhibisyonunu sağlamaktadır. CB2 reseptörü aktive edilerek, immün sistem ve inflamasyon tedavisinde yeni terapötik hedef potansiyelleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (148, 149).

İnhibitör G proteinlerine bağlanan CB1 ve CB1 reseptörleri, cAMP ile negatif kenetlenerek üretimini inhibe etmekte ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) kaskadını aktive etmektedir. Ayrıca, CB1 reseptörü içeriye doğrultucu K<sup>+</sup> kanallarına pozitif, L-/N-/P-/Q- tip Ca<sup>2+</sup> kanallarına negatif olarak bağlanmaktadır. Bunun yanı sıra kannabinoidlerin kendi reseptörleri haricinde TRPV1, GPR55, GPR119, PPARs gibi reseptörleri de aktive edebildikleri gösterilmiştir (150, 151, 152, 153, 154). CB1 ve CB2 reseptörleri agonist ve antagonistlerine ilişkin bilgiler Tablo 7’de yer almaktadır (155).

AEA’nın temel moleküler hedefi CB1 ve CB2 kannabinoid reseptörleridir. Bu reseptörler, farklı sinyal yollarını aktive ederek AEA kaynaklı biyolojik aktivitenin oluşmasına aracılık etmektedirler. Aynı zamanda AEA’nın adenilat siklaz bağımlı G-proteini inhibisyonu aracılığıyla CB1 reseptörlerinde THC’ye benzer etkiler ürettiği de bilinmektedir (156, 157).

CB1 reseptörü hem  $\gamma$ -aminobütirik asiti (GABA) inhibe eden nöronlar hem de glutamaterjik nöronlar üzerinde yoğun olarak konumlanmaktadır. Bulunduğu bölgeye bağlı olarak, CB1’in aktivasyonu sonucunda nörotransmitterlerin salıverilmesini baskılanacağından beyin üzerinde uyarıcı veya inhibe edici bir etki meydana gelebilmektedir (147). CB1 reseptörleri, serebral korteks, hipokampus, substantia nigra, serebellum gibi beyin, santral ve periferik sinir sistemine ilişkin alanlarda yoğunlukla bulunmasının yanı sıra kalp, akciğer, prostat, vas deferens, böbrek, böbreküstü bezleri, timus bezi, tonsiller, kemik iliği, dalak, küçük intestine gibi

periferdeki organlarda da bulunmaktadır. Bu durum kannabinoidlerin özellikle obezite, diyabet, kanser gibi patofizyolojik durumların tedavisinde hedef olabileceğini göstermektedir (158, 159).

CB2 reseptörleri ise Cnr2 geni tarafından kodlanmaktadır. CB2, beyindeki mikrogliya da dahil olmak üzere immün modüle edici hücrelerde yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. CB2 reseptörleri, sitokin salınımı ve immün hücre göçünün modülasyonunu sağlamaktadır. İnsanlarda, CB2'nin iki izoformu tanımlanmıştır. Birinin baskın olarak testiste ve düşük oranda beynin ödül bölgesinde; diğerinin ise çoğunlukla dalakta ve düşük düzeyde beyinde yer aldığı bilinmektedir (160).

CB2 reseptörlerinin immünmodülatör etki oluşturmadaki rolü üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, bu çalışmalardan biri de respiratuvar sinsitiyal virüs (RSV) aracılı meydana gelen akut solunum yolu enfeksiyonunda CB2 reseptörlerinin aktive edilmesi ile IL-10, IFN- $\gamma$  ve MIP-1 $\alpha$  salınımının arttığı ve MAPK yolağı aktive olduğunun, dolayısıyla antiinflamatuvar yanıt ve immünoşüpresif etki oluştuğunun gösterildiği çalışmadır (161). Yapılan farklı bir çalışmada ise CB2'nin RhoA aktivasyonunu kontrol altına alarak aşırı inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde ve nötrofil göçünün baskılanmasında rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır (162).

Kannabinoidlerin proinflamatuvar sitokinlerin ve inflamatuvar prostaglandinlerin salınımını azaltarak solunum yolları üzerinde anti-inflamatuvar aktivite gösterdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, kannabinoidlerin antioksidan özelliğe sahip olduğu, bunu reaktif oksijen türlerinin oluşumunda yer alan NADPH oksidazı inhibe ederek yaptıkları; ayrıca serbest radikal reaksiyonları sırasında fazla nitrik oksit salınımını azaltarak lipid peroksidasyon ürünlerini ortamdan uzaklaştırdıkları gösterilmektedir (163, 164).

Son zamanlarda kannabinoidlerin kanser tedavisindeki rolü hakkında çalışmalar yapılmaktadır. Kanser tedavisinde kannabinoid kullanımındaki en büyük keşif, kannabinoidlerin hedefe yönelik olarak tümörleri yok etme kabiliyetinin olmasıdır. Bazı prelinik çalışmalar  $\Delta^9$ -THC, sentetik kannabinoid agonistleri ve endokannabinoidlerin, in vitro olarak akciğer karsinomu, gliomalar, tiroid epiteliyoması, lenfoma, cilt karsinomu, uterin karsinomu, meme kanseri, prostat karsinomu, pankreas karsinomu ve nöroblastom üzerinde anti-kanser etkisine sahip olduğunu göstermektedir (141).

**Tablo 7.** Kannabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistleri (141, 155)

	Selektif CB1 Reseptör Agonistleri	O – 1812 2 – Araşidonil gliserol eter Metananandamid Araşidonil 2-kloroetil anandamid (ACEA) AM251 AM281
Kannabinoid Reseptör Agonistleri	Selektif CB2 Reseptör Agonistleri	JWH015 JWH133 JWH139 AM1241 HU-308
	Non-selektif CB1/CB2 Reseptör Agonistleri	HU-210 CP-55,940 R-(+)-WIN 55,212-2 CP55940
Kannabinoid Reseptör Antagonistleri	Selektif CB1 Reseptör Antagonistleri	SR141716A AM251 AM281 LY320135
	Selektif CB2 Reseptör Antagonistleri	SR144528 AM630

Günümüzde onaylanmış üç kannabinoid ilaç kullanılmaktadır. Dronabinol (Marinol®) ve nabilon (Cesamet®) etken maddelerini içeren iki sentetik ilaç Amerika İlaç ve Gıda Ajansı (FDA) tarafından onaylanmıştır. CB ve THC'nin 1:1 oranındaki kombinasyonundan oluşan (Sativex®) bitki ekstresi ise multipl skleroza bağlı spastisite, nöropatik ağrı ve kanser ağrısı tedavisi için İngiltere, Yeni Zelanda, Kanada ve Avrupa'da kullanılmaktadır. Bu ilaçların onaylanmış endikasyonları; dronabinol ve nabilon için kanser kemoterapisine eşlik eden bulantı ve kusma; dronabinol için ek olarak Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AİDS) hastalarında kilo kaybına eşlik eden anoreksiyadır (165, 166).

Rimonabant ise selektif CB1 reseptör antagonistidir. Rimonabant içeren Acomplia® ve Zimulti® adlı müstahzarlar obezite tedavisinde kullanılmak üzere İlaç ve Gıda Ajansı (FDA) ve Avrupa Birliği Tıbbi Ürünler Değerlendirme Ajansı

(EMA) tarafından 2006 yılında onay verilmesine karşın psikiyatrik etkileri nedeniyle geri çekilmiştir (167).

### 2.8.2. Endokannabinoid sistem

İlk olarak 1990'ların ortalarında CB1 ve CB2 reseptörlerinin keşfedilmesinden sonra bu reseptörlere bağlanan ve membran lipidlerini oluşturan yağ asitleri çevresinde bulunan endojen ligandların olduğu gösterilmiş ve "Endokannabinoid" terimi ortaya konmuştur. Daha sonraannabinoid reseptörleri, endojen ligandlar ve ligandların biyosentezinden ve inaktivasyonundan sorumlu enzimleri içeren bir sistem olduğu fark edilerek endokannabinoid sistem tanımlanmıştır (168, 169)

Devane ve ark. tarafından yapılan çalışmada araşidonik asit türeviden olan AEA domuz beyininden izole edilmiş ve AEA'nınannabinoid reseptörleri için endojen bir ligand olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla AEA, ilk keşfedilen endokannabinoid olmuştur (170). Mechoulam ve ark. tarafından yapılan çalışma sonucunda ise ilk kez köpek bağırsağından izole edilen ve endojen ligand olma özelliği taşıyan bir diğer molekül 2-araşidonil gliserol (2-AG) bulunmuştur (171).

Endokannabinoidler, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, amit, ester ve eter içeren lipid yapılı sinyal mediyatörleridir. Sinaptik aralığa salıverilmeden önce tipik olarak veziküllerde tutulan nörotransmitter moleküllerin aksine, endokannabinoidler plazma zarı içinde sentezlenmektedir. Serbest bırakıldıktan sonra, ters yönde hareket ederekannabinoid reseptörlerinin aktivasyonu ile presinaptik nörotransmitter salınımını geçici olarak baskılamaktadırlar (118).

Son yıllarda en çok üzerinde durulan konulardan biri endokannabinoid sistemin modülasyonudur. Endokannabinoidlerin biyosentez ve degradasyonundan sorumlu enzimlerin bulunması,annabinoidlerle ilgili önemli gelişmelerin olabileceğinin göstergesi olarak düşünülmektedir. AEA ve 2-AG bilinen en önemli endokannabinoidlerdir. AEA, araşidonik asit ve etanolamine; 2-araşidonilgliserol (2-AG) ise araşidonik asit ve gliserole dönüşmektedir. Bu dönüşümler sırasıyla, yağ aside amid hidrolaz (FAAH) ve monoaçilgliserol lipaz (MAGL) enzimleri aracılığıyla olmaktadır (172, 173). Bu enzimlerin inhibisyonu veyaannabinoid reseptör agonistleri aracılığıyla endokannabinoid tonusunun artırılması sağlanarak pek çok hastalık modelinde yeni tedavi hedefleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (166).

### 2.8.2.1. Endokannabinoidlerin biyosentezi ve salımı

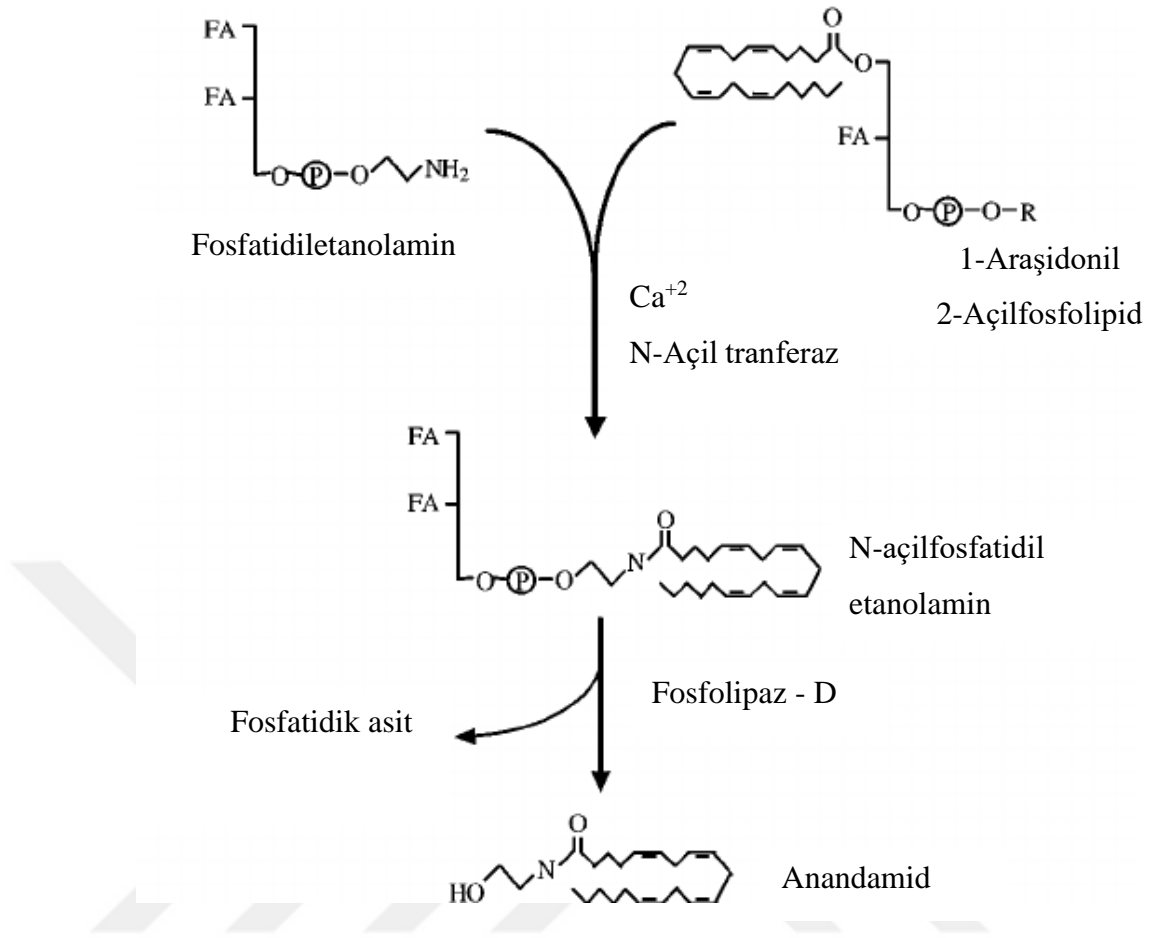
AEA'nın biyosentezi postsinaptik nöronal depolarizasyon ve hücre içine  $Ca^{+2}$  girişi ile başlamaktadır. Hücre içine  $Ca^{+2}$  girişi ile N-açıl transferaz enzimi aktive olmaktadır. İn-vivo koşullarda; membran fosfolipid prekürsörü olan N-araşidonil fosfotidiletanolaminin (NAPE), N-açıl transferaz ve NAPE-Spesifik Fosfolipaz-D (NAPE-PLD) enzimleri tarafından iki basamaklı bir reaksiyon ile enzimatik düzeyde katalize edilmesi sonucunda AEA oluşmaktadır (174).

2-AG'nin biyosentezi ise membran fosfolipidlerinden oluşan diaçilgliserolün (DAG) oluşumunun ardından, diaçilgliserolün diaçilgliserol lipaz (DAGL) enzimiyle hidrolize edilmesi veya 2-araşidonil-lizofosfolipidin fosfolipaz-A1 ile yıkımı sonucunda meydana gelmektedir (175, 176).

Anandamid ve 2-AG yüksek oranda lipofilik yapıya sahip olduğundan biyosentez edildikten ve salıverildikten sonra depolanmaları, diğer dokulara dağılmaları mümkün olmamaktadır. Endokannabinoidler, enzimatik mekanizmalar, membran depolarizasyonu, hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, reseptörlerin uyarılması aşamalarından sonra membran fosfolipidlerinin yıkımı neticesinde Şekil -1'de de şematik olarak gösterildiği üzere sentez edilmektedir (177).

Endokannabinoidler nörotransmitterlerden farklı olarak sentezlendikten sonra vezikül içinde saklanmayıp, CB1 ve CB2 reseptörlerinin uyarılması sonucunda membran fosfolipidlerinin yıkımı sonucu sentezlenmektedir. Ayrıca endokannabinoidler post-sinaptik terminallerde sentezlendikten sonra pre-sinaptik terminallerde yer alan reseptörler aracılığıyla nöromodülatör etki göstermekte ve sinyal iletimini ters yönde sağlamaktadır (178, 179, 180).

Santral sinir sisteminde, endokannabinoidler post-sinaptik hücrelerden salıverilirler ve etkilerini pre-sinaptik uçta gösterirler. Presinaptik uçta CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden klasik nörotransmitterlerin salıverilmesini etkilerler. Periferde sinaptik aralık değişen boyutlardadır. Endokannabinoidlerin sinaptik aralıkta kalış süreleri çok kısa olduğu için post-sinaptik hücrelerden yani düz kas hücrelerinden salıverilip presinaptik uçta etki göstermesi çok mümkün görülmemektedir. Periferde endokannabinoidlerin pre-sinaptik uçtan salıverildikleri ve etkilerini hemen bu uçta gösterdikleri düşünülmektedir. Ayrıca endotel hücrelerinden de salıverildikleri ve nörotransmitter salıverilmesini lokal olarak modüle ettikleri düşünülmektedir (36).



**Şekil 1.** Anandamidin biyosentez yolağı. Hücre içi kalsiyumdaki artış, araşidonik asidin bir N-asilfosfolipidin, fosfatidiletanolamin amin formuna transferini tetikler. Daha sonra Fosfolipaz D, anandamid sentezi için distal fosfodiester bağımlı ayırır (181).

#### 2.8.2.2. Endokannabinoidlerin uptake ve yıkım mekanizmaları

Endokannabinoidler depolanmadığından ihtiyaç halinde sentezlenip, gereksinim ortadan kalktığında yıkılmaktadır. Sentez edilen endokannabinoidlerin hücre membranı dışına taşınması, hücre içine alınması ve hücre içinden salınması olayları endokannabinoid membran taşıyıcı proteinleri aracılığıyla olmaktadır. Hücre içine geri alım (re-uptake) sonrasında endokannabinoidler enzimler aracılığıyla inaktive olmaktadır. Endokannabinoidlerin taşınmasına ilişkin mekanizmalar henüz net olarak açıklanmamıştır (182, 183).

AEA, yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilmektedir. FAAH enzimi serebellum, hipokampus ve amigdalada postsinaptik terminallerde bulunmaktadır (172).

MAGL, 2-AG'yi araşidonik asit ve gliserole hidrolize eden serin hidrolaz yapılı bir enzimdir. MAGL enzimi presinaptik akson terminallerinde ve GABAerjik ara nöronlarda yer almaktadır. Endokannabinoid sistemde MAGL, CB1 ve CB2 reseptör ligandı olan 2-AG'yi hidrolize etmekle sorumludur. MAGL beyin, karaciğer, akciğer gibi bazı dokularda 2-AG'yi hidrolize ederek proinflamatuvar eikozanoidlerin sentezi için araşidonik asit salımını sağlamaktadır. Nomura ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Parkinson fare modeli üzerinde, beyinde MAGL'nin nöroinflamatuvar prostaglandinler için araşidonat havuzu oluşturmak üzere 2-AG'yi yıkıldığı da gösterilmiştir. Bu durum MAGL'nin inflamatuvar yanıtta rol oynadığını göstermektedir (184, 185).

### 2.8.2.3. Endokannabinoid sistemin fizyolojik ve patofizyolojik durumlarda rolü

Endokannabinoid sistem birçok fizyolojik olayda rol oynamaktadır. Gastrointestinal sistemde, mide hareketliliği, salgı, hassasiyet, kusma, tokluk ve inflamasyon dahil olmak üzere metabolik olayda yer almaktadır. Özellikle, beyin ve bağırsakta endokannabinoidlerin düzeyi tokluk, ishal, kusma ve inflamasyon koşullarında değişmektedir. Vagal afferentlerde bulunan CB1 reseptörleri, tokluk durumunda, kolesistokinin ve açlık hormonu olarak bilinen ghrelin gibi barsak peptidleri tarafından baskılanmaktadır. Bağırsakların motor fonksiyonu ve kusma beyin sapında bulunan endokannabinoidler tarafından CB1, CB2 ve TRPV reseptörleri aracılığıyla düzenlenmektedir. Endokannabinoid sistem viseral duyu modülasyonu ve gastrointestinal sistem fonksiyonları üzerine stresin etkilerinin azalmasını sağlamaktadır (186).

Endokannabinoid sistem, vücuttaki enerji dengesinin sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Açlık ya da oruç halinde, AEA ve 2-AG seviyeleri limbik sistem ve daha az belirgin bir şekilde hipotalamusta artmaktadır. Artan AEA ve 2-AG ile CB1'in aktive edilmesi ile gıda alım ihtiyacı oluşmakta, mezolimbik ödül sistemi ve hipotalamusun iştah kontrol yolu aracılığıyla enerji metabolizmasını etkilemektedir (187). Dolayısıyla aşırı aktif bir CB1 reseptör sinyali, insülin direnci ve dislipidemi gelişimini teşvik etmektedir. CB1 reseptörünün inaktive edilmesi ile plazma insülin ve

leptin düzeyi azalmaktadır. Bu durum endokannabinod sistemin obezite ve metabolik bozuklukların tedavisinde önemli bir farmakoterapötik hedef olduğunu göstermektedir (188, 189).

Endokannabinoidler sinaptik fonksiyonların kilit modölatörleridir. Santral sinir sisteminde yer alan kanabinoid reseptörlerinin aktivasyonu sonucunda bu lipid haberciler çeşitli sinir fonksiyonlarını ve davranışlarını düzenleyebilmektedir. Endokannabinoid sistem norepinefrin ve kortizol gibi stres kaynaklı nörotransmitterlerin salınımını düzenlemektedir. Bu nörotransmitterlerin salınımı hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini aktive etmekte ve stres kaynaklı ruh hali, biliş ve aktivasyon değişikliklerine neden olmaktadır (190, 191).

Beyin, spinal kord, periferik sinir sisteminin normal fonksiyonlarının yerine getirilmesinde endokannabinoid sistem belirgin bir role sahip olmaktadır. Aynı zamanda bu sistem nörolojik rahatsızlıklara da sebep olabilmektedir. Endokannabinoid sistemin aşırı aktivasyonu bazal gangliyadaki dopaminerjik tonun azaltarak Parkinson hastalığının patofizyolojisine katkı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra multipl skleroz, nöbet bozuklukları, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, amyotrofik lateral skleroz ve şizofreni gibi psikiyatrik hastalıklar ile endokannabinoid sistem arasında etkileşim olduğu bilinmektedir (147, 192, 193).

Beyin ve barsakta 2-AG'nin bazal düzeyi oldukça yüksek olmasına rağmen kanabinoid reseptörlerini aktive etmemektedir. Bu alanda 2-AG havuzu olduğu ve bu havuzda yer alan endokannabinoidin sinyal molekülü olarak görev aldığı ve hücre fonksiyonları üzerinde etkisinin olduğu düşünülmektedir. 2-AG için biyosentetik enzim aktivitesi ve dağılımı henüz anlaşılamamıştır (186).

Toplumda oldukça yaygın şekilde görülen ve analjezikler ile tedavi edilen kronik ağrı üzerine endokannabinoid sistemin etkileri bulunmaktadır. Endokannabinoid sistem endojen bir ağrı kontrol sistemidir (194).

Endokannabinoidler, kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde minimal düzeyde rol oynamaktadır, ancak bu durum kardiyovasküler hastalık halinde değişebilmektedir. Şok tablosunda, kan dolaşımına endokannabinoidler CB1 reseptörlerini aktive ederek hipotansiyona aracılık etmektedir. CB1 reseptörünün aktivasyonu vazodilatasyon ve kardiyak kasılmaya yardımcı olmaktadır. CB1 ve CB2'nin kardiyoprotektif etkisinin olması muhtemeldir. Endokannabinoidlerin aterosklerozun ilerlemesi üzerinde pozitif (CB2) ve negatif etkileri (CB1) bulunmaktadır. İnme gibi nörovasküler bozukluklarda, endokannabinoidler CB1,



CB2, TRPV1 ve PPAR $\alpha$ 'yı aktive ederek koruyucu etki göstermektedir. Bu kanıtlar, endokannabinoidlerin bir dizi kardiyovasküler bozuklukta faydalı olabileceğini göstermektedir (195, 196).

Yusifzade ve ark.nın yapmış oldukları bir çalışma sonucunda, AEA'nın İ/R hasarı üzerine koruyucu etkisinin ince barsaklarda bulunan CB2 reseptörleri aracılığıyla olabileceği, CB2 reseptörlerinin stimülasyonu sonucunda nitrik oksit ve prostaglandinin aktive olması ile koruyucu etkinin ortaya çıkabileceği görülmüştür (24).

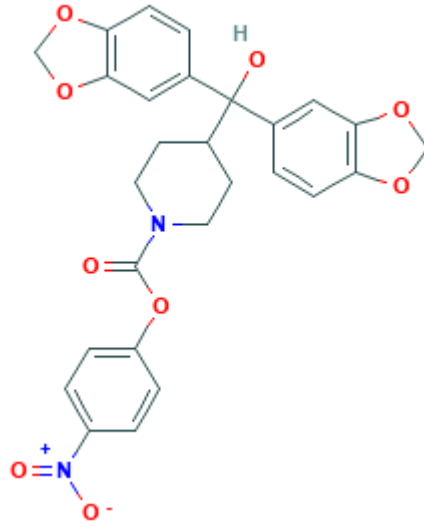
Endokannabinoidlerin, solunum yolunda meydana gelen epitel hasarı ve pulmoner lökositozu önemli ölçüde azalttığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, CB2 reseptör aktivasyonu, akciğer patolojisini hafifletmiş ve sitokin/kemokinlerin salınımını azaltmıştır (161). Xiong ve ark.larının yaptıkları çalışmada ise akciğer iskemisi öncesinde MAGL enzim inhibitörü kullanılarak 2-AG seviyesini artırılmasının AA, PGI2, TXB2, LTB4, IL-6, TNF-a düzeylerini azaltarak İ/R kaynaklı akciğer hasarı ve inflamasyonu üzerinde önemli ölçüde olumlu etki gösterdiği belirtilmiştir (197).

## **2.9. Deneyde Kullanılan Etken Maddeler**

### **2.9.1. JZL184**

JZL184, 2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizinden sorumlu bir enzim olan MAGL'nin selektif inhibitörüdür. JZL 184, fare beyin membranında MAGL ve yağ asidi amid hidrolazı güçlü ve selektif bir şekilde inhibe etmektedir. JZL 184, 16 mg / kg dozunda farelere intraperitoneal olarak uygulandığında, MAGL aktivitesini % 85 oranında azaltmakta ve beyinde 2-AG seviyesini 8 kat arttırmaktadır (198).

Moleküler formülü C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> olan JZL184 benzodioksol grubundadır ve 4-Nitrofenil 4-[bis(2H-1,3-benzodioksol-5-yl)(hidroksi)metil]piperidin-1-karboksilat şeklinde adlandırılmaktadır. Kimyasal yapısı Şekil – 2'de gösterilmektedir. JZL184, organik çözücüler (DMSO, dimetilformamid vb.) ile çözünmektedir (199, 200).



**Şekil 2.** JZL184 kimyasal yapısı (201).

2013 yılında Costola-de-Souza ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, JZL184'ün farelerde ALI hasarı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Farelerde LPS kaynaklı oluşturulan ALI'den önce periton içine verilen tek doz (16 mg / kg) JZL184 uygulanmıştır. JZL184'ün antiinflamatuvar etki gösterdiği görülmüştür. JZL184, ALI varlığında kandan akciğerlere ve kemik iliğinden kana olan lökosit göçü üzerine etki göstermiştir. LPS kaynaklı ALI modelinde JZL184'nin antiinflamatuvar etkisi CB1 ve CB2 reseptörleri aracılığıyla oluşmuştur. Bununla birlikte, bu yaklaşım doğrultusunda gösterilen akciğer hasarı ve enflamasyonu üzerindeki olumlu etki, ALI tedavisi gelişiminde bu tür uygulamaların potansiyelini ortaya koymaktadır (202).

Yapılan diğer çalışmalarda da elde edilen veriler, JLZ184'ün inflamatuvar komponent içeren hastalıklarda koruyucu ve terapötik etkisinin olduğunu ifade etmektedir. Ghosh ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, JLZ184'ün benzer şekilde CB1 ve CB2 reseptörlerini aktive ederek inflamasyon ve ağrıyı azalttığı gösterilmiştir (203). Aynı zamanda, JZL184'ün CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden trinitrobenzen sülfonik asidin indüklediği kolit ve LPS ile indüklenen akut akciğer hasarında inflamatuvar yanıtı azalttığı görülmüştür (204).

## 2.9.2. Kannabidiol

Yüzün üzerinde fitokannabinoid bileşiği içeren *Cannabis sativa* bitkisinin bileşenlerinden biri de psikotomimetik etki göstermeyen kannabidiol (CB)'dur. Kannabidiol non-selektif kannabinoid reseptör agonistidir. CB, anti-inflamatuvar, güçlü immünsüpresif, antioksidan, antidepresan, anksiyolitik, analjezik, antikonvülsan, kas gevşetici, nöroprotektif, anti-oksidan ve antipsikotik koruyucu etkilerinin yanı sıra epilepsi, alzheimer, parkinson ve multiple skleroz dahil olmak üzere bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere umut verici bir aday haline gelmiştir. CB'nin akut akciğer hasarı durumunda antiinflamatuvar etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (205, 206, 207).

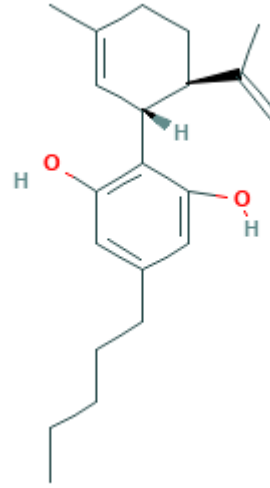
CB, beyin de dahil olmak üzere periferik ve merkezi sinir sistemi ile vücudun birçok bölgesinde bulunan endokannabinoid sistemde yer alan CB1 ve CB2 reseptörleri üzerine etki etmektedir. Spesifik olarak, CB'nin beyin ve omurilikte bulunan ağrı yollarında yer alan CB1 reseptörleri aracılığıyla analjezik ve anksiyolitik etki oluşturabileceği, immün sistemde yer alan CB2 reseptörleri aracılığıyla ise anti-inflamatuvar süreçleri etkileyebileceği düşünülmektedir.

Moleküler formülü  $C_{21}H_{30}O_2$  olan CB, siklohekzen yapısına sahiptir. 2-[(1R,6R)-3-metil-6-prop-1-en-2-yl-sikloheks-2-en-1-yl]-5-pentil-1,3-diol şeklinde adlandırılmaktadır. Kimyasal yapısı Şekil – 3'te gösterilmektedir (208).

CB'nin gösterdiği çok çeşitli etkilerin, karmaşık farmakolojik mekanizmalar sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. CB etkilerini CB1, CB2 veya TRPV1 reseptörleri üzerinden sağlamaktadır. CB1 ve CB2 reseptörlerine bağlanmasının yanı sıra CB'nin 5-HT1A serotonerjik ve TRPV1-2 vaniloid reseptörünü aktive ettiği, alfa-1 adrenerjik ve  $\mu$ -opioid reseptörlerini antagonize ettiği ve noradrenalin, dopamin, serotonin ve aminobütirik asitin sinaptik geri alımı ile anandamidin hücrel re-uptake mekanizmasını inhibe ettiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. CB bu etkilerini oluştururken, düşük voltajla aktive olan (T-tipi)  $Ca^{+2}$  kanallarını bloke etmekte, inhibe edici glisin reseptörü aktivitesini stimule etmekte ve FAAH aktivitesini inhibe etmektedir (209, 210).

CB, endoplazmik retikülümü (ER) uyarmakta, AKT / mTOR sinyalini inhibe etmektedir. Bu sayede otofajiyi aktive etmekte, apoptozu teşvik etmektedir. Ek olarak, CB apoptozun gelişimini hızlandıran reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu da arttırmaktadır. Aynı zamanda, CB, intraselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve doku

inhibitörü matriks metalloproteinaz-1 (TIMP1)'in regülasyonunu sağlamaktadır. CB, çeşitli sitotoksik ajanların kanser hücrelerine alımını artırabilen TRPV2'yi de aktive edebilmektedir. CB'nin analjezik etkisi, CB1 reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir (211).



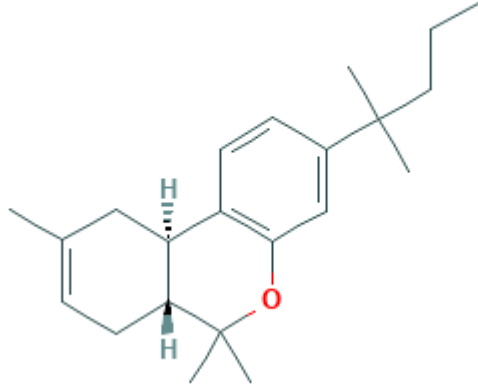
**Şekil 3.** Kannabidiol kimyasal yapısı (208)

### 2.9.3. JWH133

JWH133, CB2 selektif reseptör agonistidir. JWH133'ün akciğer üzerine etkileri konusunda çok fazla çalışma bulunmamasına karşın yapılan çalışmalarda CB2'nin JWH133 ile aktif hale getirilmesi ile pulmoner fibrozis üzerine olumlu etkileri olduğu ve akciğerde proinflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir (212).

(6AR,10AR)-3-(1,1-Dimetilbütül)-6A,7,10,10A-tetrahidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[B,D]piran şeklinde adlandırılan JWH133'ün moleküler formülü C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O'dur. Kimyasal yapısı Şekil – 4'te gösterilmektedir (213).

Miyokard İ/R hasarına karşı CB2 reseptör agonistlerinin etkileri konusunda yapılan bir çalışmada, JWH133'ün miyokard İ/R hasarına karşı antiapoptotik etkisini olduğu gösterilmiştir. CB2 reseptörün JWH133 ile aktive edilmesi sonucunda, intrinsek mitokondri aracılı apoptotik yolağın ve PI3K / Akt sinyal yolunun inhibe olmuştur. Bu sayede JWH133, İ/R sırasında apoptozu önlemiştir (214).



**Şekil 4.** JWH133 Kimyasal yapısı (213).

Farklı bir çalışmada ise yaygın olarak kullanılan bir herbisit olan paraquat aracılı oluşturulan akciğer hasarı modelinde, sıçanlarda CB2 reseptörü aktivasyonunun paraquat ile indüklenen proinflamatuvar aktiviteyi iyileştirme üzerine etkileri araştırılmıştır. Paraquat aracılı akciğer hasarı oluşturulmadan önce intraperitoneal JWH133 uygulaması yapılmıştır. Deney sonucunda akciğer ödeminin hafiflediği, MAPK ve nükleer transkripsiyon faktörü NF-  $\kappa$  B yolaklarının aktivasyonunun baskılandığı ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu inhibe ettiği, dolayısıyla JWH133'ün paraquat kaynaklı akut akciğer hasarının hafifletilmesinde önemli etkileri olduğu görülmüştür (215).

Yapılan bu çalışmalar JWH133'ün CB2 reseptör aktivasyonu sayesinde akut akciğer hasarı üzerine olumlu etkiler olabileceğini göstermektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyler, 250-280 gram (g) ağırlığında, erkek Wistar albino sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Bülent Ecevit Üniversitesi (BEÜ) Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden alınan sıçanlar rastgele ve eşit sayıda (n=8) olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Sıçanlar 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortam ile sağlanan düzende, oda sıcaklığında (22°C) ve standart laboratuvar koşullarında tutulmuştur.

Hayvanlar üzerinde yapılan uygulamalar ve protokoller için, "Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan" onay alınmıştır (Ek 8.1.). Çalışma etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (US National Institute of Health, revised 1985).

#### 3.1. Mezenter İskemi/Reperfüzyon Modeli

Akut akciğer hasarı oluşturulmak üzere indirekt yöntemlerden biri olan mezenter İ/R deney modeli seçilmiştir. Süperior Mezenter Arter (SMA)'de 30 dakika iskemi, 24 saat reperfüzyon gerçekleştirilmiş ve doku hasarı oluşturulmuştur.

İ/R patoloji grubundaki sıçanlara cerrahi işlem öncesinde 35 mg/kg dozunda tiyopental sodyum anestezisi uygulanmıştır. Anesteziyi takiben sıçanlar supin pozisyonunda yatırılmış, karın bölgesi tıraşlanarak %10' luk povidon iyot çözeltisi ile bölge temizliği yapılmıştır. Orta hat insizyonu ile laparotomi yapılmıştır. SMA, aortadan çıktığı alanın distalinden çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek askıya alınmıştır. SMA, 3/0 ipek cerrahi iplik ile bağlanmış, 30 dakika boyunca doku iskemisi gerçekleştirilmiştir. Arter pulsasyonunun kaybolduğu ve bağırsak renginin soluklaştığı gözlemlenmiştir. Bağırsaklar batın içine yerleştirilerek ısı ve sıvı kaybı en aza indirilmiş ve laparotomi kesisi 4/0 ipek sütür ile kapatılmıştır. 30 dakika süren iskemi sürecinin sonunda sütürler alınmış ve batın açılmıştır. SMA'ya bağlanan iplik çözülerek reperfüzyon süreci başlatılmıştır. Ardından SMA nabzının alındığı ve ince bağırsağı beslemesinin düzelmeye başladığı gözlemlenmiştir. Orta laparotomi kesisi usulüne uygun bir şekilde 4/0 ipek yardımıyla devamlı dikiş atılarak yeniden kapatılmıştır. 24 saatlik reperfüzyon süresinden sonra tekrar tiyopental sodyum (35 mg/kg) anestezisi uygulanmış ve ipek dikiş alınarak orta hat kesisi açılmıştır. İ/R+MA, İ/R+CD ve İ/R+B2 gruplarında yer alan sıçanlara laparotomi yapılmadan 30 dakika

önce 8 mg/kg JZL184, 10 mg/kg CB, 10 mg/kg JWH133 intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir. Bu gruptaki sıçanlara da İ/R patoloji grubundaki sıçanlara uygulanan cerrahi prosedür bahsedildiği şekilde uygulanmıştır. 24 saatlik reperfüzyon süresi sonunda tüm gruplarda akciğer ve ileum dokuları izole edilerek çıkarılmıştır. Sıçanlar anesteziyi takiben abdominal aortanın kesilmesi ile ekssanguinasyon (kanatma) yoluyla sakrifiye edilmiştir.

### 3.2. Deney Protokolü

Hayvanlar 5 gruba ayrılmıştır (Tablo 8). Her grupta 8 hayvan bulunmaktadır. Sıçanlarda mezenter İ/R modeli ile akut akciğer hasarı oluşturulmuştur. Mezenter İ/R oluşturulmadan 30 dakika önce MAGL inhibitörü JZL184, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti kannabidiol (CB) ve selektif CB<sub>2</sub> reseptör agonisti JWH133 i.p. yoldan uygulanmış ve akut akciğer hasarı üzerine olası koruyucu etkileri gözlemlenmiştir.

**Tablo 8.** Deney Grupları (n=8)

Çalışma Grupları		
Gruplar	Kimyasallar	Uygulama Yolu
1	Kontrol	
2	İ/R Patoloji Grubu	
3	İ/R+MA <sup>1</sup> (8 mg/kg) <sup>4</sup>	i.p.
4	İ/R+CD <sup>2</sup> (10 mg/kg) <sup>4</sup>	i.p.
5	İ/R+B2 <sup>3</sup> (10 mg/kg) <sup>4</sup>	i.p.

<sup>1</sup> Monoağlislerol lipaz (MAGL) inhibitörü (JZL184)

<sup>2</sup> Kannabidiol (Non-selektif kannabinoid reseptör agonisti)

<sup>3</sup> Selektif CB<sub>2</sub> reseptör agonisti (JWH133)

<sup>4</sup> Tüm uygulamalar mezenter İ/R'den 30 dakika önce yapılmıştır.

Akciğerler %10 formaldehit solüsyonu içinde 2-3 gün bırakılarak histopatolojik inceleme yapılması için fikse edilmiştir. 10 µm'lik kesitler halinde, hematoxilen-eozin boyası ile boyanmıştır. Boyanmış olan kesitler, ışık

mikroskopunda incelenmiştir. Histopatolojik incelemede akciğer dokusu, alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon, alveolar duvar kalınlığı ve bağırsak dokusu ise intestinal mukozal hasar açısından değerlendirilmiş ve skorlanmıştır. Ayrıca skora haricinde akciğer dokusundaki histomorfolojik değişiklikler belirlenmiştir.

Mezenter iskemi reperfüzyonuna bağlı gelişen barsak hasarını inceleyebilmek için, standart olarak tüm hayvanlarda ileoçekal valvin 3 cm proksimalindeki ileum segmenti rezeke edilmiştir. Bağırsaktan alınan doku örnekleri %0.9 sodyum klorür solüsyonunda yıkandıktan sonra %10 formaldehitte tespit edilmiştir. Alınan örnekler, buzlu %0.9 NaCl solüsyonunda yıkandıktan sonra alüminyum folyoya sarılarak biyokimyasal incelemenin yapılacağı güne kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklanmıştır.

Doku örneklerinde; hemotoksilen-eozin boyama preparatlarında histopatolojik skora yapılmıştır. İntrensek ve ekstrensek apoptoz hasar mekanizmalarına yönelik olarak kaspaz 3, 8, 9 immünohistokimyasal boyama çalışması gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.1. İmmünohistokimyasal boyama metodu**

Doku örnekleri % 10’luk formaldehit çözeltisine alındıktan sonra elde edilen parafin kesitlerden kaspaz 3-8 ve 9 aktivitesini araştırmak amacıyla ABC (Avidin-Biotin Kompleks) yöntemi kullanıldı. Doku örneklerinden 4 µm kalınlığında alınan transvers kesitler deparafinizasyon işlemi için 62 °C’de inkübe edilip sırasıyla ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Deparafinizasyon sonrası suya alınan kesitler alkolden geçirilerek dehidrate edildi. Dokuda formaldehit fiksasyonundan kaynaklanan reseptör maskelenmesini önlemek için kesitler sitrat solüsyonuna alınıp mikrodalgada yüksek ısı uygulandı. Antijenik determinant bölgelerinin açığa çıkarılmasından sonra kesitler sitrat solüsyonundan suya alınıp 20 dk oda sıcaklığında tutuldu. Kesitler fosfat tamponlu salin (PBS) içerisinde 3 defa çalkalandıktan sonra, endojen peroksidaz aktivitesini önlemek amacıyla 15 dk süreyle %3’lük hidrojen peroksit uygulaması yapıldı ve nonspesifik bağlanmayı önlemek amacıyla 5 dk Ultra V block kullanıldı (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB). Bloklama aşamasını takiben 1/100 dilüsyonlarda hazırlanan anti-caspase 3 (Thermo scientific, UK) , anti-caspase 8 (Thermo scientific, UK) ve anti-caspase 9 (Thermo scientific, UK) antikoları nemli bir ortamda 1 saat uygulandı. Primer antikor aşamasından sonra kesitler PBS’ ye alınıp



uygun sekonder antikor 30 dk. uygulandı. Sekonder antikor uygulamasından sonra tekrar PBS' ye alınan kesitlere 10 dk Streptavidin peroksidaz kompleksi ile muamele edildi. Tekrar PBS' ye alınan kesitlere 2 dk immün reaksiyon gerçekleşinceye kadar kromojen olarak DAB uygulanıp zıt boyama için Mayers'in hematoksileni kullanıldı. Kesitler alkol serilerinden geçirilip, ksilen ile muamale edildikten sonra entellan ile kapatıldı ve Axio A1 zeiss marka mikroskop ile değerlendirildi.

**H-score:** Pozitif boyanan hücrelerin anti-caspase 3, anti-caspase 8 ve anti-caspase 9 boyama yoğunluğuyla yüzdelerinin çarpımının toplamından araştırılan antikorlar için H SCORE (histolojik skor) elde edilmiştir.  $H\ SCORE = \sum P_i(I+1)$ . Burada, I boyama yoğunluğunu göstermektedir (0= ekspresyon yok, 1=hafif, 2=orta, and 3=yoğun) ve  $P_i$  her yoğunluk için boyanan hücre yüzdesidir. Alanda pozitif boyanmış 100 hücre boyanma yoğunluğuna göre değerlendirilmiş ve aşağıdaki şekilde formülize edilmiştir.

$$[1 \times (\% \text{ cells } 1+) + 2 \times (\% \text{ cells } 2+) + 3 \times (\% \text{ cells } 3+)]$$

### 3.2.2. Histopatolojik inceleme metodu

Histopatolojik inceleme için eksizyondan hemen sonra doku örnekleri %10'luk formalinde fiske edilmiştir. Değişik derecelerdeki etanol ile dehidrate edilip ksilen ile berraklaştırılmış ve parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan 3-5 mikron kalınlığında kesilen dokular hematoksilen eosin ile boyanmıştır. Histolojik incelemeye alınan tüm akciğer lobları ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Akciğer doku örnekleri patolojik değişiklikler alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon, alveolar duvar kalınlığı açısından, bağırsak doku örnekleri ise intestinal mukozal hasar açısından değerlendirilmiştir. Alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon, alveolar duvar kalınlığı 0-4 arasında skorlanmıştır. Bu skorlama methodunda; 0= minimal hasar, 1= hafif hasar, 2= orta düzeyde hasar ve 3= ağır hasar, 4=maksimal hasar olarak kabul edilmiştir (216). İntestinal mukozal hasara ilişkin skorlama methodu Tablo 9'da belirtilmiştir (217).

### 3.3. Kimyasal Maddeler

Deneyleerde JZL184 (Santacruz sc-224031A), Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA. Kannabidiol (Tocris 1570), Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, USA. JWH133 (Tocris 1343) Tocris Bioscience, Minneapolis, MN, USA ve anestezi için tiyopental sodyum (Pental®, İE Ulugay İlaç Sanayi A.Ş.) kullanıldı.

**Tablo 9.** İntestinal Mukozal Hasar Skorlama (217)

---

Skor 0	Spesifik patolojik değişiklik yok: villus, kripto, lamina propria ve muscularis eksterna dahil normal bağırsak duvarı mimarisi.
Skor 1	Hafif mukozal hasar: villi epitelinin denudasyonu dışında normal yapı.
Skor 2	Orta derecede hasar: mukozada konjesyon, hemoraji ve inflamasyon bulguları ile birlikte villus yüksekliği kaybı ve epitelde kayma görülür, ancak submukoza veya muscularis eksternada değişiklik yoktur.
Skor 3	Geniş çaplı hasar: denudasyon, çökme ve submukoza ve muskulariste lokalize hasar ile granülomatöz doku varlığında çok sayıda villus kaybı.
Skor 4	Ağır hasar ve nekroz: Bağırsak duvarının kalınlığı boyunca alanlarda inflamasyon ve nekroz.

---

### 3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, üç ve daha fazla grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapılmış ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edilmiştir.

## **4. BULGULAR**

### **4.1. Mezenter İ/R'nin İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi**

Histopatolojik incelemede, sağlıklı kontrol grubunda herhangi bir patoloji tespit edilmemiştir. Kontrol grubuna göre İ/R patoloji grubunda hematoksilen-eozin boyamada akciğer dokusunda alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon, alveolar duvar kalınlığı, intestinal mukozal hasar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır (Şekil 5). Bununla birlikte, immünohistokimyasal incelemede akciğer ve bağırsak dokusunda kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunda kontrol grubuna göre İ/R patoloji grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 6-7).

### **4.2. MAGL İnhibitörü JZL184'ün Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi**

Hematoksilen-eozin boyamada, akciğer dokusunda, JZL184, alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır. Bağırsak dokusunda ise, JZL184'ün intestinal mukozal hasar üzerinde iskemi grubuna göre epitel hasarını azalttığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Şekil 5).

İmmünohistokimyasal incelemede, akciğer dokusunda JZL184 kaspaz 8 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır. Ayrıca JZL184'ün, kaspaz 3 boyanmasını da azalttığı gözlemlenmiş fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bağırsak dokusunda ise JZL184, kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır (Şekil 6-7, Tablo 10).

### **4.3. Non-Selektif Kannabinoid Reseptör Agonisti CB'nin Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi**

Hematoksilen-eozin boyamada, akciğer dokusunda, CB'nin, alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışında herhangi bir düzelme sağlamadığı gözlemlenmiştir. Bağırsak dokusunda ise, CB'nin

intestinal mukozal hasar üzerinde iskemi grubuna göre epitel hasarını azalttığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Şekil 5).

İmmünohistokimyasal incelemede, akciğer ve bağırsak dokusunda CB'nin, kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunu anlamlı oranda azalttığı görülmüştür (Şekil 6-7, Tablo 10).

#### **4.4. Selektif CB2 Reseptör Agonisti JWH133'ün Mezenter İ/R Aracılığıyla Gelişen İleum ve Akciğer Hasarı Üzerine Etkisi**

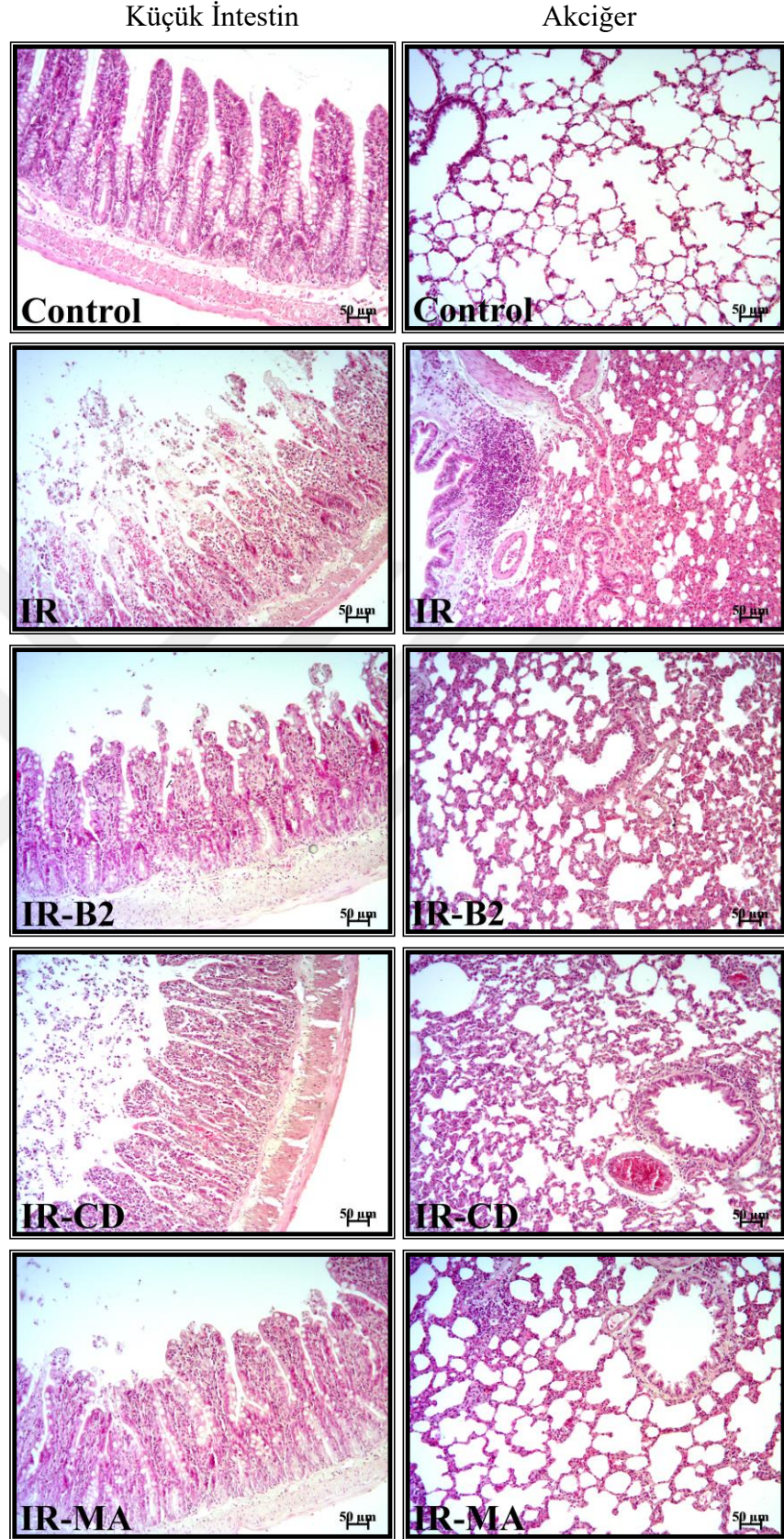
Hematoksilen-eozin boyamada, akciğer dokusunda, JWH133 nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını istatistiksel olarak anlamlı oranda azaltmıştır. Hemoraji üzerine etkisi olmamakla beraber alveolar konjesyonda iskemi grubuna göre azalma sağlamış olmasına karşın bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bağırsak dokusunda ise, JWH133'ün intestinal mukozal hasar üzerinde iskemi grubuna göre azalma olmadığı görülmüştür (Şekil 5).

İmmünohistokimyasal incelemede, akciğer dokusunda JWH133'ün kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunda iskemi grubuna göre azalmaya neden olmadığı görülmüştür. Bağırsak dokusunda ise, JWH133'ün kaspaz 3 ve 8 ekspresyonunda patoloji grubuna göre değerleri azaltmış olmasına karşın bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Kaspaz-9 ekspresyonunda ise fark görülmemiştir (Şekil 6-7, Tablo 10).

**Tablo 10.** Akciğer ve bağırsak dokularında immunohistokimyasal boyama yöntemi ile kaspaz-3, kaspaz-8 ve kaspaz-9 aktiviteleri.

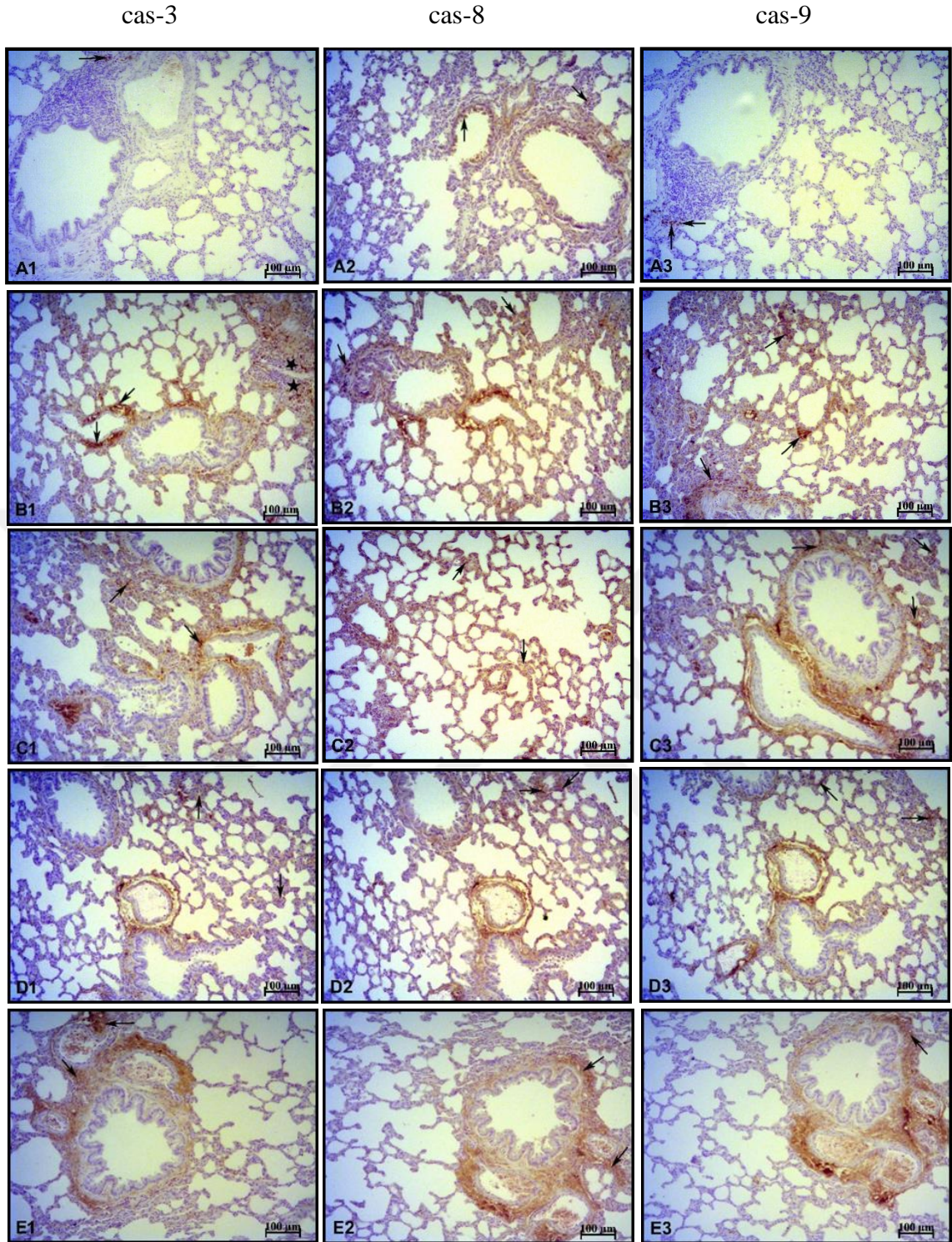
Grup	Akciğer			Terminal İleum		
	Kaspaz 3	Kaspaz 8	Kaspaz 9	Kaspaz 3	Kaspaz 8	Kaspaz 9
İ/R	Anlamlı fark var	Anlamlı fark var	Anlamlı fark var	Anlamlı fark var	Anlamlı fark var	Anlamlı fark var
İ/R+MA	İ/R grubuna göre azalma ancak anlamlı değil	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok
İ/R+CD	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre anlamlı azalma	İ/R grubuna göre anlamlı azalma
İ/R+B2	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre fark yok	İ/R grubuna göre azalma ancak anlamlı değil	İ/R grubuna göre fark yok

\*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)



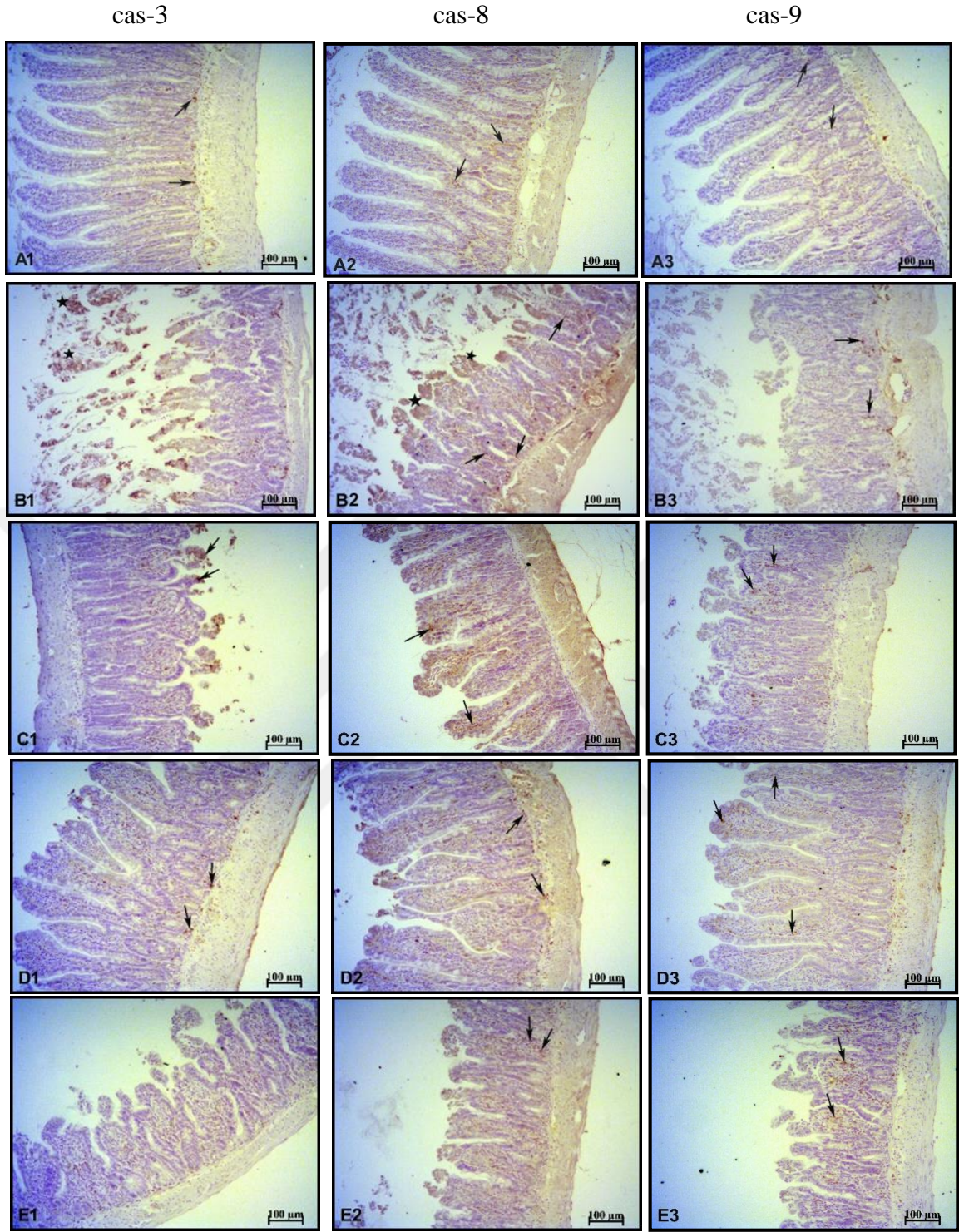
**Şekil 5.** Sıçan Akciğer ve Bağırsak Dokusu, hematoksilin/eosin boyama sonuçları. Mezenter İ/R uygulamasından 3 saat sonra ince bağırsak (sol panel) ve akciğer dokuları (sağ panel) toplanmış, hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda Fincelenmiştir (Scale bar =50µm). Şekilde kontrol, IR, IR-B2, IR-CD ve IR-MA grupları için temsili görüntüler yer almaktadır.





**Şekil 6.** Sıçan Akciğer Dokusu, immunohistokimya boyama sonuçları. A (kontrol), B (IR), C (IR+ B2), D (IR+CD), E (IR+MA). Sıçan akciğer dokusuna ait kaspaz 3-8 ve 9 ifadesi incelendiğinde özellikle iskemi-reperfüzyon hasarının oluşturulduğu grupta (IR) bronşiyol ve alveol duvarında (siyah oklar) kuvvetli boyanmalar görülmektedir. İlâveten hasara bağlı olarak gelişen hücre infiltrasyonun olduğu alanlarda da kontrol grubundan farklı olarak kuvvetli immün reaksiyon izlenmektedir. Özellikle (IR+MA) grubunda bronşiyol duvarı dışında kontrol grubuna benzer şekilde bir boyanma dikkati çekmektedir. (Scale bar =100 µm)





**Şekil 7.** Sıçan Bağırsak Dokusu, immunohistokimya boyama sonuçları. A (kontrol), B (IR), C (IR+B2), D (IR+CD), E (IR+MA). Kontrol grubunda kaspaz 3-8 ve 9 ifadeleri değerlendirildiğinde bağırsak villuslarında ve muskularis mukozaya yakın kriptalarda (siyah oklar) immün pozitif reaksiyon izlenmektedir. Submukoza tabakasında da benzer şekilde zayıf boyanmalar gözlenmektedir. IR grubunda ise kontrol grubunun aksine özellikle yüzeydeki villus epitel hücrelerinde, yüzeye yakın alanlardaki lamina propria (siyah ok) ve iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak lümen içerisine dökülmüş (yıldız) hücrelerde kuvvetli boyanma izlenmektedir. Tedavili gruplarda kaspaz 3-8 ve 9 ifadelerinde belirgin bir azalma gözlenmektedir. Özellikle IR+CD ve IR+MA gruplarında bağırsak villuslarında, kriptalarında (siyah oklar) ve submukozada kontrol grubuna benzer zayıf boyanmalar gözlenmektedir. (Scale bar =100 µm)



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda uzun yıllardır keyif verici etkilerinin olduğu bilinen ve son zamanlarda doku hasarı üzerine koruyucu etki potansiyeli olduğu gösterilmeye başlanan kannabinoidlerin, mezenter İ/R aracılı akut akciğer hasarı deney modelinde, MAGL inhibitörü JZL184, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti kannabidiol (CB) ve selektif CB2 reseptör agonisti JWH133 kullanılarak apoptoz ve doku hasarı üzerine olası koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızdaki sonuçlar literatür bulguları ile uyumlu olarak, kannabinoid reseptörlerinin periferik yerleşim gösteren türlerinin, doku hasarı ve apoptoz yolları üzerinde etki gösterebildiklerini teyit etmektedir. Solunum sisteminde kannabinoidlerin rolü ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda, ilk defa mezenter İ/R ile oluşturulan akut akciğer hasarı deney modelinde, kannabinoidlerin apoptoz ve doku hasarı üzerine olası etkileri incelenmiştir. Kannabinoidlerin ve sentetik türevlerinin kullanılan klinik endikasyonları dışında, şu anda deneysel sonuçlarla sınırlı olsa da doku hasarında rol oynayan mekanizmalar üzerinde etkili oldukları görülmektedir. Bu durum kannabinoidlerin yeni endikasyonlarda kullanımına zemin hazırlayabilecektir. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, kannabinoidlerin doku hasarında rol oynayan mekanizmalar üzerine etkileri olduğu ve bu etkileri sayesinde doku hasarının modülasyonunu sağladıklarını gösterilmiştir.

Çok çeşitli akciğer hasar mekanizmalarından kaynaklanan ALI/ARDS, sıklıkla ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır. Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların yaklaşık %10-15 kadarı ve mekanik ventilasyona bağlı hastaların %20 kadarı ARDS tanı kriterlerini taşımaktadır. ARDS, mekanik ventilasyonun sağlanamadığı durumlarda hastaların büyük çoğunluğunun kaybedildiği, hipoksemi ile karakterize olarak hayatı tehdit eden ve akut gelişen solunum yetmezliği ile tetiklenen çoklu risk faktörleri içeren bir sendromdur. ARDS, ALI ile aynı tabloyu oluşturmasına karşın aralarındaki fark ARDS'de hipoksinin daha ağır olmasıdır ( $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 \leq 200$  mmHg). ALI/ARDS oluşumuna neden olan birçok etken olması ve bu etkenler sebebiyle gelişen patofizyolojik mekanizmaların yeterince aydınlatılmamasına bağlı olarak ALI/ARDS tedavisinde henüz kabul gören standart bir tedavi oluşturulamamıştır. ALI/ARDS patofizyolojisi değerlendirildiğinde çeşitli etkenlere bağlı olarak gelişen farklı mekanizmaların olması nedeniyle, deneysel

çalışmalarda farklı modeller oluşturularak incelenmektedir. ALI ve ARDS'nin şiddetinin değerlendirmesinde, proinflatuvar sitokinler TNF-a, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 ve IL-18, morbidite ve mortaliteyi tahmin etmek için en umut verici faktörler arasındadır. Prognostik moleküler, biyobelirteçler ve moleküler bazlı tedavinin geliştirilmesi amacıyla ALI / ARDS'nin moleküler patofizyolojisi ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (22, 31, 36).

Gastrik içeriğin aspirasyonu, ciddi travmalar, kan transfüzyonu, pnömoni, sepsis ve yanık gibi çeşitli inflamasyon gelişim yollarının ARDS'nin oluşuma neden olduğu bilinmektedir. Bu etkenler, direkt veya indirekt yolla akciğer hasarı oluşumuna sebep olmaktadır. Pulmoner ALI/ARDS'de ilk olarak alveoler epitelde hasar oluşmaktadır. Bu hasara bağlı olarak alveoler makrofajlar aktive olmakta ve akabinde pulmoner inflamasyon geliştiği görülmektedir. Ekstrapulmoner ALI/ARDS tablosunda ise, pulmoner sistem dışındaki kaynaklar aracılığıyla hücrenel ve humoral yanıt tetiklenmekte ve buna bağlı olarak sistemik dolaşıma mediyatörler salınmaktadır. Bu olaylar akciğer hasarının temel mekanizmasını oluşturmaktadır. ARDS, akciğerlerde akut başlangıçlı olarak gelişmekte ve inflamasyon, proliferasyon ve fibrozis gibi ciddi yapısal değişikliklere neden olmaktadır. ARDS'de hipoksemi, komplians ve fonksiyonel rezidüel kapasitenin azaldığı ve akciğer grafisinde diffüz infiltratların varlığı görülmekte, alveolokapiller permeabilitede artış yaşanmakta ve buna bağlı olarak sekonder nonkardiyak pulmoner ödem tablosu gelişmektedir (38-39, 46, 218).

Akut akciğer hasarı oluşturulması için kullanılan deney modellerinden biri de mezenter iskemi reperfüzyonudur (İ/R). Mezenter İ/R hasar mekanizması oldukça karmaşıktır ve hasar oluşum sürecinde birçok faktör rol oynamaktadır. Bu nedenle mezenter İ/R hasarının patogenezini ve gelişim mekanizmalarını değerlendirmek için birçok hayvan deneyi yapılmıştır. Kullanılan en yaygın yöntem, süperior mezenter arterde (SMA) klempleme veya ligasyon ile dolaşımın kesilmesi ve iskemi oluşturulmasıdır (219).

Akut mezenter iskemi, mezenter arterdeki kan akışının hızlı bir şekilde kesilmesinin sonucunda oluşan tipik bir intestinal İ/R hasarına bağlı gelişen bir hastalıktır. Mezenter İ/R genellikle ince bağırsak tıkanması, mezenter arter oklüzyonu, ince bağırsak transplantasyonu, vasküler cerrahi işlemler, şok ve travma gibi klinik durumlarda ortaya çıkmaktadır. Vakaların çoğu tanı koymadaki zorluk nedeniyle geri dönüşü olmayan bir intestinal nekroza doğru kolaylıkla ilerlemektedir. Bu nedenle acil

servislere başvuru oranı düşük olan bu hastaların mortalite oranları yüksektir (5). Çalışmamızda SMA, 4/0 ipek sütün ile bağlanarak 30 dakika iskemi 24 saat reperfüzyona maruz bırakılmıştır. Yapılan çalışmalarda genel olarak 90-120 dakika reperfüzyon uygulaması yapılmaktadır. Ancak reperfüzyon süresinin uzatılmasının doku hasarını derinleştirdiği ve dokuda nekroza varan bir hasar oluşmasını sağladığı bilinmektedir (219, 220). Bu nedenle, 24 saat reperfüzyon uygulanmasının ardından akciğer ve bağırsak doku örneklerinde apoptoz mekanizmasında önemli rol oynayan kaspaz 3, 8 ve 9 düzeyleri ile akciğer ve bağırsak dokularında alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı ve intestinal mukozal hasar üzerine kannabinoidlerin etkileri incelenmiştir.

İskemik hasar, mikrovasküler kan akımındaki bozukluktan kaynaklanmaktadır. Doku bu aşamada hipoksemiye bağlı olarak hasarlanmaktadır. Mukozal bariyer fonksiyonu bozularak damar geçirgenliği artmaktadır. Damar geçirgenliğinin artması inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu sağlamaktadır. Bu inflamatuvar hücreler, reaktif oksijen radikallerinin, proinflamatuvar kemokinlerin ve protein kinazların serbest kalmasına neden olmaktadır. İskemi sonrası gelişen doku hasarı, mukozal bariyer fonksiyonunun bozulmasına bağlı gelişen mukozal ve vasküler permeabilite artışı, bakteriyel translokasyon ve sistemik inflamatuvar cevap, akut vasküler yetmezlik ve çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır. Her ne kadar primer doku hasarı mezenter arterin yeniden kanlanması ile tamir edilebilse ve intestinal epitel hücre sağkalımı için kanlanma gerekli olsa da dokunun reperfüzyona uğraması hasarın şiddetini arttırmaktadır. Bu hasar reperfüzyon hasarı olarak bilinmektedir. Bağırsaktaki İ/R hasarı tedavi edilmez ise şok, çoklu organ yetmezliği ve sepsise doğru ilerleyen bir tabloya dönüşmektedir (3-6, 217).

Mezenter İ/R'nin bağırsakta oluşturduğu lokal hasara ek olarak gelişen uzak organ hasarlarından en önemlisi akciğer hasarıdır. Mezenter İ/R'si esnasında inflamatuvar sitokinlerin ve aktive edilmiş nötrofillerin aşırı derecede salınımı sonucunda akut akciğer hasarı gelişmektedir. Mevcut tedaviler yetersiz kaldığından dolayı akut akciğer hasarı mezenter İ/R hastaları için önemli bir ölüm nedeni haline gelmektedir. Bu nedenle, mezenter İ/R hasarının indirekt nedeni olarak gelişen akut akciğer hasarında kullanılan semptomatik tedaviler yerine yeni yaklaşımlara ve tedavide kullanılacak ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (7, 8).

Kannabinoidler endokannabinoidler, fitokannabinoidler ve sentetik kannabinoidler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Araşidonat temelli lipidler olan

anandamid (AEA) ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) en iyi bilinen endojen kannabinoidlerdir. CB1 ve CB2 reseptörleri olmak üzere iki alt tipi bulunan kannabinoid reseptörleri G-protein kenetli 7-transmembranal (GPCRs) segmentli reseptörlerdir. CB1 reseptörleri beyin, spinal kord ve periferik sinir sisteminde, pre ve post sinaptik hücre membranlarında yer almaktadır. CB1 reseptörleri santral sinir sistemi ve periferik organlarda düzenleyici olmasından dolayı birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. CB1 reseptörlerinin aktive edilmesiyle nörodejeneratif hastalıklar, travma sonrası stres bozukluğu, depresyon, anksiyete, kanser, ağrı, postmenopozal osteoporozun tedavisinde terapötik amaçlı kullanılabilir. Bu reseptörün inhibisyonu ise kardiyometabolik komplikasyonlar, karaciğer hastalıkları, diyabet, obezite, , alkol ve ilaç bağımlılığının tedavi edilmesine olanak sağlayabilecektir. İmmün fonksiyonlarla ilişkili periferik dokularda yer alan CB2 reseptörlerinin ise immünomodulator etkisi bulunmaktadır. Aynı zamanda CB2 reseptörleri inflamasyonun inhibisyonunu sağlamaktadır. CB1 ve CB2 reseptörleri adenilat siklaz ile negatif kenetlenmekte ve/veya protein kinaz (MAPK)'ı aktive etmektedir. Bunun yanı sıra endokannabinoidlerin CB1 ve CB2 reseptörleri haricinde, transient reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1), G proteine bağlı reseptör 55 (GPR55), G proteine bağlı reseptör 119 (GPR119), peroksizom aktive-proliferatör reseptörleri (PPARs) gibi reseptörleri de aktive edebildikleri gösterilmiştir. CB2 reseptörleri aktive edilerek, immün sistem ve inflamasyon tedavisinde yeni terapötik hedef potansiyelleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (14, 15, 16, 17, 148, 149). Yapılan çalışmalarda kannabinoidlerin CB1 ve CB2 reseptörleri aracılığıyla inflamatuvar mediyatörler, serbest oksijen radikalleri gibi inflamasyon ve doku hasarında rol oynayan mediyatörleri etkileyerek ve endokannabinoidlerin (2-AG, AEA) yıkımında rol oynayan enzimlerin (MAGL, FAAH) inhibe edilmesini sağlayarak ortamda endokannabinoid tonusunun artması ile anti-inflamatuvar etki gösterdiklerini bildirilmektedir (147, 183). Bu bulgular, kannabinoidlerin immün sistem ve inflamatuvar olaylarda rol oynadıklarını, bu nedenle doku hasar mekanizmalarında ve inflamasyonda potansiyel koruyucu ajanlar olarak kullanılabilirliklerini düşündürmektedir. Çalışmamızda da CB2 reseptör agonisti JWH133, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti kannabidiol (CB) ve MAGL inhibitörü JZL184 kullanılarak mezenter İ/R'ye bağlı gelişen bağırsak ve akciğer doku hasarı üzerine koruyucu etkileri incelenmiştir.

CB, non-selektif kannabinoid reseptör agonistidir. CB, anti-inflamatuvar, güçlü immünsüpresif, antioksidan, antidepresan, anksiyolitik, analjezik, antikonvülsan, kas gevşetici, nöroprotektif, anti-oksidan ve antipsikotik koruyucu etkilerinin yanı sıra epilepsi, Alzheimer, Parkinson ve Multiple skleroz dahil olmak üzere bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere umut verici bir aday haline gelmiştir. CB'nin akut akciğer hasarı durumunda antiinflamatuvar etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (200, 202).

Ribeiro ve ark. tarafından CB ile yapılan profilaktik tedavinin, ALI modelinde inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Aynı grubun yaptığı farklı bir çalışmada ise farelerde LPS kaynaklı oluşturulan ALI modelinde CB'nin akciğer mekaniği ve inflamasyonu üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, LPS kaynaklı gelişen akciğer inflamasyonundan 6 saat sonra farelere CB (20 ve 80 mg / kg), i.p. olarak uygulanmıştır. Bir gün sonra (24 saat) yapılan analiz sonucunda CB'nin total akciğer rezistansını, akciğerlere lökosit göçünü, akciğer dokusunda miyeloperoksidaz aktivitesini, akciğer bronkoalveolar lavaj süpernatantında protein konsantrasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin (TNF ve IL-6) ve kemokinlerin (MCP-1 ve MIP-2) üretimini azalttığı görülmüştür. LPS kaynaklı gelişen ALI'de, CB'nin akciğer fonksiyonlarını iyileştirdiği ve güçlü bir anti-inflamatuvar etkisi olduğu, ayrıca oluşturduğu bu olumlu etkiden dolayı da inflamatuvar akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (221).

Hayakawa ve ark. tarafından orta serebral arter oklüzyon modeli ile oluşturulan enfarktüs üzerine CB'nin serebroprotektif özelliği incelenmiştir. CB, serebral iskemi oluşumundan 3 saat sonra i.p. yoldan uygulanmıştır. Serebral iskemiden 24 saat sonra nötrofil, monosit / makrofaj belirteci olan enfarktüsün yaygınlığı ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçülmüş ve CB'nin olumlu etkileri gözlenmiştir. *High mobility group box* (HMGB) proteinler, hücrelerde birçok farklı fonksiyonları bulunan non-histon nükleer proteinlerdir. Bu ailenin en önemli üyesi HMGB1'dir. DNA'ya non-spesifik şekilde bağlanarak bazı transkripsiyon faktörlerinin (p53, steroid hormon reseptörleri vb.) DNA ile olan etkileşimini yeniden düzenlemektedir. HMGB1'in inflamatuvar hücrelerden aktif, nekrotik hücrelerden pasif olarak salınarak en önemli reseptörüne RAGE (*receptor for advanced glycation end products*)'e bağlanmaktadır. HMGB1, inflamasyon, tümör metastazı, hücre farklılaşması ve hücre göçünde rol oynamaktadır. Bu çalışmada, CB, HMGB1'i baskılayan MPO-pozitif hücrelerini inhibe etmiştir. Bu sayede, HMGB1'i baskılayan monosit/makrofajları da inhibe

ettiğini, glial aktivasyon ve serebral iskemi tarafından indüklenen nörolojik bozuklukları önlediğini göstermektedir. CB'nin, HMGB1 inhibe edici mekanizma yoluyla iskemi sonrası gelişen hasar için yeni terapötik olanaklar açacağı düşünülmektedir (222).

Fouad ve ark.nın yaptığı bir çalışmada benzer şekilde, karaciğer İ/R hasarına maruz kalan sıçanlarda CB'nin terapötik potansiyeli araştırılmıştır. Sıçan sol hepatik lob pedikülünün 30 dakika boyunca klemplenmesiyle iskemi oluşturulmuş ve sonrasında 3 gün boyunca reperfüzyona bırakılmıştır. İşlemden 1 saat sonra CB (5 mg / kg, iv) verilmiştir. 2 saat sonra CB uygulaması tekrarlanarak her 24 saatte bir vermeye devam edilmiştir. CB, İ/R hasarında, serum alanin aminotransferaz (ALT) ve doku malondialdehid (MDA), tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olmuş ve azalan doku glutasyon düzeyini de arttırmıştır. CB, iskemi / reperfüzyonun aracılık ettiği biyokimyasal parametrelerde oluşan bozulmayı önemli ölçüde azaltmıştır. Histopatolojik incelemede, CB'nin doku hasarını düzelttiği gözlenmiştir. CB'nin ayrıca indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2), nükleer faktör-B (NF- $\kappa$ B), Fas ligandı ve kaspaz-3 ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını ortaya koymuştur. Sonuç olarak kannabidiolün karaciğer iskemi reperfüzyon hasarına karşı potansiyel koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir (9).

Mukhopadhyay ve ark.nın CB'nin hepatik İ/R hasarı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, CB'nin karaciğer inflamasyonu, oksidatif/nitratif doku hasarı ve hücre ölümünü hafifleterek önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada 60 dakika hepatik iskemi, 2, 6 ve 24 saat reperfüzyon uygulanmıştır. CB'nin hepatik İ/R hasarına karşı koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Doku hasarının derinleştiği 24 saatlik reperfüzyon süresi sonunda alınan doku örneklerinde ~ 10 kat artış gösteren apoptotik hücrelerde, İ/R öncesinde uygulanan 10 mg/kg CB'nin apoptotik cisimlerde önemli bir azaltıcı etki gösterdiği gözlemlenmiştir (220). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak, mezenter İ/R ile oluşturulan bağırsak ve akciğer doku hasarı görülen patoloji grubunda kaspaz 3, 8 ve 9 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği ve CB'nin 10 mg/kg dozunda bu artışı anlamlı düzeyde azalttığı görülmüştür. Bu bulgular CB'nin CB1 ve CB2 reseptörler aracılığıyla mezenter İ/R hasarında intrinsek apoptoz yolağı üzerine etkisini olduğuna, dolayısıyla hücre ölümünü engellediğine ve bizim çalışmamızın hipotezi olan CB'nin mezenter İ/R hasarına bağlı gelişen akciğer hasarında rolü olduğu görüşüne açıklama getirmektedir.

McKallip ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada lösemi hücrelerinde CB'nin apoptozis indüksiyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, CB2 reseptörünün apoptotik indüksiyonda dolaylı olarak bir azalma sağladığı, CB'nin kaspaz 3, 8 ve 9'un aktifleşmesini, poli(ADP-riboz)un bölünmesini ve Bid (proapoptotik protein)'in düzeyini azalttığı, intrensek ve ekstrensek yollar üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CB, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde, p-p38 MAPK seviyesinde ve NADPH oksidazları olan Nox4 ve p22phox ekspresyonunda artışa yol açmıştır. Bu bulgulara göre, CB'nin lösemi tedavisi için yeni ve oldukça seçici bir tedavi olabileceği ortaya koymaktadır (223).

Apoptozis, çok hücreli organizmaların genetik kodlarında yer alan "hücre intiharı" olarak adlandırılan programların çeşitli uyarılar sonucunda aktive olmasıyla oluşan fizyolojik hücre ölüm mekanizmasıdır. Apoptozisin intrensek ve ekstrensek yollar olmak üzere iki temel yolu bulunmaktadır (120-123).

Ekstrensek apoptotik sinyal yolu, hücre yüzeyinde bulunan ve hücre dışı uyarılar (ısı, hipoksi, hücre yaşlanması, kemoterapi, radyasyon gibi ajanlar vb.), büyüme faktörleri ve yaşam sinyallerinin azlığı ve sitotoksik T lenfositler aracılığıyla tetiklenen ölüm reseptörlerine bağlı olarak gelişmektedir. Ekstrensek yol, apoptozisin tetiklenmesini sağlayan ve hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen tümör nekrozis faktör reseptörü-1 (TNFR-1) ve Fas ölüm reseptörleri ile bu reseptörlerin ilgili ligandları etkileşime girmesi sonucu uyarılmasıyla indüklenmektedir. Hücre membranında bulunan bu ölüm reseptörleri TNFR ailesinin üyesidirler. Bu ölüm reseptörlerinden farklı olarak TRAIL-R2, EDA-R, P75NTR, DR-3 ve DR-6 olmak üzere apoptoziste rol oynayan farklı ölüm reseptörleri de yapılan çalışmalar ile tanımlanmıştır. Ligandları ile bağlandıktan sonra ölüm uyarısı alan TNFR-1 ve Fas reseptörleri hücrede apoptoz mekanizmalarının seri halinde ilerlemesini sağlamaktadır. TNFR-1 ve Fas ölüm reseptörleri, sitoplazmadaki TRADD (TNFR-1 associated death domain) ve FADD (Fas associated death domain) ölüm bölgelerini hedeflemekte, protein-protein etkileşimine yol açmakta ve bu sayede etkilerini göstermektedirler. TRADD ve FADD ölüm bölgeleri prokaspaz-8'i aktive ederek kaspazların kaskad şeklinde ilerleyen aktivasyonlarını başlatmaktadır. Kaspaz 8 aktive olduktan sonra, kaspaz 3, 6 ve 7'nin seri halinde aktifleşmesini sağlamak ve bu aktivasyon sayesinde hücrede makromoleküllerin parçalanarak tipik apoptoz morfolojisini oluşturmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda apoptoz başlatıcı özelliğe sahip aktif kaspaz 8, sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması için Bcl-2 proteinini Bid ve onun terminal bölgesine

ayırarak Bid'in proteolitik olarak aktifleşmesini sağlamaktadır. tBid ve Bid'in mitokondri membranına translokasyonunun ardından membranda porlar açılmaktadır. Bu porlar aracılığıyla Bid, sitokrom c, farklı yapıdaki proteinler ve  $Ca^{+2}$ , mitokondriden sitoplazmaya serbestleşmektedir. Apoptozom meydana gelerek kaspaz-9'u aktifleştirmekte, kaspaz-9 ise prokaspaz-3'ü parçalayarak aktif kaspaz-3'ün oluşmasını sağlamaktadır. Aktif kaspaz-3 de kaspaz-6 ve kaspaz-7'yi aktive etmektedir. Bunun sonucunda ekstresek yol, intrensek yolu (mitokondriyal yolu) da aynı zamanda aktifleştirmiş olmaktadır (123-127).

İntrensek (mitokondriyal) yolda ile gelişen apoptozda mitokondri önemli rol oynamaktadır. Apoptoz, mitokondri geçirgenliği dengesini sağlayan pro ve anti apoptotik moleküllerin işlevlerinde meydana gelen bozunmanın sonucunda tetiklenmektedir. Hücre içi ve dışından gelen ölüm sinyalleri, hücrenin ATP üretim kaynağı olan mitokondride birleşmektedir. Mitokondrinin iç ve dış zar yapısı fonksiyonel açıdan hücre zarına benzerdir. Hücre içi DNA hasarı, hücre içi pH'sında azalma, kalsiyum seviyesindeki artış gibi çeşitli etkenler mitokondrinin dış zar geçirgenliğinde artışa neden olarak zar yapısının bozulmasına dolayısıyla çift membran arasında bulunan sitokrom c gibi birçok proteinin hücre sitoplazmasına geçmesine yol açmaktadır. Bu protein kaçıışı, dış zarda yer alan mitokondriyal permeabilite geçiş poru (permeability transition pore-PT) aracılığıyla veya mitokondri dış zarının patlamasıyla meydana gelmektedir. Bu porun açılması sonucunda sitokrom-c, apoptoz indükleyici faktör (AİF), kaspazın ikincil mitokondriyal aktivatörü (SMAC/DIABLO; *second mitochondrial activator of caspase*; mitokondriyal permeabilite geçiş porlarından salgılanır, AIP'i (*inhibitors of apoptosis proteins*) inhibe eder) ve endonükleaz G (ENDO-G; mitokondriyal permeabilite geçiş porlarından salınır, hücre çekirdeğinde transloke olur, tek sarmallı DNA'ları parçalar) serbestleşerek sitoplazmaya geçiş yapmakta ve apoptoz gelişimini hızlandırmaktadır. Sitokrom C, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan apoptotik proteaz aktive eden faktöre (APAF-1) bağlanarak apoptozom adı verilen yapıyı oluşturmaktadır. Bu kompleks yapı, kaspaz-9 enzimini aktifleştirmek için kesmektedir. Aktive olan kaspaz 9, efektör kaspazlar arasında yer alan prokaspaz-3'ün aktivasyonunu sağlamakta, kromatin kondensasyonu ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonu ile gelişen apoptozun oluşmasını sağlamaktadır (126-129, 224).

Apoptoz mekanizmalarının aktivasyonu intrensek veya ekstresek yollardan hangisi ile başlarsa başlasın, ateşleyici nitelikteki enzimler olan kaspaz 8 ve 9 aktive



olduklarında ölüm mekanizması geriye dönüşü olmayacak şekilde başlamaktadır. Kaspaz 8 ya da 9 aktive olmasının ardından bitirici (executioner) kaspazlar olarak bilinen kaspaz-3 ve kaspaz-6'nın aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bitirici kaspazlar fazla sayıda hücre komponentini etkilemekte ve bu sayede apoptozun gerçekleşmesini sağlamaktadır (125-130).

Bahsi geçen çalışmalar (9, 220-223) ve literatürde yer alan diğer farklı deney modellerinde de gösterildiği üzere (10, 16, 144, 150, 206, 207) bu sonuçlar ile uyumlu olarak çalışmamızda CB'nin, 8 mg/kg dozunda i.p. yoldan uygulandığında akciğer ve bağırsak dokusunda mezenter İ/R hasarına bağlı gelişen kaspaz-3 aktivasyonundaki artışın yanı sıra kaspaz 8 ve 9 ekspresyonunu da istatistiksel anlamlı oranda azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgular, mezenter İ/R aracılı oluşan akciğer ve bağırsak doku hasarına bağlı olarak gelişen apoptoziste CB'nin intrinsek ve ekstrinsek yollar üzerinde etkisi olduğunu göstermektedir.

Jiang ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada MAGL enzimini selektif olarak inhibe ederek anti-inflamatuvar yanıt oluşturduğu farklı çalışmalarla gösterilen JZL184'ün, sıçan kası kontüzyon modelinde inflamasyon ve doku hasarı üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, JZL184'ün nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonunda azalmaya neden olduğu, dolayısıyla anti-inflamatuvar etki oluşturduğu gösterilmiştir. JZL184'ün bu etkiyi, kannabinoid CB1 ve CB2 reseptörleri aracılığıyla oluştuğu ve kas iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir (184).

2-AG'nin, MAGL tarafından enzimatik hidrolize uğratılması ile endokannabinoid sinyali kesilerek etki ortadan kalkmaktadır. JZL184, MAGL enziminin selektif inhibitörüdür. Bu sayede JZL184, CB1 ve CB2 reseptörleri üzerine etkili olan 2-AG'nin hidrolize olmasını engelleyerek seviyesini artırmaktadır. Costala-de-Souza ve ark tarafından yapılan çalışmada LPS kaynaklı akut akciğer hasarı oluşturulmuş, farelere tek doz olarak JZL184 (16 mg / kg, i.p.) uygulaması ile MAGL inhibisyonunun, hasarın 6., 24. ve 48. saatlerindeki etkileri araştırılmıştır. JZL184 uygulamasının, lökositlerin akciğerlere göçünü ve vasküler geçirgenliği azalttığı görülmüştür. Ayrıca JZL184'ün bronkoalveoler lavaj sıvısındaki (BAL) sitokin ve kemokin seviyeleri ile kanda ve BAL'da adezyon molekül ekspresyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. JZL184'ün MAGL enzimini inhibe ederek anti-inflamatuvar etki oluşturup oluşturmadığı CB1 reseptörü selektif antagonisti AM281 ve CB2 reseptörü selektif antagonisti AM630 kullanılarak incelenmiştir. AM281 ve

AM630, JZL184 tarafından oluşturulan anti-inflamatuvar yanıtın etkilerinin ortadan kalkmasını sağlamışlardır. Dolayısıyla JZL184'ün etkisi kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, LPS uygulamasını takiben gelişen akut akciğer hasarında JZL184'ün MAGL enzimini inhibe ederek 2-AG düzeyini arttırdığı ve CB1, CB2 reseptörleri aracılığıyla anti-inflamatuvar etki oluşturduğu belirtilmiştir (225).

Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak MAGL inhibitörü JZL184, 8 mg/kg dozunda intraperitoneal yoldan uygulandığında mezenter İ/R hasarına bağlı olarak gelişen akciğer hasarında; akciğer dokusunda alveoler konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı görülmüştür. Bağırsak dokusunda ise intestinal mukozal hasarı azaltmış olmasına karşın bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Jiang ve ark., Costala-de-Souza ve ark. ve literatürde yer alan farklı deney modelleri ile de gösterildiği üzere (197, 199, 203, 227-229) çalışmamızda bu sonuçlar ile uyumlu olarak JZL184'ün akciğer hasarı üzerine iyileştirici etkileri olduğu gösterilmiştir. Costala-de-Souza ve ark. tarafından yapılan çalışmada JZL184 16 mg/kg dozunda intraperitoneal yoldan uygulanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada, JZL184, 8 mg/kg dozunda aynı yoldan uygulanmış ve benzer sonuçlar ile karşılaşılmıştır. Bu bulgular JZL184'ün daha düşük dozlarda dahi akciğer hasarı üzerine olumlu etkilerini olduğunu düşündürmektedir.

Aynı zamanda çalışmamızda, JZL184'ün, bağırsak dokusunda kaspaz 3, 8, ve 9 düzeylerini istatistiksel anlamlı düzeyde azalttığı görülmüştür. Akciğer dokusunda ise kaspaz 8 enzim düzeyini azaltmış olmasına karşın bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular, JZL184'ün MAGL enzimini inhibe etmesi sonucu ortamda en çok bilinen endokannabinoidlerden biri olan 2-AG'nin tonusunun artarak CB1 ve CB2 reseptörlerine non-selektif bağlanmasıyla intrensek ve ekstrensek apoptotik mekanizmalar üzerinde rol oynadığını göstermektedir.

Liu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlarda paraquat (PQ: herbisit, oksidatif stres ve akciğer hasarına neden olur) ile indüklenen proinflamatuvar aktivitenin düzenlenmesinde CB2 reseptörünün etkileri araştırılmıştır. Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrılmıştır. PQ'ya maruz kalmadan 1 saat önce i.p. enjeksiyonla bir gruba düşük (5 mg/kg), bir gruba yüksek (20 mg/kg) dozlarda CB2 agonisti olan JWH133 uygulanmıştır. PQ'ya olan maruziyetin 4., 8., 24. ve 72. saatlerinde, TNF- $\alpha$  ve IL-1-seviyelerini belirlemek için bronkoalveolar lavaj sıvısı ve karotid arterden PaO<sub>2</sub> seviyesi ölçümü için kan örnekleri toplanmıştır. PQ maruziyetinden 72 saat sonra, akciğer yaş-kuru ağırlık oranları, miyeloperoksidaz aktivitesi, akciğer

histopatolojisi, CB2'nin MAPK'lar (ERK1 / 2, p38MAPK ve JNK1 / 2) ve NF-BP65'in protein ekspresyonu üzerine etkilerini araştırmak için akciğerden doku örnekleri alınmıştır. JWH133 ile ön işleme tabi tutulan sıçanlarda, PQ kaynaklı akciğer ödemi ve akciğerde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin önemli ölçüde hafiflediği görülmüştür. PQ ile indüklenen TNF- $\alpha$  ve IL-1 sekresyonu, arter kanında PaO<sub>2</sub> artışı ve akciğer dokusundaki MPO seviyelerinin de önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. JWH133'ün, CB2 reseptörünü etkili bir şekilde aktive ederek MAPK ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. JWH133 dozu arttırıldığında akciğer hasarının anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Çalışmanın sonuçları, JWH133 tarafından CB2 reseptörünün aktive edilmesinin, PQ kaynaklı akut akciğer hasarına karşı koruyucu aktivite gösterdiğini ve potansiyel olarak MAPK ve NF- $\kappa$ B yollarının aktivasyonunun baskılanmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir (215).

Li Q ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada CB2 reseptör agonisti JWH133'ün, miyokardiyal İ/R hasarındaki antiapoptotik etki mekanizması araştırılmıştır. Koroner arterde 30 dakika iskemi, 120 dakika reperfüzyon uygulaması yapılmıştır. JWH133, iskemiden 5 dakika önce verilmiştir. Miyokardiyal histopatolojik boyama ve apoptoz indeksi incelenmiştir. JWH133'ün, infarkt alanını anlamlı oranda küçülttüğü, kaspaz 3 ve 9 aktivitesini ve sitokrom C'nin hücre dışına çıkışını azalttığı, fosforile Akt (Serin/treonin kinaz ailesinin üyelerinden biridir, hücre içi sinyal iletiminde rol oynar ve hücrenel düzenleyici mekanizmalarda yer alır)'yi arttırdığı saptanmıştır. Tüm bu bulguların PI3K inhibitörü wortmannin ve CB2 reseptör antagonisti AM630 tarafından geriye döndürüldüğü gözlenmiştir. Bu sonuçlar, CB2 reseptörlerinin JWH133 ile aktive edilmesinin, iskemi reperfüzyona bağlı apoptozu, PI3K/Akt sinyal yolağı üzerinden inhibe ettiğini göstermektedir (214).

Çalışmamızda CB2 reseptör agonisti JWH133'ün mezenter İ/R hasarına bağlı gelişen akciğer ve bağırsak hasarında, akciğer dokusunda kaspaz 3, 8 ve 9 enzim düzeyleri üzerine etkisinin olmadığı, bağırsak dokusunda ise kaspaz 9 üzerine etkisinin olmadığı, kaspaz 3 ve 8 enzim düzeylerini azalttığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Li Q ve ark. alışmalarında 30 dakika iskeminin ardından 120 dakika reperfüzyon yapmış, JWH133'ü ise, 20 mg / kg dozunda iskemi işleminden 5 dakika önce intravenöz olarak uygulamışlardır. Bu durum, JWH133'ün erken dönemde reperfüzyon hasarına bağlı olarak tetiklenen apoptoz mekanizmaları üzerine etkisinin olduğunu, geç dönemde etkisinin azalabileceğini veya doza bağlı olarak farklı farmakolojik etkinin olduğunu düşündürmektedir.

Endokannabinoid sisteminin gastrointestinal sistem inflamasyonu üzerinde CB1 ve CB2 reseptörleri aracılı olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu reseptörlerin, akut pankreatit ve proinflamatuvar sitokinlerin indüklenmesine yol açan yollarda rol oynayan p38 MAPK ve c-Jun NH(2)-terminal kinazı (JNK) aktive ettikleri bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda Michler ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada deneysel kannabinoid reseptörlerinin aktivasyonunun akut pankreatit modeli ve MAPK (sinyalin hücre içerisine reseptörler vasıtasıyla iletiminden sorumlu) üzerindeki rolü araştırılmıştır. Akut pankreatit indüksiyonundan 30 dakika önce non-selektif CB1/CB2 reseptör agonisti HU210 (50 ng / g, vücut ağırlığı), selektif CB2 reseptör agonisti JWH133 (5 µg/g, vücut ağırlığı), selektif CB1 reseptör antagonisti AM281 (1 mg/kg, vücut ağırlığı), selektif CB2 reseptör antagonisti AM630 (1 µg/g, vücut ağırlığı) uygulanmıştır. Deneyde çözücü olarak kullanılan DMSO ve Tocrisolve'un gözlemlenen parametreler üzerine etkisi olmadığı belirtilmiştir. Art arda antagonist ve agonist kullanılan deneylerde, ilgili antagonist, agonistten 30 dakika önce uygulanmıştır. Pankreatik lizatlar, p38 ve JNK'ya karşı fosfor spesifik antikolar kullanılarak Western blot tekniği ile incelenmiştir. Kantitatif PCR verileri, Western blot deneyleri ve immünohistokimya analizleri, CB1 ve CB2'nin fare pankreatik asinuslarında bulunduğunu açıkça göstermektedir. Akut pankreatit varlığında, apoptotik hücrelerde özellikle CB2 düzeyinde yükselme meydana gelmiştir. Non-selektif CB1/ CB2 agonisti HU210'un, şiddetli pankreatit hasarı üzerine olumlu yönde etki sağladığı, bu etkiyi CB2 reseptörü aracılığıyla oluşturduğu düşünülmektedir. Selektif CB2 reseptör agonisti JWH133'ün akut pankreatiti iyileştirdiği ve p38 MAPK (çevresel strese karşı cevap oluşturan önemli bir protein kinaz) aktivasyonunu zayıflattığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile akut pankreatitte CB2 reseptör aktivasyonunun pankreatiti iyileştiren mekanizmalarda önemli rol oynadığı, bu aktivasyonun akut pankreatite karşı koruyucu etkisini olduğu ve p38 MAPK, JNK (hücre gelişimi, büyümesi,apoptozis ve immün cevaptan sorumlu) ve MAPK kinaz kinaz (MK2)'ın bu mekanizmalarda rol oynadığı ilk kez gösterilmiştir. CB2 agonistlerinin insanda akut pankreatit tedavisinde kullanımını konusunda çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir (226).

Feizi ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada fare böbrek İ/R modeli uygulanmıştır. Böbrek arterinde 30 dakika iskemi, 2 ve 24 saat reperfüzyon uygulanmıştır. CB1 ve CB2 reseptör agonistlerinin farklı dozları iskemiden 30 dakika önce i.p. olarak uygulanmıştır. Deney sonucunda, histopatolojik inceleme ile böbrek

hasarı 0-4 arasında derecelendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, kannabinoidlerin faredeki böbrek İ/R hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır (230).

Çalışmamızda, akciğer dokusunda, JWH133'ün nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını istatistiksel anlamlı oranda azalttığı, hemoraji üzerine etkisi olmamakla beraber alveolar konjesyonda iskemi grubuna göre azalma sağladığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı görülmüştür. Bağırsak dokusunda ise, JWH133'ün intestinal mukozal hasar üzerinde herhangi bir koruyucu etki göstermediği gözlemlenmiştir. Bahsi geçen çalışmalar (226, 230) ve literatürde yer alan farklı deney modelleri ile yapılan çalışmalar (212, 214) JWH133'ün mezenter İ/R'ye bağlı gelişen doku hasarı üzerine etkisine kısmen açıklama getirmektedir.

Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, akciğer ve bağırsakta varlığı gösterilen kannabinoid reseptörlerinin mezenter İ/R aracılı oluşturulan akciğer ve bağırsak doku hasarında; patofizyolojik mekanizmalar üzerinde rol oynayabildiği, MAGL enzim inhibitörü JZL184'ün 8 mg/kg dozunda, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti CB'nin 10 mg/kg dozunda ve selektif CB2 reseptör agonisti JWH133'ün 10 mg/kg dozunda bu hasara karşı koruyucu potansiye sahip olduğunu göstermiştir.

Çalışma sonucunda, mezenter İ/R aracılı gelişen akciğer ve bağırsak doku hasarı ve apoptotik yollar üzerine tüm maddelerin etkileri incelendiğinde en etkili maddenin MAGL inhibitörü olan JZL184 olduğu görülmüştür. JZL184, hem apoptotik yollar üzerinde hem de doku hasarının iyileşmesinde etkili olmuştur. İkinci en etkili madde ise non-selektif kannabinoid reseptör agonisti CB'dir. CB, hem akciğer hem de bağırsak dokusunda apoptotik yollarda önemli rol oynayan kaspaz 3,8 ve 9 düzeylerini anlamlı oranda azaltmıştır. JZL184'ün doku hasarı üzerine etkisi ile CB'nin intrinsek ve ekstrinsek apoptotik yollar üzerine etkisi iki maddenin kombine halde kullanımı hem endokannabinoid tonusu artırılarak hem de dışarıdan non-selektif reseptör agonisti verilerek kannabinoidlerin CB1 VE CB2 reseptörleri aracılığıyla gösterdikleri etkileri potansiyalize olabilecek ve tedavinin başarısını arttırabilecektir. Etkililik açısından üçüncü sırada CB2 reseptör agonisti JWH133 yer almaktadır. JWH133, akciğer doku hasarında nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını azaltmış, bağırsak hasarı ve apoptotik yollar üzerine etki göstermemiştir. Antiinflamatuvar yanıtın oluşması ve immünmodülatör etkisi üzerine birçok çalışma bulunan CB2 reseptör agonistlerinden biri olan JWH133'ün çalışmamızda beklenen etkiyi oluşturamadığı görülmüştür. Bu durum yapılan çalışmalar incelendiğinde JWH133'ün erken dönemde reperfüzyon hasarı üzerine

etkisinin daha fazla olduğunu, bu nedenle çalışmamızda olduğu gibi 24 saat gibi uzun süreyle oluşturulan reperfüzyon hasar modelinde JWH133'ün dozunun artırılması gerektiğini düşündürmektedir.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda, mezenter İ/R modeli ile akut akciğer hasarı oluşturulmuştur. MAGL enzim inhibitörü JZL184, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti CB ve selektif CB2 reseptör agonisti JWH133'ün mezenter İ/R aracılı akut akciğer hasarına karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır.

1. JZL184'ün kullanılan doz ve sürede, mezenter İ/R ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde hematoksilen-eozin boyamada;
  - Akciğer dokusunda alveolar konjesyon, hemoraji, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını anlamlı oranda azalttığı,
2. JZL184'ün kullanılan doz ve sürede, mezenter İ/R ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde immunohistokimyasal incelemede;
  - Akciğer dokusunda kaspaz 8 boyanmasını anlamlı oranda azalttığı,
  - Bağırsak dokusunda kaspaz 3, 8 ve 9 boyanmalarını anlamlı oranda azalttığı,
3. JWH133'ün kullanılan doz ve sürede, mezenter İ/R ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde, nötrofilik infiltrasyon ve alveolar duvar kalınlığı artışını anlamlı oranda azalttığı, incelediğimiz apoptotik yollar (kaspaz 3, 8 ve 9) üzerine akciğer ve bağırsak dokusunda etki göstermediği,
4. CB'nin kullanılan doz ve sürede, mezenter İ/R ile oluşturulan akut akciğer hasarı modelinde immunohistokimyasal incelemede;
  - Akciğer dokusunda kaspaz 3, 8 ve 9 boyanmasını anlamlı oranda azalttığı,
  - Bağırsak dokusunda, kaspaz 3, 8 ve 9 boyanmalarını anlamlı oranda azalttığı,
5. Hematoksilen-eozin boyamada bağırsak dokusunda, kullanılan her üç madde ile de, intestinal mukozal hasar üzerinde azalma saptandığı ancak bu azalmanın istatistiksel anlamlı bulunmadığı saptanmıştır.
6. Bu sonuçlar, endojen kannabinoidleri yıkan enzim inhibitörü, nonselektif kannabinoid reseptör agonisti ve CB2 selektif reseptör agonistinin mezenter İ/R sonucu oluşan akciğer hasarı üzerine farklı mekanizmalar aracılığıyla endojen kannabinoid tonüsünü artırılmasını sağlayarak iyileştirici yönde etki ettiklerini göstermektedir.

7. Çalışma sonuçlarımız, MAGL enzim inhibitörü JZL184, non-selektif kannabinoid reseptör agonisti CB ve selektif CB2 reseptör agonisti JWH133'ün ve genel anlamda endojen kannabinoidleri yıkan enzim inhibitörleri, nonselektif kannabinoid reseptör agonistleri ve CB2 selektif reseptör agonistlerinin pulmoner hastalıkların tedavisinde potansiyel bir tedavi hedefi olabileceklerini desteklemektedir.
8. Çalışmamızda hem doku hasarı hem de apoptotik mekanizmalar üzerine etki gösteren JZL184'ün en etkili madde olduğu, etki açısından ikinci sırada yer alan CB ile potansiyalize bir etki yaratacağından dolayı kombine halde kullanımlarının doku hasarının tedavisinde ve apoptozun engellenmesinde potansiyel bir tedavi hedefi olabileceklerini düşünülmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Zimmerman BJ, Granger DN Reperfusion injury. *The Surgical Clinics of North America* 72 (1): 65-83, 1992.
2. Cho JS, Carr JA, Jacobsen G, Shepard AD, Nypaver TJ, Reddy DJ. Long-term outcome after mesenteric artery reconstruction: A 37-year experience. *Journal of Vascular Surgery* 35 (3):453-460, 2002.
3. Mastoraki A, Mastoraki S, Tziava E, Touloumi S, Krinos N, Danias N, Lazaris A, Arkadopoulos N. Mesenteric ischemia: Pathogenesis and challenging diagnostic and therapeutic modalities. *World J Gastrointest Pathophysiol* 15; 7(1): 125-130, 2016.
4. Kärkkäinen JM. Acute mesenteric ischemia in elderly patients. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 10(9):985-8, 2016.
5. Yusifzade K, Akin M, Isıkgonul I, Gulbahar O, Anadol AZ, Kurukahvecioglu O, Ercan S, Sare M. The protective role of anandamide in mesenteric ischemia reperfusion injury in guinea pig. *Bratislavske lekarske listy* 110 (7): 379-384, 2009.
6. Turana İ, Özaçmaka HS, Barut F, Özaçmaka VH, Uçan B. İntestinal iskemi/reperfüzyon modelinde tiroid hormon ön koşullanmasının ince bağırsak ve akciğer hasarı üzerine etkisi. *Medical Journal of Western Black Sea* 3:104-111, 2017.
7. How CK, SK H, Chen LK, Yang CM, Huang HH, Shih HC, Huang MS, Chiou SH , Lee CH, Juan CC. Induced pluripotent stem cells alleviate lung injury from mesenteric ischemia-reperfusion. *J Trauma Acute Care Surg* 79(4):592-601, 2015.
8. Yuan B, Xiong LL, Wen MD, Zhang P, Ma HY, Wang TH, Zhang YH. Interleukin-6 RNA knockdown ameliorates acute lung injury induced by intestinal ischemia reperfusion in rats by upregulating interleukin-10 expression *Molecular Medicine Reports* 16: 2529-2537.
9. Fouad AA, Jresat I. Therapeutic potential of cannabidiol against ischemia/reperfusion liver injury in rats. *European Journal of Pharmacology* 670:216–223, 2011.

10. Borrelli F, Aviello G, Romano B, Orlando P, Capasso R, Maiello F, Guadagno F, Petrosino S, Capasso F, Di Marzo V, Izzo AA. Cannabidiol, a safe and non-psychoactive ingredient of the marijuana plant *Cannabis sativa*, is protective in a murine model of colitis. *J Mol Med (Berl)* 87(11):1111-21, 2009.
11. Wang S, Fan L, Gao K, Li G. The protective effect of ischemic preconditioning associated with altered gene expression profiles in intestinal grafts after reperfusion. *J Surg Res* 15;153(2):340-6, 2009.
12. Topuz RD. Kannabinoidlerin farmakolojisi. *Turkiye Klinikleri* 6(1):6-14, 2018.
13. Gündüz Ö. Endokannabinoid sistem. *Turkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics* 6(1):15-24, 2018.
14. Hryhorowicz S, Walczak M, Zakerska-Banaszak O, Słomski R, Skrzypczak-Zielin'ska M. Pharmacogenetics of Cannabinoids. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 43:1–12, 2018.
15. Muller C, Morales P, Reggio PH. Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Front Mol Neurosci* 15;11:487, 2019.
16. Navarro G, Reyes-Resina I, Rivas-Santisteban R, Sánchez de Medina V, Morales P, Casano S, Ferreiro-Vera C, Lillo A, Aguinaga D, Jagerovic N, Nadal X, Franco R. Cannabidiol skews biased agonism at cannabinoid CB1 and CB2 receptors with smaller effect in CB1-CB2 heteroreceptor complexes. *Biochem Pharmacol* 57:148-158, 2018.
17. Apostu D, Lucaciu O, Mester A, Benea H, Oltean-Dan D, Onisor F, Baciut M, Bran S. Cannabinoids and bone regeneration. *Drug Metab Rev* 31:1-20, 2019.
18. Alphan ET, Yılmaz N. Endokannabinoid sistemin, enerji metabolizması ve obeziteye etkisi. *Marmara Medical Journal* 20(3);202-214, 2007.
19. Viana TG, Bastos JR, Costa RB, Hott SC, Mansur FS, Coimbra CC, Resstel LB, Aguiar DC, Moreira FA. Hypothalamic endocannabinoid signalling modulates aversive responses related to panic attacks. *Neuropharmacology* 21;148:284-290, 2019.
20. Pierrakosa C, Karanikolasb M, Scollettac S, Karamouzod V, Velissaris D. Acute respiratory distress syndrome: Pathophysiology and therapeutic options. *J Clin Med Res* 4(1):7-16, 2011.
21. Çalışkan T, Çiftçi F. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu (ARDS): Dün, Bugün, Yarın. *Yoğun Bakım Dergisi* 11(1):13-20, 2013.

22. Johnson ER, Matthay MA. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 23(4):243-52, 2010.
23. Ragaller M, Richter T. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *J Emerg Trauma Shock* 3(1):43-51, 2010.
24. Murphy KC, Kay D, Davenport DL, Bernard A. Decision tool for predicting outcomes in geriatric acute mesenteric ischemia. *Am Surg* 1;84(8):1247-1251, 2018.
25. Fanelli V, Vlachou A, Ghannadian S, Simonetti U, Slutsky AS, Zhang H. Acute respiratory distress syndrome: new definition, current and future therapeutic options. *Journal of Thoracic Disease*, 5 (3):326-334, 2013.
26. Raghavendran K, Napolitano LM. ALI and ARDS: Challenges and advances. *Critical Care Clinics* 27 (3): 13-14, 2011.
27. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 2:319–323, 1967.
28. Bernard GR, Artigas KL, Brigham JC, Falke K, Hudson L, Lamy M, LeGall JR, Morris A, Spragg R. Report of the American-European Consensus Conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination. *Intensive Care Medicine* 20:225-232, 1994.
29. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: The Berlin Definition. *JAMA* 307 (23):2526-2533, 2012.
30. Özyurt Y, Erkal H, Demirhan R, Arıkan Z. Akut respiratuar distres sendromu (ARDS). *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 10:126-30,2002.
31. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *The American review of respiratory disease* 138 (3):720-723, 1988.
32. Altıntaş ND, İskit AT. Akut solunum sıkıntısı sendromu tanısı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 57(2): 228-236, 2009.
33. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R. The American-European Consensus Conference on ARDS: Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 149:818-24, 1994.

34. Levitt JE, Calfee CS, Goldstein BA, Vojnik R, Matthay MA. Early acute lung injury: Criteria for identifying lung Injury prior to the need for positive pressure ventilation Crit Care Med 41(8): 1929–1937, 2013.
35. Gibelin A, Parrot A, Maitre B, Brun-Buisson C, Mekontso Dessap A, Fartoukh M, de Prost N. Acute respiratory distress syndrome mimickers lacking common risk factors of the Berlin definition. Intensive Care Medicine 42 (2):164-172, 2016.
36. Cardinal-Fernández P, Correger E, Villanueva J, Rios. Acute respiratory distress: from syndrome to disease. Medicina Intensiva 40(3):169-175, 2016.
37. Jeon K. Pharmacotherapy for Acute Respiratory Distress Syndrome: Limited Success to Date. Tuberc Respir Dis 80:311-312, 2017.
38. Gill SE, Rohan M, Mehta S. Role of pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis in murine sepsis-induced lung injury in vivo. Respiratory research 16:(109), 2015.
39. Matthay MA, Zemans RL. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. Annual review of pathology 6:147-163, 2011.
40. Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. Seminars in Cancer Biology, 6 (1): 3-16, 1995.
41. Antonelli M, Azoulay E, Bonten M, Chastre J, Citerio G, Conti G, De Backer D, Lemaire F, Gerlach H, Groeneveld J, Hedenstierna G, Macrae D, Mancebo J, Maggiore SM, Mebazaa A, Metnitz P, Pugin J, Wernerman J, Zhang H. Year in review in Intensive Care Medicine, 2008: II. Experimental, acute respiratory failure and ARDS, mechanical ventilation and endotracheal intubation. Intensive Care. Medicine 35 (2):215-231, 2009.
42. Constantin JM, Cayot-Constantin S, Roszyk L, Futier E, Sapin V, Dastugue B, Bazin JE, Rouby JJ. Response to recruitment maneuver influences net alveolar fluid clearance in acute respiratory distress syndrome. Anesthesiology 106(5):944-51, 2016.
43. Thomas RM, Matute-Bello G. Experimental models and emerging hypotheses for acute lung injury. Critical Care Clinics 27(3):735-52, 2011.
44. Pittet JF, Mackersie RC, Martin TR, Matthay MA. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. Am J Respir Crit Care Med 155(4):1187-205, 1997.

45. Hite RD, Morris PE Acute respiratory distress syndrome: Pharmacological treatment options in development. *Drugs* 61(7):897-907, 2001.
46. Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Arch Pathol Lab Med* 140(4):345-50, 2016.
47. American Thoracic Society (2019). Email: [atsinfo@thoracic.org](mailto:atsinfo@thoracic.org). *Animal Models of Acute Lung Injury*. Erişim adresi: <http://www.thoracic.org/professionals/clinical-resources/critical-care/critical-care-research/animal-models-of-acute-lung-injury.php> Erişim Tarihi: 01.05.2019.
48. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *American Journal of Physiology* 295(3), L379-99, 2008.
49. Martin TR, JC Mathison, PS Tobias, DJ Leturcq, AM Moriarty, Maunder RJ, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein enhances the responsiveness of alveolar macrophages to bacterial lipopolysaccharide. Implications for cytokine production in normal and injured lungs. *J Clin Invest* 90:2209-19, 1992.
50. Yasuda T. Hyaluronan inhibits akt, leading to nuclear factor- $\kappa$ B down-regulation in lipopolysaccharide stimulated U937 macrophages. *J Pharmacol Sci* 115(4): 509-15, 2011.
51. Kim SJ, Kim HM. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14. *BMB Rep.* 50(2):55-57, 2017.
52. Bastarache JA, Blackwell TS. Development of animal models for the acute respiratory distress syndrome. *Dis Model Mech* 2(5-6):218-23, 2009.
53. Ye J, Guan M, Lu Y, Zhang D, Li C, Zhou C. Arbutin attenuates LPS-induced lung injury via Sirt1/ Nrf2/ NF- $\kappa$ Bp65 pathway. *Pulm Pharmacol Ther* 54:53-59, 2019.
54. de Souza Xavier Costa N, Ribeiro Ju'nior G, dos Santos Alemany AA, et al. Early and late pulmonary effects of nebulized LPS in mice: An acute lung injury model. *Plos One* 12(9):20185474, 2017.
55. Sipahi EY, Atalay F. Akut Akciğer Hasarı Deney Modelleri Experimental Models of Acute Lung Injury *Eurasian J Pulmonol* 16: 69-77, 2014.
56. Gramatté J, Pietzsch J, Bergmann R, Richter T. Causative treatment of acid aspiration induced acute lung injury - Recent trends from animal experiments and critical perspective. *Clin Hemorheol Microcirc* 69(1-2):187-195, 2018.

57. Kardara M, Hatziantoniou S, Sfika A, Vassiliou AG, Mourelatou E, Muagkou C, Armaganidis A, Roussos C, Orfanos SE, Kotanidou A, Maniatis NA. Caveolar uptake and endothelial-protective effects of nanostructured lipid carriers in acid aspiration murine acute lung injury. *Pharm Res* 30:1836–1847, 2013.
58. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS. mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome, *Am J Respir Crit Care Med* 160(1):109-16, 1999.
59. Dos Santos CC. Hyperoxic acute lung injury and ventilator-induced/associated lung injury: new insights into intracellular signaling pathways. *Crit Care* 11(2):126, 2007.
60. Kallet RH, Matthay MA. Hyperoxic acute lung injury. *Respiratory care* vol. 58,1: 123-41, 2013.
61. Halliday HL. The fascinating story of surfactant. *J Paediatr Child Health*. 53(4):327-332, 2017.
62. Thomas L, et al. Oleic Acid vs Saline Solution Lung Lavage-Induced Acute Lung Injury. *Chest* 130(2):392 – 401, 2006.
63. Muellenbach RM, Kredel M, Bernd Z, et al. Acute respiratory distress induced by repeated saline lavage provides stable experimental conditions for 24 hours in pigs. *Exp Lung Res* 35:222–33, 2009.
64. Ballard-Croft C, Wang D, Sumpter LR, Zhou X, Zwischenberger JB. Large-Animal Models of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Ann Thorac Surg* 93(4):1331-9, 2012.
65. Neudecker V, Brodsky KS, Clambey ET, et al. Neutrophil transfer of miR-223 to lung epithelial cells dampens acute lung injury in mice. *Sci Transl Med* 9(408):eaah5360, 2017.
66. Altemeier WA, Liles WC, Villagra-Garcia A, Matute-Bello G, Glenn RW. Ischemia-reperfusion lung injury is attenuated in MyD88-deficient mice. *PLoS One* 8(10):e77123, 2013.
67. Pak O, Sydykov A, Kosanovic D, Schermuly RT, Dietrich A, Schröder K, Brandes RP, Gudermann T, Sommer N, Weissmann N. Lung Ischaemia-Reperfusion Injury: The Role of Reactive Oxygen Species. *Adv Exp Med Biol* 967:195-225, 2017.

68. Laubach VE, Sharma AK. Mechanisms of lung ischemia-reperfusion injury. *Current opinion in organ transplantation* 21(3):246-52, 2016.
69. Takeuchi K, Komatsu Y, Nakamori Y, Kotani T. A Rat Model of Ischemic Enteritis: Pathogenic Importance of Enterobacteria, iNOS/NO, and COX-2/PGE2. *Curr Pharm Des.* 23(27):4048-4056, 2017.
70. Gubernatorova EO, Perez-Chanona E, Koroleva EP, Jobin C, Tumanov AV. Murine Model of Intestinal Ischemia-reperfusion Injury. *J Vis Exp* (111):53881, 2016.
71. Sheu EG, Wakatsuki K, Oakes S, Carroll MC, Moore MD. Prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in humanized mice. *Surgery* 160(2):436-442, 2016.
72. Impellizzeri D, Cordaro M, Campolo M, Gugliandolo E, Esposito E, Benedetto F, Cuzzocrea S, Navarra M. Anti-inflammatory and Antioxidant Effects of Flavonoid-Rich Fraction of Bergamot Juice (BJe) in a Mouse Model of Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury. *15, Front Pharmacol* 7:203, 2016.
73. Gonzalez LM, Moeser AJ, Blikslager AT. Animal models of ischemia-reperfusion-induced intestinal injury: progress and promise for translational research. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 308(2):G63–G75, 2014.
74. Cho, J.S., Carr, J.A., Jacobsen, G., Shepard, A.D., Nypaver, T.J., Reddy, D.J. Long-term outcome after mesenteric artery reconstruction: A 37-year experience. *Journal of vascular surgery* 35 (3), 453-460, 2002.
75. Cross AS, Opal SM, Sadoff JC, Gemski P. Choice of bacteria in animal models of sepsis. *Infect Immun* 61(7):2741–2747, 1993.
76. Mutate-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 295: L379, 2008.
77. Rieder G, Merchant JL, Haas R. *Helicobacter pylori* cag-type IV secretion system facilitates corpus colonization to induce precancerous conditions in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* 128(5):1229-1242, 2005.
78. Patel M, Rojavin Y, Jamali AA, Wasielewski SJ, Salgado CJ. Animal models for the study of osteomyelitis. *Semin Plast Surg* 23(2):148–154, 2009.
79. Garrido AG, Poli de Figueiredo LF, Silva MR. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. *Acta Cirurgica Brasileira* 19(2), 82-88, 2004.
80. Miguel GT. Cecal ligation puncture procedure. *J Vis Exp* 7;(51), 2011.

81. Villar J, Ribeiro SP, Mullen JB, Kuliszewski M, Post M, Slutsky AS. Induction of the heat shock response reduces mortality rate and organ damage in a sepsis-induced acute lung injury model. *Crit Care Med* 22:914-21, 1994.
82. Ruiz S, Vardon-Bounes F, Merlet-Dupuy V, et al. Sepsis modeling in mice: ligation length is a major severity factor in cecal ligation and puncture. *Intensive Care Med Exp* 4(1):22, 2016.
83. Wen H. Sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Methods Mol Biol* 1031:117–124, 2013.
84. Gonçalves-de-Albuquerque CF, Silva AR, Burth P, de Moraes IM, Oliveira FM, Younes-Ibrahim M, dos Santos Mda C, D'Ávila H, Bozza PT, Faria Neto HC, Faria MV. Oleic acid induces lung injury in mice through activation of the erk pathway. *Mediators of Inflammation* 2012:956509, 2012.
85. Li X, Liu Y, Wang Q, Zhu Y, Lv X, Liu J. A novel and stable "two-hit" acute lung injury model induced by oleic acid in piglets. *Acta Vet Scand* 51(1):17, 2009.
86. Gonçalves-de-Albuquerque CF, Silva AR, Burth P, Castro-Faria MV, Castro-Faria-Neto HC. Acute respiratory distress syndrome: Role of oleic acid-triggered lung injury and inflammation. *Mediators Inflamm* 260465, 2015.
87. Köksel O, Tamer L, Özdülger A, Erçil M, Ercan B, Kanık A. Oleik asit ile oluşturulan akut akciğer hasarında görülen nitrik oksit metabolitlerinin artışı üzerine N-Asetilsistein'in etkisi. *T Klin J Med Sci* 14:323-327,2004.
88. Castillo RL, Carrasco Loza R, Romero-Dapueto C. Pathophysiological Approaches of Acute Respiratory Distress syndrome: Novel Bases for Study of Lung Injury. *Open Respir Med J* 9:83–91, 2015.
89. Sipahi EY. Causes of failure in acute respiratory distress syndrome modeling and treatment in animal research and new approaches. *World J Respirol* 5(2): 65-68, 2015.
90. Kerr DM, Harhen B, Okine BN, Egan LJ, Finn DP, Roche M. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 attenuates LPS-induced increases in cytokine expression in the rat frontal cortex and plasma: differential mechanisms of action. *British Journal of Pharmacology* 169(4):808-19, 2013.
91. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Medicine* 17:1391–1401, 2011.



92. Abakay U, Soylu S, Göksel S, Saraç B, Şahin İnan ZD, Çakmak E, et al. Role of pentoxifylline and iloprost in the prevention of ischemia-reperfusion injury in an experimental model of intestine ischemia-reperfusion in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 24:398-404, 2018.
93. Cagin YF, Atayan Y, Sahin N, Parlakpınar H, Polat A, Vardi N, Tagluk ME, Tanbek K, Yıldız A. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radic Res* 50(3):354-65, 2016.
94. Li Q, Cui S, Jing G, Ding H, Xia Z, He X. The role of PI3K/Akt signal pathway in the protective effects of propofol on intestinal and lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. *Acta Cir Bras.* 34(1):e20190010000005, 2019.
95. Kiraz HA, Poyraz F, Kip G, Erdem O, Alkan M, Arslan M, Özer A, Şivgin V, Çomu FM. The effect of levosimendan on myocardial ischemia-reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Libyan Journal of Medicine* 10:29269, 2015.
96. Bala et al. Acute mesenteric ischemia: Guidelines of the World Society of Emergency Surgery. *World Journal of Emergency Surgery* 12:38, 2017.
97. Kurtoglu M, Yanar H. Akut Mezenterik İskemi. *J Surg Med Sci* 1 (4):17-23, 2005.
98. Hohenwarter EJ. Chronic mesenteric ischemia: Diagnosis and treatment. *Semin Intervent Radiol.* 26(4):345-51, 2009.
99. Kolkman JJ, Geelkerken RH. Diagnosis and treatment of chronic mesenteric ischemia: An update. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 31(1):49-57, 2017.
100. Fantozzi ET, Rodrigues-Garbin S, Yamamoto Ricardo-da-Silva F, Oliveira-Filho RM, Spina D, Tavares-de-Lima W, Riffo-Vasquez Y. Acute lung injury induced by intestinal ischemia and reperfusion is altered in obese female mice. *Pulm Pharmacol Ther* 49:54-59, 2018.
101. Gutteridge JM, Halliwell B. Reoxygenation injury and antioxidant protection: a tale of two paradoxes. *Archives of biochemistry and biophysics* 283(2):223-226, 1990.
102. Stefanutti G, Vejchapipat P, Williams SR, Pierro A, Eaton S. Heart energy metabolism after intestinal ischaemia and reperfusion. *Journal of pediatric surgery* 39 (2):179-183, 2004.

103. Massberg S, Messmer K. The nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplantation proceedings* 30 (8):4217-4223, 1998.
104. Berlanga J, Prats P, Ramirez D, Gonzalez R, Lopez-Saura P, Aguiar J, Ojeda M, Boyle JJ, Fitzgerald AJ, Playford RJ. Prophylactic use of epidermal growth factor reduces ischemia/reperfusion intestinal damage. *The American journal of pathology* 161 (2):373-379, 2002.
105. Güngör Ö , Gürler ÖF , Öztürk C, Ramadan SU. Abdominal aorta anatomik varyasyonları AATD, 2(2): 53-58, 2017.
106. Chaudhuri KR, Thomaides T, Mathias CJ. Abnormality of superior mesenteric artery blood flow responses in human sympathetic failure. *J Physiol* 457:477-89, 1992.
107. Dobrucalı A (2019). Erişim Adresi: *Barsakların Vasküler Hastalıkları* [http://www.drahmetdobrucali.com/wpcontent/uploads/bagirsakların\\_vaskuler\\_hastalıkları.pdf](http://www.drahmetdobrucali.com/wpcontent/uploads/bagirsakların_vaskuler_hastalıkları.pdf). Erişim Tarihi:24.03.2019.
108. Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD Acute mesenteric ischemia: A clinical review. *Archives of internal medicine* 164 (10):1054-1062, 2004.
109. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *American Journal of Physiology. Heart and circulatory physiology* 301(5):H1723-1741, 2011.
110. Ozcan O, Erdal H, Yonden Z. İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış. *Mustafa Kemal Üniv Tıp Derg* 6(23): 27-33, 2015.
111. Nilsson UA, Schoenberg MH, Aneman A, Poch B, Magadum S, Beger HG, Lundgren O. Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. *Gastroenterology* 106(3):629-636, 1994.
112. Harrison, R. Physiological roles of xanthine oxidoreductase. *Drug metabolism reviews* 36 (2):363-375, 2004.
113. Stipek S, Novak L, Crkovska J, Zima T, Platenik J. Xanthine oxidoreductase. Biochemical, biological and pathogenic functions. *Sbornik lekarsky* 95(4):289-295, 1994.
114. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England journal of medicine* 312(3):159-163, 1985.

115. Blikslager AT, Roberts MC, Rhoads JM, Argenzio RA. Is reperfusion injury an important cause of mucosal damage after porcine intestinal ischemia? *Surgery* 121(5):526-534, 1997.
116. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Critical care medicine* 21(9):1376-1386, 1993.
117. Öztürk F. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 9(2) 143-148, 2002.
118. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer* 26 (4), 239-257, 1972.
119. Bayar M, Özer B, Beştaş A, Çeribaşı S, Özercan İ. Deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda anti-ngf uygulamasının apoptoz üzerindeki etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 30 (4):1127-1133, 2010.
120. Gültekin N, Karaoğlu K, Küçükateş E. Hücrede Apoptoz ve Sağkalım Mekanizmalarının Keşfedilmesi ve Yeni Potansiyel Tedavi Stratejileri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 36 (2):120-130, 2008.
121. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20:145-158, 2011.
122. Yazıcı P, Alizadehshargh S, Güner-Akdoğan G. Apoptoz: Düzenleyici moleküller, hastalıklarla ilişkisi ve apoptozu saptama yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 29(6):1677-86, 2009.
123. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. *Aging* 4 (5), 330-349, 2012.
124. Kiraz Y, Adan A, Kartal Yandim M, Baran Y. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. *Tumour Biol* 37(7):8471-86, 2016.
125. Sartorius U, Schmitz I, Krammer PH. Molecular mechanisms of death-receptor-mediated apoptosis. *Chembiochem* 2(1): 20-9, 2001.
126. Wu H, Che X, Zheng Q, Wu A, Pan K, Shao A, Wu Q, Zhang J, Hong Y. Caspases: A molecular switch node in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *Int J Biol Sci* 10(9): 1072-83, 2014.
127. McLuskey K, Mottram JC. Comparative structural analysis of the caspase family with other clan CD cysteine peptidases. *Biochem J* 466, 219–232, 2015.
128. Ghatage DD, Gosavi SR, Ganvir SM, Hazarey VK. Apoptosis: Molecular mechanism *India Journal of Orofacial Sciences* 4(2):103-107, 2012.

129. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 35(4):495-516, 2007.
130. Nagata S. Apoptosis and clearance of apoptotic cells. *Annu Rev Immunol.* 26;36:489-517, 2018.
131. Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: Function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol* 15(6):388-400, 2015.
132. Rastogi RP, Sinha RP. Apoptosis: Molecular mechanisms and pathogenicity. *EXCLI Journal* 8:155-181, 2009.
133. Ou L, Lin S, Song B, Liu J, Lai R, Shao L. The mechanisms of graphene-based materials-induced programmed cell death: a review of apoptosis, autophagy, and programmed necrosis. *Int J Nanomedicine* 12:6633-6646, 2017.
134. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends in biochemical sciences* 32 (1):37-43, 2007.
135. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, Santacroce R, Di Corcia MG, Lucchese A, Dini L, Pani P, Santacroce S, Simone S, Bucci R, Farber E. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 21(1):165-70, 2002.
136. Syntichaki P, Tavernarakis N. Death by necrosis. Uncontrollable catastrophe, or is there order behind the chaos?. *EMBO Rep* 3(7):604–609, 2002.
137. Lee SY, Ju MK, Jeon HM, et al. Regulation of tumor progression by programmed necrosis. *Oxid Med Cell Longev* 2018:3537471, 2018.
138. Zhang Q, Chen X, Guo H, et al. Latitudinal Adaptation and Genetic Insights Into the Origins of *Cannabis sativa* L. *Front Plant Sci.* 9:1876, 2018.
139. Shevyrin VA, Morzherin YY. Cannabinoids: structures, effects, and classification *Russ Chem Bull* 64: 1249, 2015.
140. Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin. Pharmacokinet* 42:327–360, 2003.
141. Chakravarti B, Ravi J, Ganju RK. Cannabinoids as therapeutic agents in cancer: current status and future implications. *Oncotarget* 5(15):5852-5872, 2014.
142. Shevyrin V, Melkozerov V, Endres GW, Shafran Y, Morzherin Y. On a new cannabinoid classification system: A sight on the illegal market of novel psychoactive substances. *Cannabis Cannabinoid Res* 1:186–194, 2016.

143. Bruni N, Della Pepa C, Oliaro-Bosso S, Pessione E, Gastaldi D, Dosio F. Cannabinoid delivery systems for pain and inflammation treatment. *Molecules* 23(10):2478, 2018.
144. Gamble LJ, Boesch JM, Frye CW, et al. Pharmacokinetics, safety, and clinical efficacy of cannabidiol treatment in osteoarthritic dogs. *Front Vet Sci* 5:165, 2018.
145. Franks LN, Ford BM, Madadi NR, Penthalala NR, Crooks PA, Prather PL. Characterization of the intrinsic activity for a novel class of cannabinoid receptor ligands: Indole quinuclidine analogs. *Eur J Pharmacol* 737:140-8, 2014.
146. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: A review. *Rev Bras Psiquiatr* 28: 153-157, 2006.
147. Chanda D, Neumann D, Glatz JFC. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multi-faceted therapeutic target. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 140:51-56, 2019.
148. Rees CL, White CM, Ascoli GA. Neurochemical Markers in the mammalian brain: Structure, roles in synaptic communication, and pharmacological relevance. *Curr Med Chem* 24(28):3077-3103, 2017.
149. Turcotte C, Blanchet MR, Laviolette M, Flamand N. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell Mol Life Sci* 73(23):4449-4470, 2016.
150. Navarro G, Reyes-Resina I, Rivas-Santisteban R, Sánchez de Medina V, Morales P, Casano S, Ferreiro-Vera C, Lillo A, Aguinaga D, Jagerovic N, Nadal X, Franco R. Cannabidiol skews biased agonism at cannabinoid CB1 and CB2 receptors with smaller effect. in CB1-CB2 heteroreceptor complexes. *Biochem Pharmacol* 157:148-158, 2018.
151. O'Sullivan SE. An update on PPAR activation by cannabinoids. *Br J Pharmacol* 173(12):1899-910, 2016.
152. Muller C, Morales P, Reggio PH. Cannabinoid Ligands Targeting TRP Channels. *Front Mol Neurosci* 11:487, 2019.
153. Uhelski ML, Cain DM, Harding-Rose C, Simone DA. The non-selective cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates responses of C-fiber nociceptors in a murine model of cancer pain. *Neuroscience* 247:84-94, 2013.

154. Howlett AC, Barth F, Bonner TI. International Union of Pharmacology: XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 54: 161-202, 2002.
155. Mackie K. Cannabinoid receptors: Where they are and what they do. *J Neuroendocrinol* 20 Suppl 1:10-4, 2008.
156. Fine PG, Rosenfeld MJ. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. *Rambam Maimonides Med J* 4(4):e0022, 2013.
157. Kumar A, Premoli M, Aria F, Bonini SA, Maccarinelli G, Gianoncelli A, Memo M, Mastinu A. Cannabimimetic plants: Are they new cannabinoidergic modulators? *Planta* 249(6):1681-1694, 2019.
158. Bonz A, Laser M, Küllmer S, Kniesch S, Babin-Ebell J, Popp V, Ertl G, Wagner JA. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 41: 657–664, 2003.
159. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International union of pharmacology. XXVII. classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 54: 161–202, 2002.
160. Liu QR, Pan CH, Hishimoto A, Li CY, Xi ZX, Llorente-Berzal A, Viveros MP, Ishiguro H, Arinami T, Onaivi ES, Uhl GR. Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): Identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav* 8: 519–530, 2009.
161. Tahamtan A, Samieipoor Y, Nayeri FS, Rahbarimanesh AA, Izadi A, Rashidi-Nezhad A, Tavakoli-Yaraki M, Farahmand M, Bont L, Shokri F, Mokhatri-Azad T, Salimi V. Effects of cannabinoid receptor type 2 in respiratory syncytial virus infection in human subjects and mice. *Virulence* 9(1):217-230, 2018.
162. Kurihara R, Tohyama Y, Matsusaka S, Naruse H, Kinoshita E, Tsujioka T, Katsumata Y, Yamamura H. Effects of peripheral cannabinoid receptor ligands on motility and polarization in neutrophil-like HL60 cells and human neutrophils. *J Biol Chem* 281(18):12908-18, 2006.
163. Turcotte C, Blanchet MR, Laviolette M, Flamand N. Impact of Cannabis, Cannabinoids and Endocannabinoids in the Lungs. *Front Pharmacol* 7:317, 2016.

- 164.Rieder SA, Chauhan A, Singh U, Nagarkatti M, Nagarkatti P. Cannabinoid-induced apoptosis in immune cells as a pathway to immunosuppression. *Immunobiology* 215(8):598–605, 2009.
- 165.Ulugöl A. Medical use and therapeutic targets for cannabinoids. *Turkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics* 6(1):42-50, 2018.
- 166.Kaur R, Ambwani SR, Singh S. Endocannabinoid System: A multi-facet therapeutic target. *Curr Clin Pharmacol* 11(2):110-7, 2016.
- 167.Sam AH, Salem V, Ghatei MA. Rimonabant: From RIO to Ban. *J Obes* 2011:432607, 2011.
- 168.McPartland JM, Duncan M, Di Marzo V, Pertwee RG Are cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *British Journal of Pharmacology* 172737–753, 2015.
- 169.Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature reviews Drug discovery* 3(9):771-784, 2004.
- 170.Devane WA, Hanus L, Brever A. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258:1946-1949, 1992.
- 171.Mechoulam R, Benshabat S, Hanus L. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 50: 83-90, 1995.
- 172.Reisenberg M, Singh PK, Williams G, Doherty P. The diacylglycerol lipases: structure, regulation and roles in and beyond endocannabinoid signalling. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 367: 3264–3275, 2012.
- 173.de Oliveira AB, de Mello MT, Tufik S, Peres MFP Weight loss and improved mood after aerobic exercise training are linked to lower plasma anandamide in healthy people. *Physiology & Behavior*, 201, 191-197, 2019.
- 174.Bondarenko AI, Panasiuk O, Okhai I, Montecucco F, Brandt KJ, Mach F. Direct activation of  $Ca^{2+}$  and voltage-gated potassium channels of large conductance by anandamide in endothelial cells does not support the presence of endothelial atypical cannabinoid receptor. *Eur J Pharmacol* 15:805:14-24, 2017.
- 175.Basavarajappa B.S. Critical enzymes involved in endocannabinoid metabolism. *Protein and peptide letters* 14(3):237-246, 2007.
- 176.Wang J, Ueda N. Biology of endocannabinoid synthesis system. *Prostaglandins & other lipid mediators* 89(3-4):112-119, 2009.

177. Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoid synthesis and degradation, and their regulation in the framework of energy balance. *Journal of Endocrinological investigation* 29(3 Suppl):15-26. (2006).
178. Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: To enhance or reduce? *Nature reviews. Drug Discovery* 7(5):438-455, 2008.
179. Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nature neuroscience*. 5:446–451, 2002.
180. Mateo Y, Johnson KA, Covey DP, et al. Endocannabinoid Actions on Cortical Terminals Orchestrate Local Modulation of Dopamine Release in the Nucleus Accumbens. *Neuron*. 96(5):1112–1126, 2017.
181. Christian C, Felder Michelle Glass. Cannabinoid receptors and their endogenous agonists. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 138:(1)179-200, 1998.
182. Fowler CJ. Transport of endocannabinoids across the plasma membrane and within the cell. *FEBS J* 280(9):1895-904, 2013.
183. Iannotti FA, Di Marzo V, Petrosino S. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Prog Lipid Res* 62:107-28, 2016.
184. Jiang SK, Zhang M, Tian ZL, Wang M, Zhao R, Wang LL, Li SS1, Liu M, Li JY, Zhang MZ, Guan DW. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 decreases inflammatory response in skeletal muscle contusion in rats. *European Journal Of Pharmacology* 761:1-10, 2015.
185. Labar G, Wouters J, Lambert DM. A review on the monoacylglycerol lipase: At the interface between fat and endocannabinoid signalling. *Curr. Med. Chem* 17:2588-2607, 2010.
186. Storr MA, Sharkey KA. The endocannabinoid system and gut-brain signalling. *Current opinion in pharmacology* 7(6):575-582, 2007.
187. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab* 17:475-490, 2013.
188. Gatta-Cherifi B, Cota D. New insights on the role of the endocannabinoid system in the regulation of energy balance. *Int J Obes (Lond)* 40(2):210-9, 2016.



- 189.D'Addario C, Di Bonaventura MVM, Pucci M, Romano A, Gaetani S, Ciccocioppo R, Cifani C, Maccarrone M. Endocannabinoid signaling and food addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 47:203-224, 2014.
- 190.Castillo PE, Younts TJ, Chávez AE, Hashimotodani Y. Endocannabinoid signaling and synaptic function *Neuron* 76:70-81, 2012.
- 191.Riebe CJ, Wotjak CT. Endocannabinoids and stress. *Stress* 14:384–397, 2011.
- 192.Basavarajappa BS, Shivakumar M, Joshi V, Subbanna S. Endocannabinoid system in neurodegenerative disorders. *J Neurochem* 142(5):624-648, 2017.
- 193.Rodrigo C, Rajapakse S. Cannabis and schizophrenia spectrum disorders: a review of clinical studies. *Indian J Psychol Med.* 31(2):62–70, 2009.
- 194.Woodhams SG, Chapman V, Finn DP, Hohmann AG, Neugebauer V. The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology* 124:105–120, 2017.
- 195.O'Sullivan SE. Endocannabinoids and the Cardiovascular system in health and disease. *Handb Exp Pharmacol.* 231:393-422, 2015.
- 196.Chanda D, Oligschlaeger Y, Geraets I, Liu Y, Zhu X, Li J, Nabben M, Coumans W, Luiken JJFP, Glatz JFC, Neumann D. 2-Arachidonoylglycerol ameliorates inflammatory stress-induced insulin resistance in cardiomyocytes. *J. Biol. Chem* 292:7105-7114, 2017.
- 197.Xiong Y, Yao H, Cheng Y, Gong D, Liao X, Wang R. Effects of monoacylglycerol lipase inhibitor URB602 on lung ischemia-reperfusion injury in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 506 (3): 578-584, 2018.
- 198.Long, JZ, Li W, Booker L, et al. Selective blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects *Nature Chemical Biology* 5(1), 37-44, 2009.
- 199.Kerr DM, Harhen B, Okine BN, Egan LJ, Finn DP, Roche M. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 attenuates LPS-induced increases in cytokine expression in the rat frontal cortex and plasma: Differential mechanisms of action. *Br J Pharmacol* 169(4):808-19, 2013.
- 200.The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) (2019). *CHEBI:95015 - 4-[bis(1,3-benzodioxol-5-yl)-hydroxymethyl]-1-piperidinecarboxylic acid (4-nitrophenyl) ester*. <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:95015>. Erişim Tarihi: 26.03.2019

201. U.S. National Library of Medicine (2019) Email: [info@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:info@ncbi.nlm.nih.gov). *Compound Summary*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/jzl184#section=Top>. Erişim Tarihi: 24.03.2019
202. Costola-de-Souza C, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, et al. Monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibition attenuates acute lung injury in mice. *PLoS One* 8(10):e77706, 2013.
203. Ghosh S, Wise LE, Chen Y, Gujjar R, Mahadevan A, Cravatt BF, Lichtman AH. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 suppresses inflammatory pain in the mouse carrageenan model. *Life sciences* 92 (8-9):498-505, 2013.
204. Alhouayek M, Lambert DM, Delzenne NM, Cani PD, Muccioli GG. Increasing endogenous 2-arachidonoylglycerol levels counteracts colitis and related systemic inflammation. *FASEB J.* 25(8):2711-21, 2011.
205. Millar SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE. A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. *Front Pharmacol* 26;9:1365,2018.
206. Arruza L, Pazos MR, Mohammed N, Escribano N, Lafuente H, Santos M, Alvarez-Díaz FJ, Hind W, Martínez-Orgado J. Cannabidiol reduces lung injury induced by hypoxic-ischemic brain damage in newborn piglets. *Pediatr Res* 82(1):79-86, 2017.
207. Ribeiro A, Paula VF, Pinheiro ML, Vitoretti LB, Mariano-Souza DP, Quinteiro-Filho WM, Akamine AT, Almeida VI, Quevedo J, Dal-Pizzol F, Hallak JE, Zuardi AW, Crippa JA, Palermo-Neto J. Cannabidiol, a non-psychoactive plant-derived cannabinoid, decreases inflammation in a murine model of acute lung injury: Role for the adenosine A2A receptor. *European Journal of Pharmacology* 678: 78–85, 2012.
208. U.S. National Library of Medicine (2019) Email: [info@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:info@ncbi.nlm.nih.gov). *Compound Summary*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cannabidiol#section=2D-Structure>. Erişim Tarihi: 26.03.2019.
209. Iannotti FA, Hill CL, Leo A, Alhusaini A, Soubrane C, Mazzarella E, Russo E, Whalley BJ, Di Marzo V, Stephens GJ. Nonpsychoactive plant cannabinoids, cannabidivarin (CBV) and cannabidiol (CB), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in vitro: Potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS Chem Neurosci* 19;5(11):1131-41, 2014.

210. Renard J, Norris C, Rushlow W, Laviolette SR. Neuronal and molecular effects of cannabidiol on the mesolimbic dopamine system: Implications for novel schizophrenia treatments. *Neurosci Biobehav Rev* 75:157-165, 2017.
211. Rong C, Lee Y, Carmona NE, Cha DS, Ragugett RM, Rosenblat JD, Mansur RB, Ho RC, McIntyre RS. Cannabidiol in medical marijuana: Research vistas and potential opportunities. *Pharmacol Res* 121:213-218, 2017.
212. Fu Q, Zheng Y, Dong X, Wang L, Jiang CG. Activation of cannabinoid receptor type 2 by JWH133 alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Oncotarget* 8(61):103486-103498, 2017.
213. U.S. National Library of Medicine (2019) Email: [info@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:info@ncbi.nlm.nih.gov). *Compound Summary*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6918505#section=Top>. Erişim Tarihi: 26.03.2019.
214. Li Q, Wang F, Zhang YM, Zhou JJ, Zhang Y. Activation of cannabinoid type 2 receptor by JWH133 protects heart against ischemia/reperfusion-induced apoptosis. *Cell Physiol Biochem* 31(4-5):693-702, 2013.
215. Liu Z, Wang Y, Zhao H, Zheng Q, Xiao L, Zhao M. CB2 receptor activation ameliorates the proinflammatory activity in acute lung injury induced by paraquat. *Biomed Res Int* 971750, 2014.
216. Zhao S, Zhang Y, Chen Q, et al. A modified "double-hit" induced acute lung injury model in rats and protective effects of tetramethylpyrazine on the injury via Rho/ROCK pathway. *Int J Clin Exp Pathol* 8(5):4581–4587, 2015.
217. Hierholzer C, Kalff JC, Audolfsson G, Billiar TR, Twardy DJ, Bauer AJ. Molecular and functional contractile sequelae of rat intestinal ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 68:1244-54, 1999.
218. Meduri GU, Annane D, Chrousos GP, Marik PE, Sinclair SE. Activation and regulation of systemic inflammation in ARDS: Rationale for prolonged glucocorticoid therapy. *Chest* 136(6):1631–1643, 2009.
219. Nadatani Y, Watanabe T, Shimada S, Otani K, Tanigawa T, Fujiwara Y. Microbiome and intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Biochem Nutr* 63(1):26–32, 2018.

220. Mukhopadhyay P, Rajesha M, Horváth B, Bártkaia S, Park O, Tanashian G, Gao RY, Patel V, Wink DA, Liaudet L, Haskó G, Mechoulam R, Pacher P. Cannabidiol protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammatory signaling and response, oxidative/nitrative stress, and cell death. *Free Radical Biology and Medicine* 50 (10): 1368-1381, 2011.
221. Ribeiro A, Almeida V, Costola-de-Souza C, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, Gimenes-Junior JA, Akamine AT, Crippa JA, Tavares-de-Lima W, Palermo-Neto J. Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 37(1):35-41, 2015.
222. Hayakawa K, Mishima K, Irie K, Hazekawa M, Mishima S, Fujioka M, Orito K, Egashira N, Katsurabayashi S, Takasaki K, et al. Cannabidiol prevents a post-ischemic injury progressively induced by cerebral ischemia via a high-mobility group box1-inhibiting mechanism. *Neuropharmacology* 55:1280–1286, 2008.
223. McKallip RJ, Jia W, Schlomer J, Warren JW, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Cannabidiol-induced apoptosis in human leukemia cells: A novel role of cannabidiol in the regulation of p22phox and Nox4 expression. *Mol Pharmacol* 70(3):897-908, 2006.
224. Karalezli İ. Apoptozis. *International Journal of Scientific and Technological Research* 2 (1):32-36, 2016.
225. Costola-de-Souza C, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, et al. Monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibition attenuates acute lung injury in mice. *PLoS One* 8(10):e77706, 2013.
226. Michler T, Storr M, Kramer J, Ochs S, Malo A, Reu S, Göke B, Schäfer C. Activation of cannabinoid receptor 2 reduces inflammation in acute experimental pancreatitis via intra-acinar activation of p38 and MK2-dependent mechanisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304(2):G181-92, 2013.
227. Ma M, Bai J, Ling Y, Chang W, Xie G. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 regulates apoptosis and migration of colorectal cancer cells. *Mol Med Rep* 13(3):2850-6, 2016.

- 228.Zhang X, Thayer SA. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 prevents HIV-1 gp120-induced synapse loss by altering endocannabinoid signaling. *Neuropharmacology* 128:269-281, 2018.
- 229.Cao Z, Mulvihill MM, Mukhopadhyay P, et al. Monoacylglycerol lipase controls endocannabinoid and eicosanoid signaling and hepatic injury in mice. *Gastroenterology* 144(4):808–817.e15, 2013.
- 230.Feizi A, Jafari MR, Hamedivafa F, Tabrizian P, Djanhangiri B. The preventive effect of cannabinoids on reperfusion-induced ischemia of mouse kidney. *Exp Toxicol Pathol* 60(4-5):405-10, 2008.



## 8. EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Onayı



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



**TOPLANTI TARİHİ** : 05.02.2014  
**TOPLANTI NO** : 2014/02

- 8- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2014-07-05/02 Protokol no'lu "Mezenter İskemi Reperfüzyonu Sonrasında Gelişen Uzak Organ Hasarı Üzerine Kannabinoidlerin Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Rafet KOCA**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı**

## 9. ÖZGEÇMİŞ

BURCU KARAÜZÜM, 1985 yılında Bolu'da doğdu. İlköğrenimini Zonguldak Kilimli İlköğretim Okulunda, orta ve lise öğrenimini ise Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2003-2007 yıllarında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimini tamamladı. 2007 yılında Hedef Ecza Deposunda mesul müdür olarak göreve başladı. 2009 yılında sahibi ve mesul müdürlüğünü yaptığı Burcu Eczanesi'ni açtı. 2010 yılında hastane eczacısı olarak atandığı Zonguldak Atatürk Devlet Hastanesi'nde 2013 yılına kadar sorumlu eczacı olarak görev yaptı. 2013-2014 yılları arasında Zonguldak Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliğinde Uzman olarak çalıştı. 2014 yılında tayin olduğu İzmir Tire Devlet Hastanesinden aynı yıl içinde ayrılarak halen çalışmakta olduğu Sağlık Bakanlığı Kamu Hastaneleri Genel Müdürlüğünde Tedarik Planlama, Stok ve Lojistik Yönetimi Daire Başkanlığında Hastane Eczacılığı Yönetim Birimi ve Proje Yönetim Birimi Sorumlusu olarak görevlendirildi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında ve Bülent Ecevit Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İşletme Anabilim Dalında (Sağlık Kurumları İşletmeciliği) yüksek lisans programlarını tamamladı. 2013 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.