

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ (TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

FARKLI SÜRELERDE ETODOLAK KULLANIMININ
FARELERDE YAPISAL VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

EVİN ZİREK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN

AYDIN-2022

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ (TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

FARKLI SÜRELERDE ETODOLAK KULLANIMININ
FARELERDE YAPISAL VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

EVİN ZİREK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-21005 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen deneyimleriyle çalışmamı yönlendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN'e,

Tez dönemimde bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan Dr. Öğr. Üyesi Erkan GÜMÜŞ'e, Vet. Dr. Serdar AKTAŞ'a ve Dr. Cevat GENCER'e, çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan Histoloji ve Embriyoloji Arş. Gör. Dr. Yiğitcan ÇİFTÇİ'ye, yüksek lisans çalışmamın istatistiksel analizinde yardımcı olan Biyoistatistik bölümü Arş. Gör. Fulden CANTAŞ TÜRKİŞ'e,

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve beni her daim yüreklendiren arkadaşlarım Ayşe Seda ERASLAN'a, Büşra DEMİRKAN'a, Emine ÖZEN'e, Nazife AYDIN'a, İlayda Aysu ULUÇAY'a, Huriye YILDIRIM'a, Rukiye Feyza SUBAŞI'na, Aslı ŞİŞKO'ya, İlayda AÇIK'a ve tez çalışma sürecinde yanımda olan desteklerini esirgemeyen Ferda IRIZ'a, Selami UYSAL 'a ve Rıfat AYDIN'a çok teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olup beni destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer Anatomisi	3
2.2. Karaciğer Histolojisi.....	4
2.3. Karaciğer Embriyolojisi.....	9
2.4. Böbrek Anatomisi	11
2.5. Böbrek Histolojisi	13
2.6. Böbrek Embriyoloji.....	15
2.7. Akciğer Anatomisi	17
2.8. Akciğer Histolojisi	20
2.9. Akciğer Embriyoloji	22
2.10. Etodolak.....	27
2.10.1. Cox-2 Selektif NSAİ.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30

3.1.1. Etik Kurul Kararı.....	30
3.1.2. Deneysel Hayvan Modeli.....	30
3.1.3. Cihazlar	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	30
3.2.2. Dokuların Hazırlanması	31
3.2.3. Hematoksilen-Eozin Boyaması.....	33
3.2.4. İmmünohistokimyasal Boyama	34
3.2.5. Biyokimyasal Analizler.....	35
3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	35
4. BULGULAR	36
4.1. Işık Mikroskobuna Ait Histolojik Görüntüler	36
4.1.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular.....	36
4.1.2. Üç Hafta İlaç Verilen Gruba Ait Bulgular	39
4.1.3. Altı Hafta İlaç Verilen Gruba Ait Bulgular	43
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	47
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	53
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	63
EKLER	71
Ek 2 (ADÜ-HADYEK)	71
BİLİMSEL ETİK BEYANI	72
ÖZ GEÇMİŞ	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AST	: Aspartat AminoTransferaz
ADH	: Antidiüretik hormon
ALT	: Alanin aminotransferaz
ATI1	: Alveolar epitelyal tip 1 hücresi
BMP	: Kemik morfogenez proteinini
CD4	: Yardımcı T hücresi
Cox -1	: Siklooksijenaz-1
Cox-2	: Siklooksijenaz-2
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EC	: Endotelyal hücreler
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Fetal Solunum hareketi
GDNF	: Glial kaynaklı nörotrofik faktör
GFR	: Glomerüler filtrasyon oranı
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
LPO	: Lipit Peroksidasyonu
MET	: Mezonefrik kanal triozin kinaz inhibitörü
MMP	: Matrix metalloproteinazları
NAC	: N-asetilsistein
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Nükleotid Fosfat
NO	: Nitrik Oksit
NSAII	: Non Steroid Anti İnflamatuvar İlaç

PGE2	: Prostaglandin E2
PGI2	: Prostaglandin I2
RBF	: Renal kan akışı
RET	: Triozin kinaz reseptörü
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SAA	: Serum Amiloid A
SMC	: Düz kas hücresi
TXA2	: Tromboksan A2
VEGF2	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü 2
VSMC	: Mezenkimal vasküler düz kas hücresi
WT1	: Wilms tümör 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Karaciğerin vasküler anatomisi	4
Şekil 2.	Hepatik lobül gösterimi	5
Şekil 3.	Hepatik lobül - karaciğerin mikroskobik fonksiyonel yapısı.....	6
Şekil 4.	Karaciğerin histomorfolojik yapısının gösterimi.....	8
Şekil 5.	Karaciğerin embriyolojik gelişimi	10
Şekil 6.	Böbrek anatomisi ve nefronun şematik gösterimi.....	12
Şekil 7.	Glomerulusun temel yapısı ve glomerüler filtrasyon bariyeri.....	14
Şekil 8.	Böbreğin embriyonik gelişimi.....	16
Şekil 9.	Böbrek gelişiminde rol oynayan başlıca genetik belirteçler.....	17
Şekil 10.	Alveoller ve kan arasındaki O ₂ ve CO ₂ değişiminin gösterimi.....	19
Şekil 11.	Akciğerin histolojik görüntüsü.....	20
Şekil 12.	Alveolar- kılcaklı membranla ilişkili pulmoner hücrelerin şematik gösterimi...	22
Şekil 13.	Psödoglandüler ve embriyonik evre.....	23
Şekil 14.	Wnt sinyallerinin akciğer gelişimi sırasında epitelyal mezenkimal etkile- şimlerinin gösterimi.....	26
Şekil 15.	AST analizinin grafiği.....	54
Şekil 16.	ALT analizinin grafiği.....	54
Şekil 17.	Kreatin analizinin grafiği.....	55
Şekil 18.	Üre analizinin grafiği.....	55

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	36
Resim 2.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	37
Resim 3.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H E,40x).....	37
Resim 4.	Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	38
Resim 5.	Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	38
Resim 6.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	39
Resim 7.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	40
Resim 8.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,20x).....	40
Resim 9.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	41
Resim 10.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,20x).....	41
Resim 11.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	42
Resim 12.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	42
Resim 13.	Altı hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	43
Resim 15.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,5x).....	44

Resim 16.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	45
Resim 17.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	45
Resim 18.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü (H-E,10x).....	46
Resim 19.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusu (SAA, İmmün boyama 20x).....	48
Resim 20.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu (SAA, İmmün boyama 20x).....	48
Resim 21.	Altı hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu (SAA, İmmün boyama 20x).....	49
Resim 22.	Kontrol grubuna ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 10x).....	49
Resim 23.	Kontrol grubuna ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 10x).....	50
Resim 24.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 5x).....	50
Resim 25.	Üç hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 10x).....	51
Resim 26.	Altı hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 5x).....	51
Resim 27.	Altı hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 10x).....	52
Resim 28.	Altı hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün boyama 20x).....	52

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Deneysel grupların oluşturulması.....	31
Tablo 2.	Dokuların takip aşamaları	32
Tablo 3.	Hematoksilen-Eozin Boyamaları	33
Tablo 4.	İmmünohistokimyasal boyama yarı nitel derecelendirme tablosu	47
Tablo 5.	ALT, AST, üre ve kreatin değerlerinin ortalaması	53
Tablo 6.	ALT,AST, üre ve kreatin değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması ve p değerleri.....	53

ÖZET

FARKLI SÜRELERDE ETODOLAK KULLANIMININ FARELERDE YAPISAL VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ZİREK E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu çalışmada amacımız etodolacın farklı sürelerde kullanımıyla böbrek, karaciğer ve akciğerde ne gibi etkilere yol açtığını histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmek ve farklı sürelerde kullanımının dokuda meydana getirdiği etkiyi gözlemlemek.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 3 aylık dişi balb-c cinsi fare kullanıldı. Fareler 3 gruba ayrılıp birinci grupta 8 hayvan, ikinci ve üçüncü grupta 10 hayvan olacak şekilde gruplandırıldı. İlk grup olan kontrol grubuna oral gavajla %40 'lık DMSO verildi. İkinci gruba 10 mg/kg etodolac (etol ford 400 mg) %40 'lık DMSO'da çözündürülerek oral gavajla 3 hafta boyunca verildi. Üçüncü gruba 10 mg/kg etodolac %40 'lık DMSO'da çözündürülerek oral gavajla 6 hafta boyunca verildi.. Biyokimyasal analizler alınan kan örneklerinden böbrek için üre ve kreatin değerlerine karaciğer için alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyelerine bakıldı.

Bulgular: Grup 3'te diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlendi. Grup 2 ve Grup 3'ün karaciğerinde yer yer sinüzoidal dilatasyonlar görüldü nekroza giden hücre kümeleri izlendi. Grup 3'te geniş bir alanı kaplayan nekroza uğramış hücreler ve onları saran fagositik sisteme ait hücreler izlendi. Grup 2 ve Grup 3'ün böbrek dokularında tubuler dilatasyon ve tubulus epitelinde dejenerasyon h&E boyasıyla gösterildi. Grup 3'de bunlara ek olarak yaygın bir moleküler infiltrasyon gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyamada SAA (Serum Amiloid A) ve CD₄ antikorları kullanıldı. Böbrek dokusunda SAA antikoruyla amiloid boyanmalar grup 3'te gösterildi. CD₄ antikoruyla akciğerdeki yardımcı t hücrelerine bakıldı. Akciğerde yardımcı T hücrelerinde artışa neden olduğu görüldü.

Sonuç: Çalışmamızda ilacın 3 ila 6 hafta kullanımıyla böbrek, karaciğer ve akciğerde olumsuz etkilerin olduğu izlendi. 6 hafta etodolac uygulamasının karaciğerde ve böbrekte daha bariz yapısal değişiklikler gözlemlendi. Bu değişiklikler biyokimyasal parametrelerle uyumludur.

Anahtar kelimeler: CD₄, Etodolac, NSAİİ, Serum amiloid a

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF ETODOLAC USE ON DIFFERENT TIMES

ZİREK E. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Histology and Embryology (Medicine) Program, Master Thesis, Aydın, 2022.

Objective: In this study our aim is to evaluate the effects of etodolac on kidney, liver and lung with its use in different duration, histologically and biochemically and to observe the effect on tissue of use at different times.

Material and Methods: A 3 month old female balb-c mouse was used in this study. Mice were divided into 3 groups; in the first group 8 animals and in the second and third group 10 animals. The first group (control) was given 40% dms0 by oral gavage. The second group 10 mg/kg etodolac (etol ford 400 mg) was dissolved in %40 dms0 and given by oral gavage for 3 weeks. The third group 10 mg/kg etodolac was dissolved in %40 dms0 and given by oral gavage for 6 weeks. For biochemical analysis were taken from blood samples from intracardiac. ALT, AST, urea and creatinine levels were measured.

Results: Statistically significant differences were observed in group 3 compared to the other groups. In the liver of group 2 and group 3 occasional sinusoidal dilatations were observed and cell clusters leading to necrosis were observed. In group 3 necrotic cell covering a large area and cells belonging to the phagocytic system surrounding them were observed. Tubular dilatation and degeneration of tubular epithelium in kidney tissues of group 2 and group 3 were demonstrated with h&E stain. In addition, a widespread molecular infiltration was observed in group 3. SAA and cd4 antibodies were used in immunohistochemical staining. Amiloid staining with SAA antibody in kidney tissue was shown group 3. Helper T cells in the lung were examined with CD4 antibody. It was observed that itcaused an increase in helper T cells in the lung.

Conclusion: In our study, it was observed that the drug had negative effects on the kidney, liver and lung after 3 to 6 weeks of use. More obvious structural changes were observed in the liver and kidney after 6 weeks of etodolac administration. These changes are compatible with biochemical parameters.

Key Words: CD4, Etodolac, NSAİD, serum amyloid a

1. GİRİŞ

Etodolak, yalnızca reçeteyle satılan uzun süreli kronik artrit tedavisi için ve kısa süreli akut ağrı için kullanılan nonsteroid antiinflamatuvar bir ilaçtır (NSAİİ). Diğer NSAİİ'ler gibi, etodolak da ağrı ve inflamatuvar yollarda önemli olan prostaglandinlerin oluşumunu bloke eden güçlü bir siklo-oksijenaz (Cox-2) inhibitörüdür. Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar aktiviteye sahiptir (Tirunagari ve diğerleri, 2009).

Etodolak, karaciğer tarafından geniş ölçüde metabolize edilmektedir. Kullanımı ile bazı akut hepatik iskekiye benzeyen hiperakut hepatik nekroz paterni gösteren birkaç ölümcül akut karaciğer yetmezliği vakası tanımlanmıştır. Etodolak hepatotoksitesinin mekanizması tam aydınlatılmamakla beraber, metabolizmasının ara ürününe özgü bir reaksiyona bağlı olması düşünülmektedir (Lewis ve Stine, 2013).

İlaça bağlı karaciğer hasarı, hepatositlere ve diğer karaciğer hücrelerine verilen hasar da dahil olmak üzere, yaygın olarak kullanılan ilaçların karaciğere verebileceği beklenmedik zararları tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Karaciğerin advers ilaç reaksiyonlarına duyarlılığını açıklayan ana nedenin muhtemelen ksenobiyotiklerin gastrointestinal sisteme giren biyotransformasyonunda (metabolizmasında) merkezi rolü olduğu düşünülmüş (Chen ve diğerleri, 2015). Genetik ve çevresel risk faktörleri nedeniyle duyarlı bireylerde ilaçların karaciğere daha zararlı olabileceğinin altı çizilmiştir. Bu risk faktörleri, hasara neden olan ajanın hepatik metabolizmasını ve atılımını değiştirerek hücresel strese, hücre ölümüne, adaptif bir immün yanıtın aktivasyonuna ve ciddi karaciğer hasarına doğru ilerlemenin önünü açabilmektedir (Kaplowitz, 2005).

COX'in iki izoformu, COX-1 ve COX-2 ayrı fakat örtüşen rollere sahiptir. COX-1 bir çok dokuda yapısal olarak eksprese edilmekte ve böbrek perfüzyonunun ve fonksiyonunun korunması, trombosit agregasyonunun düzenlenmesi ve mide mukozasının korunması dahil olmak üzere temel fizyolojik fonksiyonları korumaktadır. COX-2 ifadesi büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer dış sinyaller tarafından değiştirilir ve iltihaplanmaya yanıt olarak yukarı doğru düzenlenir. Gen düzenlenmelerindeki farklılıklar, birçok dokuda daha yapıcı COX-1 ekspresyonuna ve COX-2'nin indüklenebilir ekspresyonuna yol açsa da, COX-2 böbreklerde de yapısal olarak eksprese edilir. Bu nedenle, COX-2'nin NSAİİ inhibisyonu, muhtemelen bu

ilaç sınıfının nefrotoksisitesinin başlıca nedeni olduğu savunulmuş (Eras ve Perazella, 2001; Cooper ve diğerleri, 2019).

Böbrekteki birincil eikosanoidler prostaglandin I₂ (PGI₂), PGE₂, tromboksan A₂ ve PGF₂α'dır. Prostaglandinler, RBF ve glomerüler filtrasyon oranını (GFR) modüle etmede önemli bir rol oynamaktadır. Vazodilatör prostaglandinler RBF, GFR ve peritübüler kapiller perfüzyonu sürdürmek için vazokonstriktör etkilerine karşı koyar. Prostaglandinler ayrıca renal sodyum, su ve potasyum kullanımını da etkiler. Sodyum geri emilimini inhibe etmeleri ve antidiüretik hormon (ADH) etkilerini köreltmeleri natriürez ve aquarezis ile sonuçlanırken, prostaglandin renin uyarımı aldosteron sentezine ve potasyum sekresyonuna yol açmaktadır (Clive ve Stoff, 1984; Smith, 1992).

Fizyolojik koşulları etkilemek için tek yönlü olarak hareket eden birçok sistemik hormonun aksine, prostaglandinler hassas bir dengeyi kontrol eder, hem atılımı gerektiren hem de sodyum, su ve potasyumun tutulmasını gerektiren koşullar altında çalışır ve bu nedenle etkileri karmaşık ve yüksek oranda lokalizedir. Siklooksijenaz (COX) enzimleri ile araşidonik asitten çeşitli prostaglandinlerin sentezi böbreklerde bir takım etkilere sahiptir. NSAII tedavisi, prostaglandin üretiminin inhibisyonu yoluyla böbrekte akut tübüler yaralanma, renal tübüler asidoz gibi bir takım olumsuz etkilere neden olmaktadır (Davison, 2019).

Ksenobiyotik maruziyeti, CD4⁺ T hücrelerinin farklılaşmasını ve müteakip adaptif bağışıklık tepkisini değiştirme potansiyeline sahiptir. CD4⁺ T hücre farklılaşmasının düzenliliği, koruyucu adaptif bağışıklık tepkilerinin oluşumu üzerinde önemli sonuçlara sahip olabileceğinden, ksenobiyotiklerin immünotoksik potansiyelini değerlendirmede önemli bir yön bunların CD4 T hücre farklılaşmasını değiştirip değiştirmediğini incelemektir (Reed ve Wetzel, 2018).

2. GENEL BİLGİLER

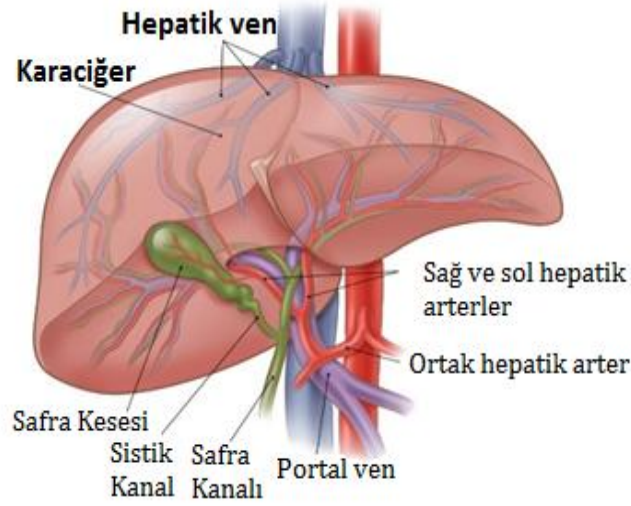
2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer vücudumuzdaki en büyük organ özelliğinde olup günlük birkaç litre safra üretmek dışında hareketli parçaları yoktur. Ancak bu anatomik basitlik, sistemik metabolik ve fizyolojik homeostazın ana unsurları olarak görev yapan karaciğerdeki biyosentetik ve biodegratif yolların olağanüstü karmaşıklığına ters düşmektedir. Bu süreçte karaciğer, temel homeostatik sıcaklık korumasının ana kaynağı olacak kadar metabolik ısı üretir. Olgun karaciğer esas olarak diyaframın altında karın boşluğunun sağ hipokondriyak ve epigastrik bölgelerinde bulunur. Karaciğer diyaframa bağlıdır ve kaburgalar tarafından korunmaktadır. Sağlıklı karaciğer yetişkinlerde yaklaşık 1400 g ile 1600 g arasındadır. Orta klaviküler çizgi boyunca sağ beşinci interkostal boşluktan kostal sınırın hemen altına kadar uzanır (Adam ve diğerleri, 2012).

Üst yüzey pürüzsüz iken, iç organ yüzeyi daha karmaşıktır, hilum ve porta hepatisi içermektedir. Visseral yüzeyle temas eden organlar arasında sağdan sola: sağ böbrek, safra kesesi, oniki parmak bağırsağı ve mide bulunur. Karaciğerin genel olarak pürüzsüz yüzeyi, safra kesesi ve ligamentum teres tarafından anteroinferior olarak girintilidir. Karaciğer, inferior vena kava ve safra kesesi fossaları ve posteriorda çıplak alan olarak adlandırılan fossalar dışında, yapışkan peritonla kaplıdır. Bununla birlikte, belirli noktalarda, periton, komşu yapılarla birleşen karmaşık kıvrımlar oluşturmak için karaciğerin yüzeyinden yansıtılır; koroner ligament sağ ve sol üçgen ligamanlar arkaya yerleştirilmiş çıplak bölgeyle ilişkilidir ve karın taramalarında görülmez. Bununla birlikte diğer iki periton kıvrımı, karın boşluğunda sıvı birikmesi durumunda net bir şekilde görülebilmektedir (Simon, 2016).

Karaciğerin sağ kıvrımı, sağ hepatic ven tarafından ön ve arka bölümlere ayrılırken, sol lob hepatic ven tarafından medial ve lateral bölümlere ayrılır. Portal ven ayrıca karaciğeri üst ve alt bölümlere ayırır. bunun için Couinaud'un karaciğerin fonksiyonel anatomisinin tanımlamasında karaciğerin fonksiyonel anatomisinde her biri bağımsız damar çıkışına, içeri akışına ve safra drenajına sahip fonksiyonel olarak bağımsız sekiz segmente bölünmüştür. Her

segmentin ortasında hepatik arter dalı, portal ven ve safra kanalı bulunur. Her segmentin çevresinde, hepatik venlerden vasküler çıkış vardır (Mitra ve Metcalf, 2011).



Şekil 1. Karaciğerin vasküler anatomisi (Youssef ve ark, 2015).

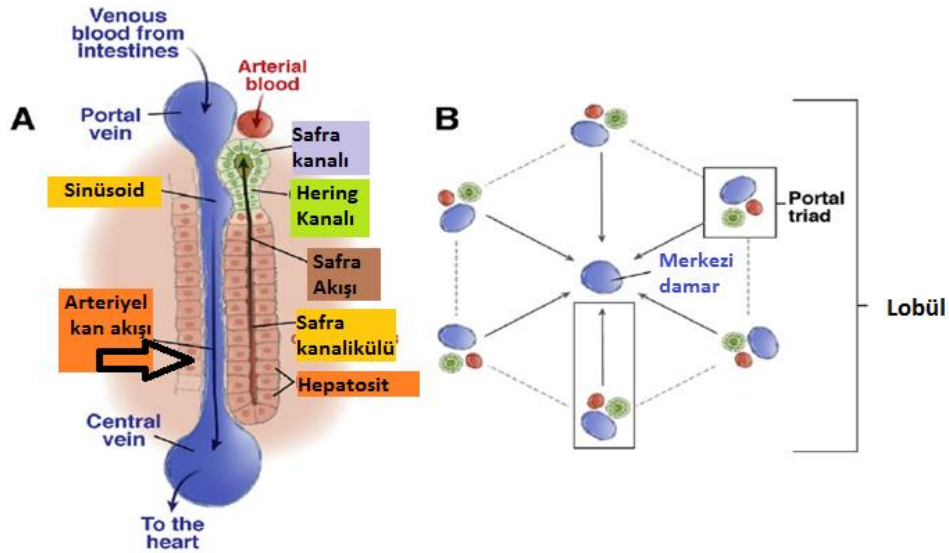
Karaciğerin morfolojik ve fonksiyonel anatomisi arasında farklılıklar görülmektedir. Morfolojik olarak incelendiğinde, falsiform ligament tarafından sağ ve sol loblara ayrılmaktadır. Riedel lobu ve karaciğer sol lobunun sol diafragma altına dek uzanması sık karşılaşılan varyasyonlardan olmakla beraber karaciğerin sağ lobundan başlayarak inferiora doğru uzanmaktadır (Başak ve Akan, 2015).

2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer dokusunun yaklaşık olarak %80'i yetişkinlerde, hücresel plakların bir labirenti şeklinde dizilmiş olan hepatositlerden meydana gelen parankim yapısındadır. %20'lik kısım ise, dıştan organı saran bağ dokusunun destekleyici çerçevesini oluşturan stromadır (Ovalle ve Nahirney, 2009).

Karaciğer hücreleri, karaciğerin fonksiyonel yapısal birimi olan lobül etrafında organize edilmiştir. Bu merkezi ven çevresinde tipik olarak altıgen bir şekilde düzenlenen hepatosit akorlarından oluşur. Bu altıgenin köşelerinde hepatik arter, portal ven ve safra kanallarının birbirine yakın gruplanmış dallarından oluşan portal triadlar bulunur. Hepatosit kordlarındaki dolaşım birimleri, tipik bir kapiller yataktan farklıdır çünkü karaciğerin endotelial hücreleri sıkı bağlantılar oluşturmazlar. Bu, hepatositler ile sinüzoidi geçen kan arasındaki engelleri en aza indiren sinüzoidal bir ağ oluşturur. Hepatik arterden gelen oksijen açısından zengin kan, lobül hücreleri üzerinden akmadan ve merkezi damara gelmeden önce sinüzoiddeki portal dolaşımdan besin açısından zengin kanla karışır. Bu organizasyon, lobülden çıkan kan bileşiminin, lobüle giren kandan farklı özelliklere sahip olmasına neden olur (Gordillo ve diğerleri, 2015).

Hepatik sinüzoidlerden olan santral ven ince duvarlı bir damardır. Santral venin endotelial döşemesi, spiral olarak düzenlenmiş az miktarda bağ dokusu fiberleri tarafından çevrelenmiştir. Lobüldeki merkezi pozisyonundan dolayı bu şekilde isimlendirilen santral ven aslında hepatik venler sisteminin terminal venülüdür. Budan sebeple terminal hepatik venül olarak da adlandırılır (Ross ve Pawlina, 2017).



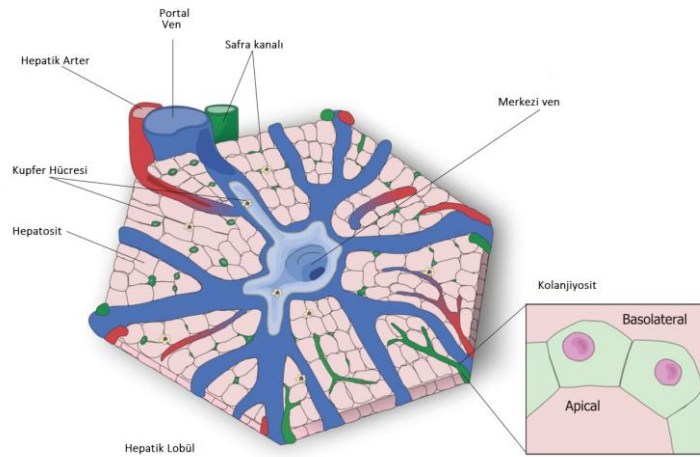
Şekil 2. Hepatik lobül gösterimi (Andrew ve Dorrell, 2009).

Ufak bir merkezi venin etrafında hepatositlerin düzenli bir şekilde tabakalar halinde sıralanmasıyla oluşan binlerce küçük hepatik lobüller şeklinde düzenlenmiştir karaciğer

parankimi. Düzensiz hepatosit tabaka 3-6 portal alan ve portal triadı kapsayan üç interlobüler yapı içermektedir. Bunlar oksijen sağlayan hepatik arterden dallanan bir arteriyol, safra iletim sisteminden dallanan bir ya da iki tane küçük kübik epitele sahip safra kanalcığı ve besinden zengin oksijenden yoksun kan içeren portal venden dallanan bir venüldür. Portal alanların birçoğu lenfatik damarlar ve sinir lifleri içermektedir (Mescher, 2019).

Kan lobül boyunca ilerlerken hücreler oksijeni kullanır ve besinleri işlerken metabolitler ve atık ürünler üretir. Kan oksijensizleşir ve sinüzoid boyunca hücrelerden metabolik yan ürünler salgılanır. Bu lobüler konumlarına göre karaciğer hücrelerine sunulan oksijen, besinler ve atık gradyanları oluşturur. Lobülün sinüzoidleri boyunca oluşturulan bu ve diğer gradyanlar, kan oksijen içeriğinin daha yüksek olduğu bölgelerde artan oksidatif metabolizma gibi lokalizasyona dayalı fonksiyonların bölünmesine neden olur. İşlevlerin bu şekilde bölünmesi "metabolik bölgeleme" olarak adlandırılmıştır ve tipik olarak lobülü üç farklı bölgeye ayırır. Her bölge farklı metabolik gen ekspresyonu ve işlevselliği olan hepatositlere sahiptir. (Gordillo ve diğerleri, 2015).

Karaciğer hepatositler, biliyer epitel hücreleri (kolanjiyositler), stellat hücreler, kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri dahil olmak üzere farklı embriyolojik kökenli birkaç hücre tipinden oluşur. Bu hücre tiplerinin her biri karaciğer fonksiyonunu çoklu seviyelerde iş birliği içinde düzenleyen benzersiz fonksiyonlara sahiptir. Hepatositler karaciğerin birincil epitel hücre popülasyonudur. Karaciğer hacminin çoğunu oluştururlar ve karaciğere atfedilen işlevlerin çoğunu yerine getirirler. Kolanjiyositler, karaciğerin en bol ikinci epitel popülasyonudur ve safra kanallarının lümenini kaplayan hücreler olarak daha geleneksel bir epitel işlevine sahiptir (Gruppuso ve Sanders, 2016).



Şekil 3. Hepatik lobül- karaciğerin mikroskobik fonksiyonel yapısı (Lemos ve diğerleri, 2019).

Hepatositler, merkezi damarı bir hepatik arter bir portal ven ve bir safra kanalından oluşan portal üçlüye bağlayan kordon içinde düzenlenir. Temsil edilen diğer hücre tipleri şunlardır: kupffer hücresi, karaciğerdeki immünolojik yanıtta sorumlu yerleşik makrofajlar ve safra kesesine safra taşıyan safra kanalını oluşturan kolanjiyositler (Şekil 3).

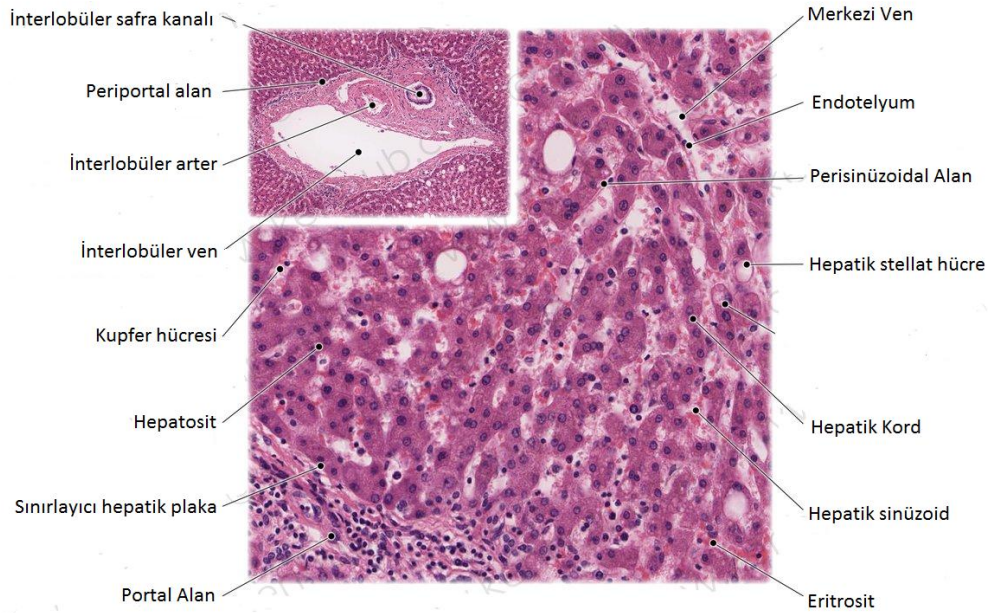
Yıldız hücreleri hareketsiz veya aktif durumda var olabilen dinamik bir hücre popülasyonunu temsil eder. Hareketsiz durumda yıldız hücreleri A vitaminini lipid damlacıklarında depolar; ancak bu hareketsiz durumdaki diğer işlevler belirsizliğini koruyor. Karaciğere verilen hasar yıldız hücrelerinin aktivasyonuna yol açmaktadır. Aktivasyon üzerine yıldız hücreleri çoğalır ve aşamalı olarak A vitamini depolarını kaybeder. Yıldız hücreleri ayrıca hasarlı karaciğerde kolajenin birikmesinden ve organizasyonundan da sorumludur. Bu süreç son dönem karaciğer hastalığına katkıda bulunan kritik bir patoloji olan siroza ilerleyebilen karaciğerin skarlaşmasına katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Bechmann ve diğerleri, 2012).

Kupffer hücreleri, karaciğerin yerleşik makrofaj popülasyonudur. Bu hücreler portal dolaşım yoluyla verilen birçok patojenik uyarıyı tanır ve bir dizi katkıda bulunan faktöre bağlı olarak karaciğer yara iyileşmesinde pro veya anti-inflamatuar roller elde edebilir. Kupffer hücrelerinin ana rolü karaciğeri geçen portal sistem dolaşımındaki yabancı kalıntıları ve partikülleri temizlemektir. Kupffer hücreleri, fagositoz yoluyla büyük parçacıkları ve pinositoz yoluyla küçük parçacıkları ve molekülleri alabilir. Kupffer hücrelerinin ölmeden önce portal alanlara ve hepatik lenf nodlarına göç edebildikleri de gösterilmiştir. Karaciğerde kupffer hücrelerinin popülasyonu sabittir apoptoz tarafından düzenlenir ve komşu kupffer hücreleri tarafından fagosite edilir. Çoğalma potansiyeli olmayan monosit türevli makrofajların aksine kupffer hücreleri çoğalma kapasitesine sahiptir ve kendini yenilemeye izin vermektedir. Granülom oluşumunda kupffer hücreleri bir monosit kaynağı olmadan aktive edilir ve çok çekirdekli dev hücrelere dönüşmektedir (Weiskirchen ve Tacke, 2019).

Kupffer hücrelerinin fagositik yeteneği çok geniştir; patojenleri, bağışıklık komplekslerini, lipozomları, lipid mikrokürelerini, tümör hücrelerini, endotoksinleri ve diğer çeşitli partikülleri içine alabilirler. Kupffer hücrelerinin, konumlarına göre işlev bakımından heterojen oldukları da bilinmektedir. Karaciğer lobüllerinin 1. bölgesinde 3. bölgedeki muadillerine kıyasla genel olarak daha yüksek aktiviteye sahiptirler. Aktivite farkı büyük olasılıkla bölge 1'deki tehlikeli maddelere 3. bölge ile karşılaştırıldığında artan maruziyetten kaynaklanmaktadır. Fagositoza ek olarak, Kupffer hücreleri inflammatuar sitokinler, oksijen radikalleri

TNF-alfa ve proteazlar üretebilir; bu araçların üretiminin karaciğer hasarının gelişimine katkı da bulunduğu düşünülmektedir (Dar ve Sullivan, 2019).

Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, benzersiz özelliklere sahip özel bir endotelial popülasyondur. Bu hücreler sinüzoidal lümeninde pencereleli elek plakaları oluşturur. Bu yapı insanlarda 50-180 nm veya fare ve sıçanlarda 50-280 nm arasında değişen boyutlarda gözenekler oluşturur. Bu organizasyon belirli bariyer fonksiyonlarını korurken plazma ve karaciğerin hücre tipleri arasında bu boyut sınırları içinde proteinlerin ve partiküllerin değişimi için kritik öneme sahiptir (Hammoutene ve Rautou, 2019).



Şekil 4. Karaciğerin histomorfolojik yapısının gösterimi.

Perisinüzoidal aralıkta hepatik lenf oluşmaktadır. Bu aralıkta kalan plazma periportal bağ dokusuna doğru akar. Bu toplama bölgesinden sonra sıvı portal triadın diğer komponentleriyle birlikte lenfatik kapilere girer. Gittikçe büyüyen damarın içinde lenf safra ile aynı yönde hareket eder (Ross ve Pawlina, 2017).

Kan her zaman periferden hepatik lobülün merkezine doğru akmaktadır. Oksijen ve metabolitler bağırsaklarda emilen tüm diğer toksik olmayan ve toksik maddeler ile birlikte önce lobülün periferik hücrelerine sonra daha merkeze yakın hücrelerine ulaşır. Kanın bu akış

doğrultusunda hareket etmesi periportal hepatositlerin özelliklerinin ve işlevlerinin neden sentrolobüler hücrelerden farklı olduğunu kısmen açıklar (Mescher, 2019).

Karaciğer hücrelerinin sitoplazması işlevsel duruma göre ince yapı ve organel durumuna göre farklılıklar göstermektedir. Sitoplazmadaki yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahip çok sayıda mitokondriyum, çeşitli hücre işlevlerinde kullanılmak üzere ATP ihtiva eder. Bol granüllü endoplazmik retikulumu yığınları ve serbest ribozomlar protein sentezinde görev alır. Çok sayıdaki golgi kompleksi tipik olarak safra kanaliküllerine veya çekirdeğe komşu olarak yerleşiktir. Sitoplazmada değişik miktarlarda depolanmış olan glikojen sıklıkla DER'e yakındır (Ovalle ve Nahirney, 2009).

2.3. Karaciğer Embriyolojisi

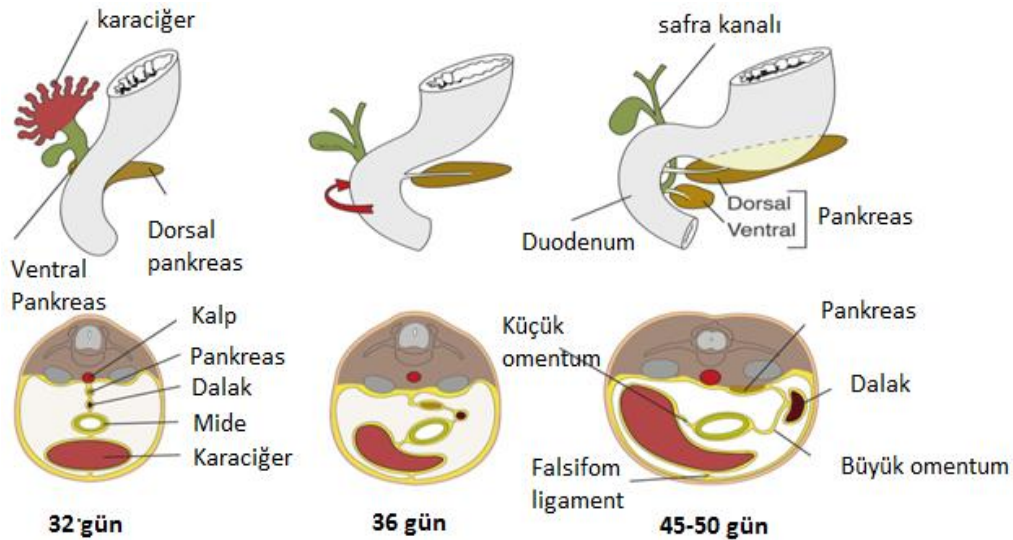
Karaciğer 22. günden itibaren embriyonun distal ön bağırsağından meydana gelir. Gelişimi, karın boşluğunun kraniyal ucunda, septum transversumda gerçekleşir. Hem karaciğerin ana bileşenleri olan hepatositler hem de biliyer epitel hücreleri, ilkel bağırsağı oluşturan endodermden köken alır. Karaciğer morfogenezi oluşturan organa damarlanma sağlayan çevreleyen mezodermal yapılarla etkileşimi gerektirir. Mezodermal kaynaklı hücreler karaciğere, gebeliğin 2. ayından 7. ayına kadar fetüsün birincil kan hücresi kaynağı olarak hizmet eden bir hematopoietik popülasyon sağlar (Ugo ve Quaina, 2020).

Karaciğer parankimal hücreleri, gastrulasyon esnasında embriyoda mevcut olan endodermin ön kısmından meydana gelmektedir. Fare embriyosunda ön endodermin vital boyalar ile işaretlenmesiyle ön bağırsağın medial ve bilateral bölgelerinde bulunan üç farklı hepatik progenitör hücre alanının varlığı bulunmuştur. Ön bağırsak kapanırken bu bölgelerde bulunan progenitör hücreler, gelişmekte olan kalbe bitişik ve sonuçta proepikardiyum ve septum transversumun mezotelyal hücrelerini oluşturacak olan lateral plaka mezoderm bölgelerine yakın bir şekilde uzanacak şekilde birleşir (Tremblay ve Zaret, 2005).

Civciv veya fare embriyolarını kullanan ortak kültür çalışmaları, gelişen kardiyak mezodermin hepatik hücre oluşumunun indüklenmesi esnasında önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Zhang ve diğerleri, 2016).

Modern moleküler teknikler kullanılarak, endüktif sinyallerin fibroblast büyüme faktörü ailesinin üyeleri olduğu bulundu çünkü FGF1 ve FGF2 fare anterior endoderm eksplantlarında hepatik hücre kaderinin karakteristik bir belirteci olan Albumin ekspresyonunun başlamasını indüklemeye kalp dokusunun yerini alabilir. Ayrıca hepatik hücre kaderinin FGF aracılı spesifikasyonu konsantrasyona bağlıdır ve bu hepatojenik FGF'nin ana kaynağı olan kalbe göre endodermin konumu tarafından kontrol ediliyor gibi görünmektedir (Serls ve diğerleri, 2005).

Karaciğerin gelişimi çok hızlıdır ve beşinci haftadan onuncu haftaya kadar üst abdominal kavitenin büyük bir kısmını kaplar. Umbilikal venden gelen kanın oksijen miktarı karaciğerini gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler. Başlangıçta karaciğerin sağ ve sol loplara büyüklüğü aynıdır ancak kısa bir süre sonra sağ lop daha fazla büyür. Hematopoez altınca haftada başlar ve karaciğere kırmızı parlak bir renk verir. Dokuzuncu haftada karaciğer fetusun toplam ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturur. Karaciğer safra üretimine 12. haftada başlar. Sistik ve hepatik kanalları duodenuma bağlayan kordondan koledok kanalı gelişir. 13. haftadan sonra kanaldan geçerek duodenuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil bir renk verir.



Şekil 5. Karaciğerin embriyolojik gelişimi (Florentina ve diğerleri, 2020).

Fetal yaşam sırasında karaciğer plasentadan oksijenli kanı sol umbilikal ven yoluyla alan ilk organdır ve bunun bir kısmı duktus venozum ile fetal sistemik dolaşıma yönlendirilir.

Hem göbek damarı hem de duktus venozum ekstrauterin yaşamda yok olacaktır (Ugo ve Quaina, 2020).

2.4. Böbrek Anatomisi

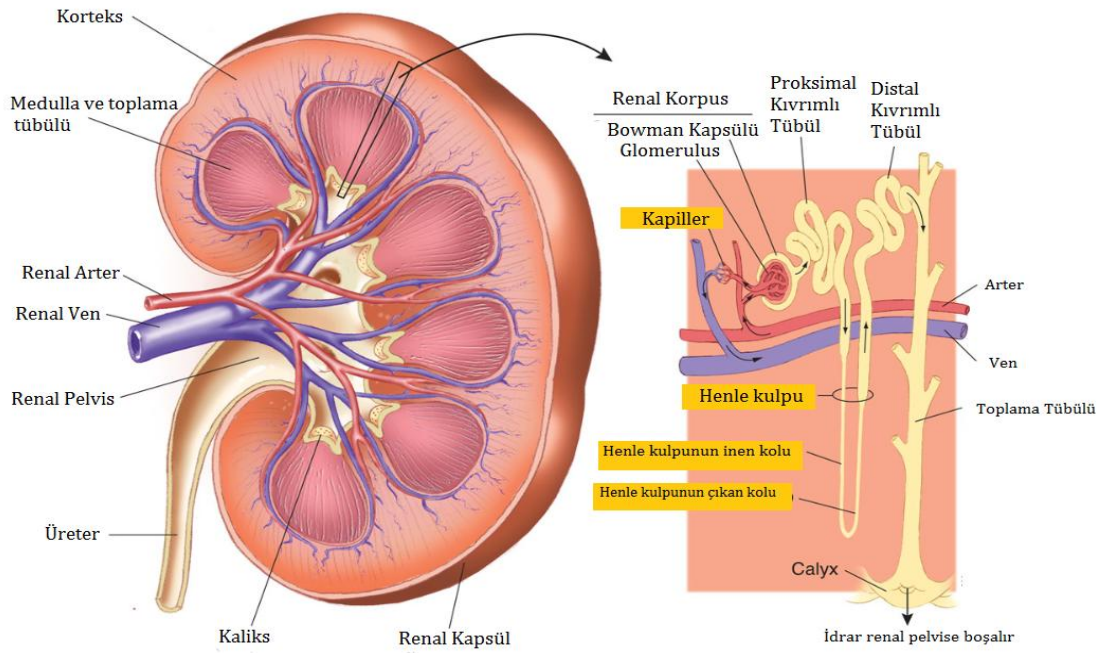
Böbrek parankiması dışta birçok cisimcik ve tübüllerin enine kesitler halinde gözüktüğü koyu bölge olan korteks ve içte düz sıralanmış yapıları içeren medulla olmak üzere iki kısımdan oluşur. Böbrek medullası sayısı 8 ile 15 arasında değişen ve tabanları kortekse komşu olan böbrek piramidi olarak adlandırılan konik yapılardan meydana gelir. Bu böbrek piramidleri korteksten uzantı halinde gelen böbrek sütunları ile ayrılırlar. Böbrek lobu her piramid tabanındaki ve yan kısımlarındaki kortikal dokuyla birlikte oluşur. Medulladan kortekse çıkan çizgiler yapılar medüller ışın olarak adlandırılır. Medüller ışınlar ve bitişiğindeki kortikal doku lobül olarak, böbrek piramidlerinin uç kısımları böbrek papillası olarak isimlendirilir. Böbrek papillası minor kalikslere doğru açılırlar. Minör kaliksler piramidlerdeki tübüllerde oluşan ürenin toplandığı bölgelerdir (Mescher, 2019).

Böbrekler günlük yaklaşık olarak 180 litre sıvı filtre eder ancak yalnızca 1-2 litre idrar üretilir. Geri kalan sıvı tekrar vasküler sisteme girmesi için renal tübüller tarafından geri emilir. Böbrekler asit- baz dengesini kontrol ederler. Toplam vücut suyunu düzenler ve hücre dışı sıvı hacmini korurlar. Renin ve eritropoetin olmak üzere iki hormon üretirler. Renin sistemik arterial kan basıncının düzenlenmesinde eritropoetin ise kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin üretimini uyarır (Ovalle ve Nahirney, 2009).

Toplama kanalları kortikal, dış medüller ve iç medüller olmak üzere üç anatomik bölüme ayrılır. Bu bölümlerin her birinde toplama kanalları, toplama tübülleri adı verilen nefronlarla bağlantı kurar. Bir lobül, bir toplayıcı kanal ve bunun drene ettiği nefron grubundan oluşur. Medüller ışınlar medulladan kortekse uzanır toplayıcı kanallar ve düz tübüllerden oluşur. Toplama kanalları papiller kanallara drene olur ve ardından piramidlerin tepelerindeki papillalar yoluyla minör kalikslere drene olur (Staruschenko, 2012).

Böbreğin girintili medial yüzeyine hilum denir. Kan damarları, otonom sinirler ve lenfatik damarlar böbreğe hilustan girer ve çıkar. Hilum aynı zamanda üreterin böbrekten çıkış noktasıdır. Hilumun yakınında, üreter ve renal damarlar birlikte renal venin anterior, üreterin posterior ve renal arterin az ya da çok merkezi olduğu pedikülü oluşturur. Hilum, pelvikalisiyel sistemi ve kan damarlarının bölünmesini içeren renal sinüs adı verilen bir oyuğa

açılır. Renal arterin ilk dalı ilgili adrenal bezdir. Ayrıca renal pelvise ve üreterin üst kısmına dallar verir. Bundan sonra renal arter, hilus içinde böbreği besleyen beş segmental artere bölünür. İkincisi ana kaliksler arasında birbirine paralel uzanır ve daha sonra korteks içinde renal piramitlerin tabanları boyunca uzanan arkuat arterlere bölünür. Arkuat arterler, interlobüler arterler olarak kortekse uzanır. Bunlar nihayet efferent arteriyoller oluşturmak üzere yeniden birleşen glomerül kapillerlere dallanan afferent arteriyoller haline gelirler. Böbreğin arka-yan kısmında, renal arterin ön ve arka bölümlerinin birleşimine karşılık gelen dışbükey lateral sınırın hemen arkasında kan damarlarının göreceli bir azlığı vardır (Moinuddin ve Dhanda, 2015).



Şekil 6. Böbrek anatomisi ve nefronun şematik gösterimi (Asklepios, 2014).

Nefronlar başlıca iki kısımdan oluşur: Tübüler ve glomerül sistem. Glomerül; afferent arteriöl ile efferent arteriöl arasında bulunan özelleşmiş bir kapiller yumaktır. Glomerül, tübüler sistemin başlangıcı olan ve Bowman kapsülü denilen yapıya gömülü haldedir. Bu yapı balona gömülmüş bir topa benzetilebilir. Afferent arteriöl Bowman kapsülüne girdikten sonra 3-5 adet dala ayrılır ve bu dallar glomerülün segmenter yapısını temsil eder. Bu dallar da karmaşık bir kapiller ağ olan glomerülü oluşturur. Afferent arteriyoller daha glomerülden ayrılmadan Bowman kapsülü içinde birleşerek efferent arteriyolu oluşturur ve kısa bir süre bu şekilde seyrettikten sonra Bowman kapsülünü terk eder. Efferent ve afferent arteriyöl duvar-

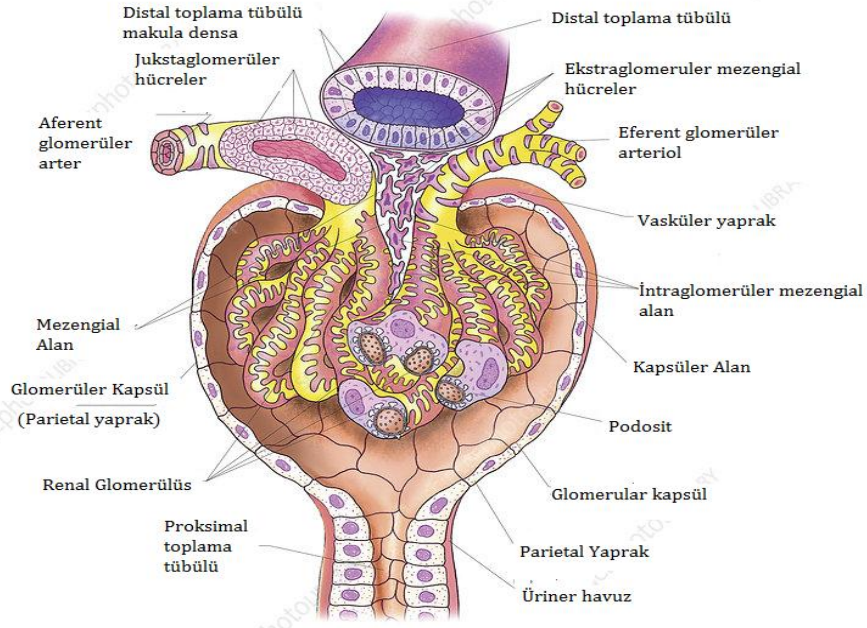
larındaki düz kas hücreleri sayesinde çeşitli vazoaaktif uyarılara cevap vererek kasılma özelliği gösterirler. Ayrıca lokal myojenik mekanizmalarla özellikle afferent arteriyol otonomik olarak kasılma yeteneğine sahiptir. Glomerüler kapillerler özelleşmiş kan damarlarıdır (Jamkar ve diğerleri, 2017).

2.5. Böbrek Histolojisi

Böbrekler homeostazın merkezidir. Duyusal mekanizmalar aracılığıyla suyu sodyum, asitliği, potasyum, kan basıncını, kemik minerallerini ve hemoglobini düzenlerler. Ancak temel işlevleri, metabolizmanın atık ürünlerinin idrarla atılmasıdır. Kalp debisinin yaklaşık %22'si böbreklere gider ve plazmanın yaklaşık %20'si filtrelenir ve günde yaklaşık 170 L glomerüler filtrat üretilir. Bunun yüzde doksan dokuzu nefronlar boyunca akarken yeniden emilir böylece günde sadece yaklaşık 1.5 L idrar üretilir. Filtrasyon glomerüler filtrasyon bariyeri yoluyla gerçekleşir (Ovalle ve Nahirney, 2009; Pollak ve diğerleri, 2014).

Glomerüler filtratın bileşimi, süzme bariyerini oluşturan kolajen protein moleküllerinin yapısı, düzeni ve elektrik yükü ile belirlenir. Dolayısıyla glomerüler filtrasyon hem boyut seçici hem de yük seçicidir; çok büyük veya çok yüklü moleküller geçemez. Günde 3,3 ila 5,7 g arasında önemli miktarda albümin bariyeri geçer. Transsitoz yoluyla podositlerin bir kısmı alt podosit boşluğundan podositlerden geçer. Albüminin bariyerden geçişi, anjiyotensin II tarafından arttırılır. Hemen hemen tüm filtrelenmiş albümin, proksimal tübül hücrelere aktif alım ile geri emilir (Schiessl, 2015).

Böbrek sıkı fibröz bağ dokusu yapısında ince sert bir dış kapsül ile sarılıdır. Kapsül belirli bir düzende dizilmiş kollajen liflerinden ve bu liflerin arasındaki fibroblastlardan meydana gelir. Kapsül gerilmeye karşı dirençlidir kolayca soyulur ve gevşekçe tutunur. Böbrek ve kapsülü, tampon görevi gören ve böbreği koruyan yağ doku kitlesi içinde yer alır. Parankima kıvrımlı, uzun sıkıca paketlenmiş renal tübüllerden oluşmuştur. Korteks birçok küresel böbrek cisimciklerinden dolayı genellikle koyu ve granüler gözükür. Korteksteki böbrek cisimcikleri üriner tübüllerin diğer parçaları arasına dağılmıştır (Ovalle ve Nahirney, 2009).



Şekil 7. Glomerulusun temel yapısı ve glomerüler filtrasyon bariyeri (Asklepios, 2014).

Böbrek cisimciklerini gözle görülebilir ve böbreğin yalnızca korteksinde bulunmaktadır. Nefronun başlangıç geniş parçasını oluştururlar. Bir damar kutbu birde üriner kutbu vardır. Her cisimcik Bowman kapsülü denilen bir epitel bölümünde ve bir afferent arteriyolün dallanmasıyla ortaya çıkan glomerüler kapiller kümesinden oluşan vasküler bölümden meydana gelir. 20-40 kapiller kıvrımdan oluşan lobüllere ayrılmış bir küme efferent arteriyole boşalır. Bowman kapsülünün dış tabakası olan pariyetal tabaka, iyi ayırt edilemeyen bir bazal membran üzerine yerleşmiş tek katlı yassı epitelden meydana gelir. Kapsülün iç visseral tabakası podosit adı verilen özelleşmiş hücrelerden oluşur. Fazlaca dallanmış podositler glomerüler kapillerin bazal membranı ile direk temas halinde kapillerin kıvrımların üzerine uzanır (Ovalle ve Nahirney, 2009).

Glomerüler filtrasyon, otheregülasyon adı verilen bir süreçle geniş bir sistemik ve renal arter basıncı aralığında sabit tutulur. Afferent arteriyolün daralması ve genişlemesi, glomerulusa bitişik olan makula densa tarafından kontrol edilir. Makula densa yanındaki tübülden sodyum klorür akışını algılar. Bu akış arttığında makula densa, glomerüler filtrasyon hızını azaltmak için afferent arteriyolde daralmaya neden olur. Tersine böbreğe akan kanın basıncı düşerse, glomerül içindeki basıncı korumak için afferent arteriyoldeki direnç azalır. Giriş basıncı düşmeye devam ederse, anjiyotensin II'nin etkisi altında efferent arteriyol daralır. Bu glomerül içindeki filtrasyon basıncını korur (Hoy ve diğerleri, 2011).

Nefronlardan çıkan bağlayıcı tübüller birleşir ve toplayıcı tübülleri meydana getirir. Toplayıcı tübüller daha geniş olan toplayıcı kanallar şeklinde birleşir. Böbrek papillasında birleşirler bu noktada oluşan idrar minör kalikse ulaştırılır. Her böbreğin böbrek arteri hilumda, iki ya da daha fazla segmental artere bölünür. Böbrek pelvisi etrafında bu arterler daha da dallanarak interlober arterleri oluşturur. İnterlober arterler böbrek piramitleri arasında kortikomedüller sınıra uzanır. Bu bölgede interlober arterler, her bir böbrek piramidinin tabanından bir yay oluşturacak şekilde uzanan arkuat arterleri oluşturmak üzere bölünürler. Daha küçük interlobüler arterler arkuat arterlerden ışınal şekilde kortekse yayılırlar (Mescher, 2019).

2.6. Böbrek Embriyolojisi

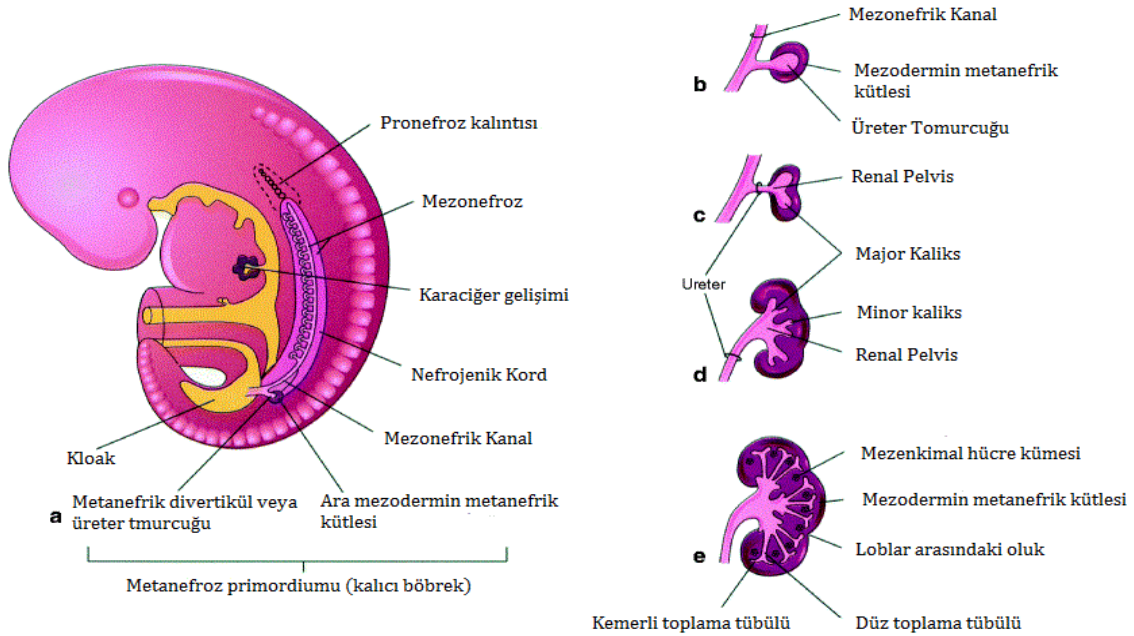
Böbreğin embriyolojik gelişimi kranialden kaudal yöne doğrudur ve ara mezoderm-den kaynaklanır. Erken gelişim ürogenital sırt, nefrojenik kord ve son olarak idrar toplama sistemini oluşturur. En erken böbrek dört haftada ortaya çıkan ancak işlevsiz olan pronefrozdur. Pronefrozu Wolffian kanalını (mezonefrik kanal) oluşturan mezonefroz takip eder. Mezonefroz ilk trimesterin çoğu için geçici bir böbrek işlevi görmektedir ve erkek genital sistemine katkıda bulunmaktadır (Seely, 2017).

Oldukça genişlemiş ve uzamış boşaltıcı organlar olan mezonefrozlar, dördüncü haftanın sonuna doğru pronefrozların kaudalinde meydana gelir. Kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar yaklaşık 4 hafta boyunca ara böbrekler olarak embriyoda fonksiyon görürler. Glomerüller ve tübüllerden oluşmuştur mezonefrik böbrekler. Tübüller pronefrikkanaldan köken alan bilateral mezonefrik kanala açılırlar. Mezonefrozlar birinci trimesterin sonuna doğru dejenerer olurlar (Moore, 2016).

Metanefroz, mezonefrik büyümeden gelişir ve yaklaşık beş haftada üreter tomurcuğu haline gelir. Hamileliğin ikinci haftasında tamamen işlevseldir ve kanalize olur. Böbrek gelişiminin bu düzenli ilerlemesi yaklaşık 34 ila 36. gebelik haftasına kadar devam eder. Metanefrozlar üreter, renal pelvis, kaliksler ve toplama kanallarını oluşturur. Çoğu böbrek anomalisi gelişimin bu aşamasında meydana gelmektedir. Metanefroz geliştikçe üreteropelvik bileşke böbrek ile birleşir. Üreteropelvik bileşke, fetüste hidronefroza yol açan en yaygın anatomik tıkanıklık bölgesidir. Nefron metanefrik mezodermden toplayıcı tübüller metanefrik

divertikül den köken almaktadır. Gebeliğin 10-18. haftaları arasında glomerül yapılarında artış oluşur 32. haftada en yüksek değere ulaşır. Nefron oluşumu bu sırada tamamlanır ve her böbrek yaklaşık 2 milyon kadar nefron içerir (Reidy ve Rosenblum, 2009; Moore, 2016).

Toplama kanalları kaliksler, renal pelvis, üreterler ve mesane trigonunun öncüsü olan üreter tomurcuğundan oluşur. Üreter tomurcuğu metanefrik mezenşime yayılır ve sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir dizi dallanma meydana getirir. Dal uçları, sonunda nefron gelişimini ve toplama sistemine bağlanmasını teşvik etmek için mezenşim hücreleri ile etkileşime girecektir. GDNF/RET, FGF, Six1/Sall1 ve Wnt sinyal yolları üreter tomurcuğu büyümesi, istilası ve dallanmasının çeşitli aşamalarında yer alır (Soriano ve ark, 2020).

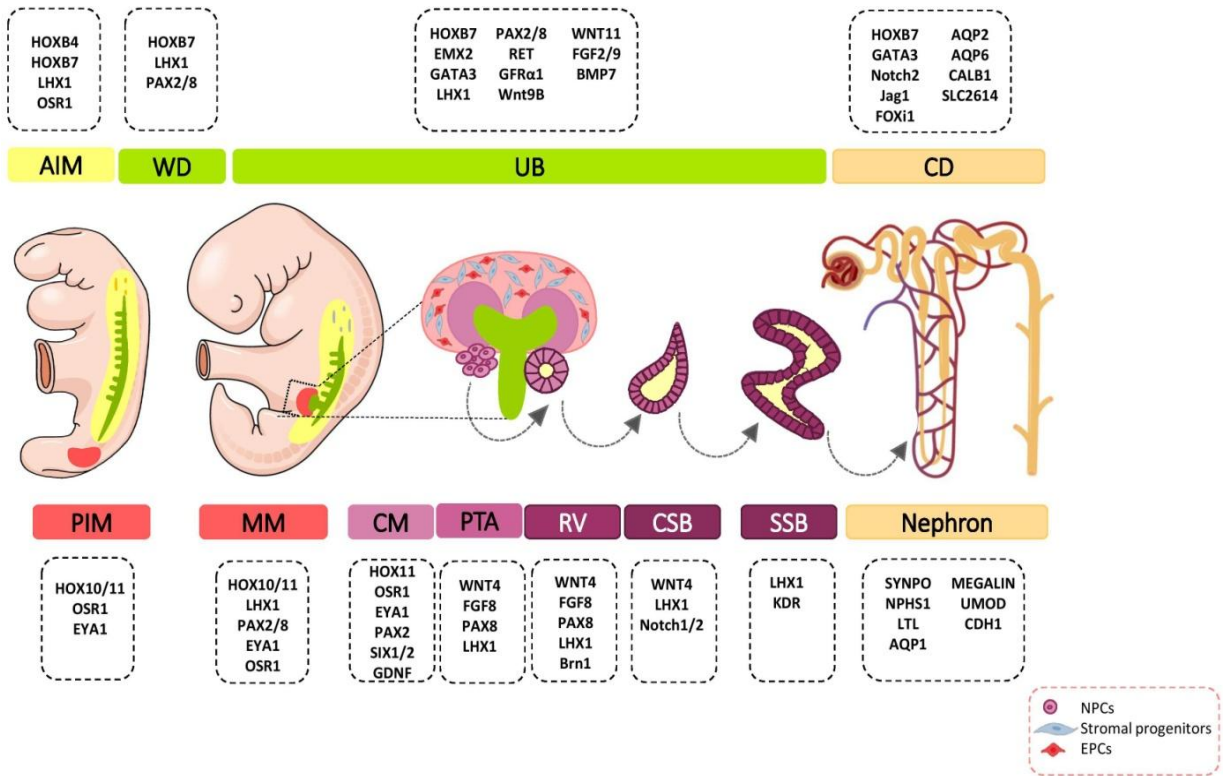


Şekil 8. Böbreğin embriyonik gelişimi (Zweyer, 2010).

Mezonefrik kanal tirozin kinaz inhibitörü MET ile glial kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) arasındaki ve tirozin kinaz inhibitörü ET ile hepatosit büyüme faktörü (HGF) arasındaki etkileşim üreter tomurcuğunu oluşturmak için uyarılır. Wilms tümör 1 (WT1) metanefrik mezenkim tarafından ifade edilen bir transkripsiyon faktörüdür ve GDNF ve HGF üretimini düzenler (Rehman ve Ahmed, 2020).

Fonksiyonel nefronlarda her bir toplayıcı tübülün ucu, nefrik veziküller oluşturmak üzere blastemal başlıkları indüklediğinde gelişmeye başlar. Bunlar daha sonra S-şekilli

Bowman kapsülü, proksimal, distal tübüller ve henle kulpundan oluşan nefrik tübüllere dönüşecektir. Glomerulus gelişimi, S-şekilli gövdeyi kaplayan podosit öncülleri VEGF2 salgılandığında başlar böylece endotelial hücreleri çeker ve ilkel bir vasküler küme oluşturur. Bu aktivite glomerulusun afferent ve efferent arteriyollerini oluşturacaktır. Podosit öncülleri ve endotel hücreleri arasındaki temas ikisi arasındaki sınırdaki glomerüler bazal membran oluşturarak podositlerin farklılaşmasını uyarır. Nefrik tübülün distal ucu, distal kıvrımlı tübül, toplayıcı kanal ile birleşerek idrar tübülünü oluşturur (Nagata, 2018).



Şekil 9. Böbrek gelişiminde rol oynayan başlıca genetik belirteçler. Böbrek hücrelerinin hücre kaderi kararı, nefrogenez sırasında farklı genetik belirteçlerle kordineli olarak kontrol edilir (Rad ve diğerleri, 2020).

Erken gelişim sırasında böbrekler embriyonun sakral bölgesinde birbirine yakın durur. Bununla birlikte karın büyüdükçe böbrekler ayrılır ve altı ila dokuz hafta arasında lomber bölgedeki son konumlarına yükselir. Böbrekler dorsal aortun renal arterler adı verilen dallarından vasküler beslenme alır; yükselişleri sırasında kaudal dallar dejenere olur ve böbrekler kanı art arda daha yüksek dallardan alırlar (Dressler, 2006).

2.7. Akciğer Anatomisi

Trakea her iki akciğerde hilumdan giren iki birincil bronşu oluşturacak şekilde ikiye ayrılır ve bunlara arterler, venler ve lenf damarları da eşlik eder. Bronşlar akciğerler girdikten sonra aşağı ve dışarı doğru yönelerek pulmoner loplara desteklemek üzere sağ akciğerde üç ve sol akciğerde iki adet ikincil bronşa dallanır. Lober bronşlar tekrar bölünür ve üçüncül bronşları oluşturur. Üçüncül bronşların her biri daha küçük dallarla beraber bronkopulmoner segmenti oluşturur. Her üçüncül segment bağ dokusu kapsülü ve kan damar ağı ile birlikte her bir akciğerin yaklaşık %10-12'sini oluşturur. Akciğer segmentlerinin bu yapılanması komşu sağlıklı dokuyu zedelemeyen hastalıklı akciğer dokusunun cerrahi rezeksiyonuna olanak vermektedir. Üçüncül bronşlar çapları gittikçe daha da küçülen dallara ayrılır ve son dallar bronşiyol adını alır (Mescher, 2019).

Akciğerler kan temini gaz değişiminde önemli bir rol oynar ve vücuttaki gazlar için bir taşıma sistemi görevi görür. Hem parasempatik hem de sempatik sinir sistemi tarafından innervasyonla hava yolunun genişlemesi ve daralmasının kontrolü sağlanır. Akciğerlerin ana işlevi pulmoner dolaşımdan gelen kanla gaz değişimini gerçekleştirmektir. Bu kan kaynağı oksijensiz kan içerir ve kırmızı kan hücreleri olarak da bilinen eritrositlerin vücuttaki dokulara taşınmak üzere oksijeni topladığı akciğerlere gider. Pulmoner arter pulmoner gövdeden çıkan ve oksijensiz arter kanı alveollere taşıyan bir arterdir. Pulmoner arter bronşları takip ederken birçok kez dallanır ve her dalın çapı giderek küçülür. Bir arteriyol ve eşlik eden bir venül ile beslenir bir pulmoner lobülü drene eder. Alveollere yakın olduklarında pulmoner arterler pulmoner kapiller ağı haline gelir. Pulmoner kılcal ağı, düz kas liflerinden yoksun, çok ince duvarlara sahip küçük damarlardan oluşur. Kılcal damarlar dallanır ve bronşiolle ve alveollerin yapısını takip eder. Bu noktada kılcal duvar alveolar duvarla buluşarak solunum zarını oluşturur. Kan oksijenlendiğinde akciğerlerden hilumdan çıkan çoklu pulmoner damarlar yoluyla alveollerden boşaltılır (Alberto, 2013).

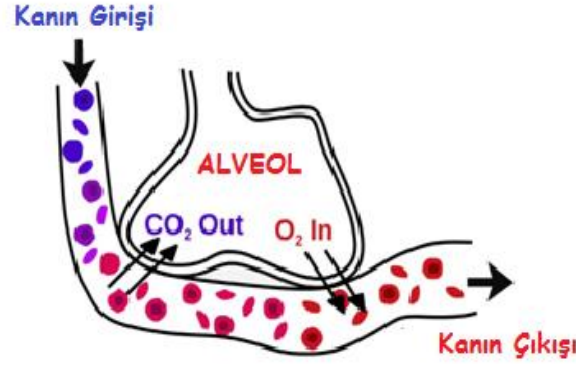
Trakea 6.servikal vertebra seviyesinden başlar ve 4. torakal vertebranın alt kenarı seviyesinde iki ana dala (sağ ana bronş ve sol ana bronş) ayrılarak sonlanır. İkiye ayrılma noktasına trakea bifürkasyonu denir. Trakea yaklaşık 10-11 cm uzunluğunda ve 2 ila 2.5 cm çapındadır. Trakea'nın boyunda bulunan parçasına servikal trakea, göğüs kafesi içerisindeki parçasına ise torasik trakea denir. Solunum sisteminin esas organı olan akciğerler, göğüs boş-

luğunda içerisinde kalbin bulunduğu mediasten her iki yanında yer alırlar sağ ve sol olmak üzere iki tanedir. İki akciğer arasındaki boşluğa mediasten denir. Her bir akciğer koni şeklinde olup tepesine apeks, tabanına bazal denir. Her iki akciğerde damar, sinir ve bronşların girip çıktığı yer hilus olarak adlandırılır. Akciğerlerin göğüs duvarı ile komşu olduğu yüze kostal yüz, iki akciğerin birbirine bakan yüzüne mediastinal yüz, diyafram üzerine oturmuş olan tabanına diyafragmatik yüz denir. Her bir akciğerin ön kenar, alt kenar ve arka kenar olmak üzere üç kenarı bulunmaktadır (Yıldırım, 2004; Marini ve diğerleri, 2018).

Akciğerde dört pulmoner damar vardır ve her bir hilumdan iki çift çıkar. Sol superior pulmoner ven, sol üst lobu ve lingulayı boşaltır. Sol alt pulmoner ven sol alt lobu boşaltır. Sağ üst pulmoner ven, sağ üst ve orta lobu boşaltır. Sağ alt pulmoner ven sağ alt lobu boşaltır. Superior pulmoner venler pulmoner arterlerin önünde ve kaudalindedir. Alt pulmoner venler, pulmoner arterlerin altındadır ve her hilustaki en alt damar olarak kolaylıkla tanımlanabilir. Hem sol hem de sağ pulmoner bağlar, inferior pulmoner venlerin altında ve medialindedir (Dimas ve diğerleri, 2018).

Pulmoner damarlar, kılcal damarlar gibi akciğerdeki alveollerden kaynaklanır. Bu kılcal damar sistemleri, interlobar pulmoner damarlar adı verilen daha büyük damarlarda birleşir. Bu interlobar pulmoner venlerin yapısındaki ve gelişimindeki bir anormallik pulmoner venlerin yanlış hizalanmasıyla birlikte öncelikle alveolar kapiller displazi ile sonuçlanır. İnterlobar pulmoner damarların birleşmesiyle, subsegmental damarlar oluşur. Subsegmental damarlar, akciğerin aynı lobunun birden fazla segmentini boşaltabilir (Marini ve diğerleri, 2018).

Pulmoner venler ile sol atriyumun epikardiyumu arasındaki bağlantının anatomik ilişkisi değişkendir. Damarların adventisyası ile epikardiyumu arasında bir fibröz yağ dokusu düzlemi bulunmaktadır. Damar adventisyasında invajinasyon yapan epikardiyal dokunun devamlılığını olabilir veya epikardiyum atriyal boşluğa girmeden önce damarı kaplayabilir (Grosse, 2010).

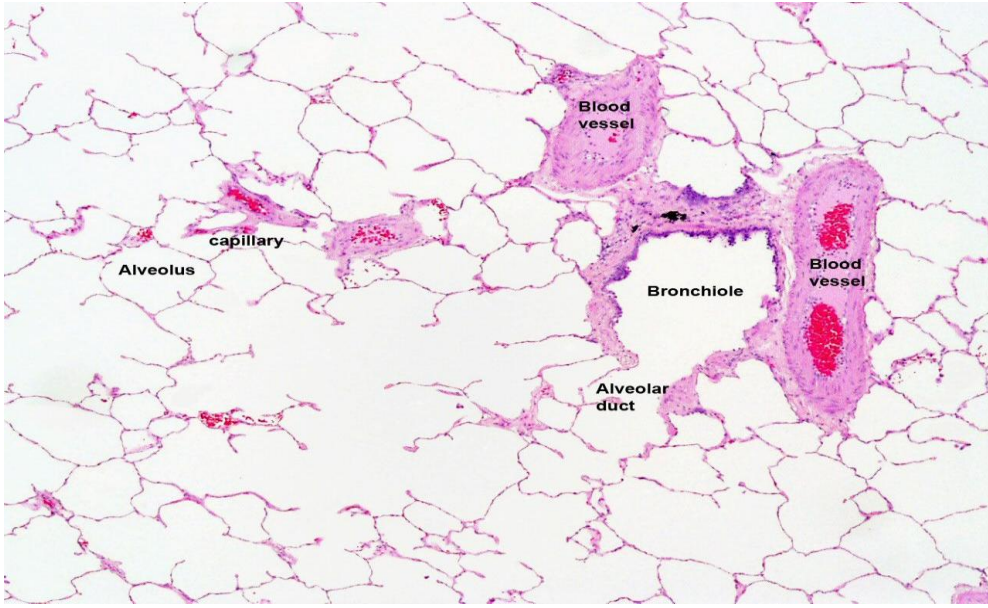


Şekil 10. Alveoller ve kan arasında oksijen ve karbondioksit difüzyonunun basit gösterimi (Hall JE, 2011).

Sağ üst lob lenfleri hiler ve trakeobronşial lenf nodlarına dökülür. Sol üst lobun lenfleri aynı taraf venöz açıyla ve sağ süperior mediastene doğru ilerler. Sağ ve sol alt lob lenfatikleri, inferior mediasten ve subkarinal lenf nodlarına ve buradan sağ superior mediastene (sol alt lob sol superior mediastene de drene olabilir) drene olur (Leonard ve diğerleri, 2007).

2.8. Akciğer Histolojisi

Solunum sistemi iletken kısım ve solunum kısmı olmak üzere iki bileşenden oluşur. İletken kısım dışarıdan solunan havayı getirir. Solunum kısmı gaz alışverişinde ve kanın oksijenlenmesinde yardımcı olur. Solunum sisteminin iletken kısmı burun, nazofarenks, gırtlak, soluk borusu ve bir dizi ardışık daralan bronş ve bronşiyol segmentlerini içerir. İletken kısım terminal bronşiyolde biter. Solunum kısmı solunum bronşiyolünden başlar ve alveolar kanallar, alveolar keseler ile devam eder ve son olarak önemli gaz alışverişinin gerçekleştiği alveollerde biter. Bu iletken pasajların dallanma düzeni bir ağacın dallanmasına benzer ve bu nedenle trakeobronşiyal ağaç olarak adlandırılır (Patwa ve Shah, 2015).



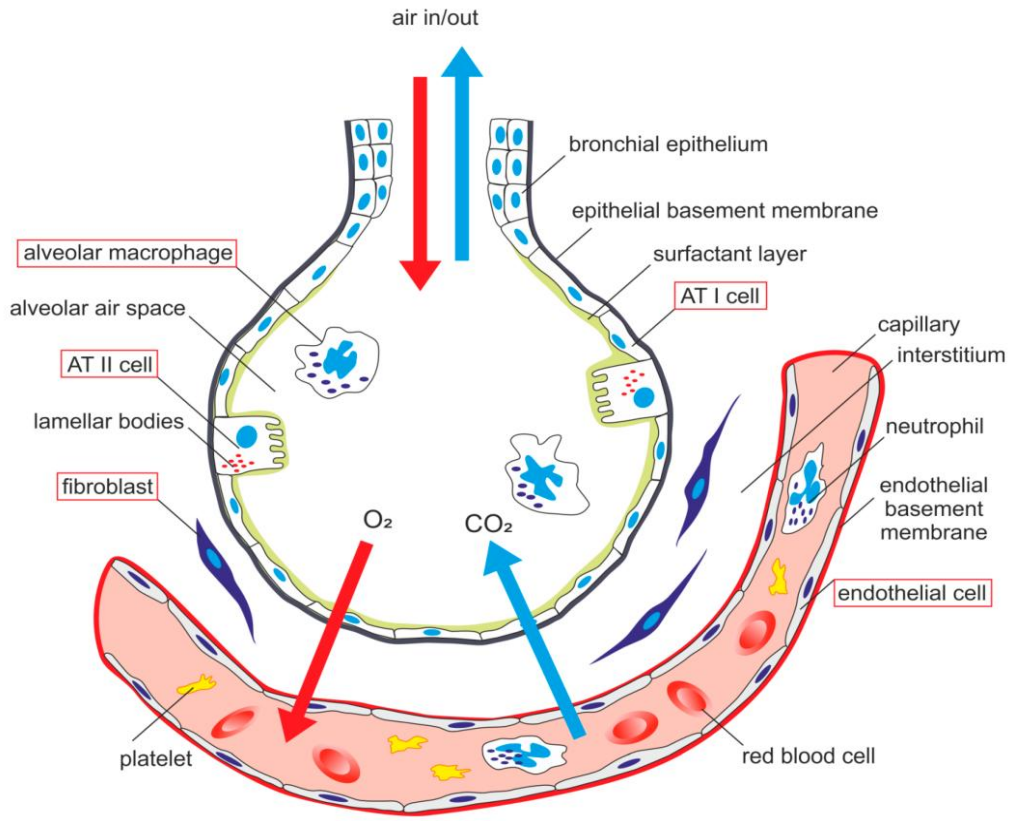
Şekil 11. Akciğerin histolojik görüntüsü

Alveoller solunum sisteminin yapısal ve fonksiyonel birimleridir. Yetişkin bir insanda gaz alışverişi için yaklaşık 80 metrekarelik yüzey alanına denk gelen yaklaşık 300 milyon alveol vardır (Haddad ve Sharma, 2020).

Akciğerin iletim kısmı trakeada başlar ve terminal bronşiyollere kadar uzanır. Akciğerlerin dışında iletim sistemi burun boşlukları, nazofarenks, gırtlak ve soluk borusundan oluşur. Akciğerlerde iletken kısım eşleştirilmiş ana bronşlara doğru uzanır. Bronşlar bir dallanma paterni olarak başlar daha sonra lobar (ikincil) bronş dallarına ve ardından tekrar segmental (üçüncül) bronşlara ayrılır. Üçüncül bronşlar, bronşiyollerde artık kıkırdak bulunmadığından histolojideki ilk değişikliğin gerçekleştiği küçük bronşiyollere ayrılmaya devam eder. Akciğerlerin iletim bölümünün sonu terminal bronşiyoller adı verilen son segmenttedir. Terminal bronşiyoller solunum bronşiyollerine açılır. Bu akciğerin solunum bölümünün başlangıcıdır (Murray, 2010).

İletken kısım akciğere giren havanın hareketi ve uygun hale getirilmesini sağlar. Özel hücreler içeri giren parçacıkları ısıtmak, nemlendirmek ve çıkarmak için işbirliği yapar. Bu hücreler solunum epitelidir ve tüm solunum ağacını oluşturur. Solunum epitelinin çoğu siliyer yalancı çok katlı kolumnar epitelidir. Bu bölgede kirpikli hücreler, kadeh hücreleri, bazal hücreler, fırça hücreleri ve nöroendokrin hücreler olmak üzere beş hücre türü bulunur (Ganesan, 2013).

Kirpikli hücreler en bol olanlarıdır. Kadeh hücrelerinin sağladığı mukus, solunan partikülleri hapsederken silyalar, yutmak veya öksürmek için materyali farekse doğru hareket ettirmede görevlidir. Kadeh şeklindeki görünümüleri ile adlandırılan goblet hücreleri, apikal yüzeylerinde münin granülleri ile doludur ve çekirdek bazal tabakaya yakın konumlanır. Goblet hücrelerinin sayısı solunum ağacı giderek küçüldükçe azalır ve sonunda solunum bronşiyollerine ulaştıklarında kulüp hücreleri (önceden Clara hücreleri) ile değiştirilir. Bazal hücreler bazal membrana bağlanır ve siliyer hücrelerin ve goblet hücrelerinin bağlanma tabakasını sağlar. Siliyer hücreleri ve goblet hücrelerini güçlendirme yeteneklerini korudukları için solunum epitelinin kök hücreleri olarak düşünülebilirler (Evans ve diğerleri, 2001).



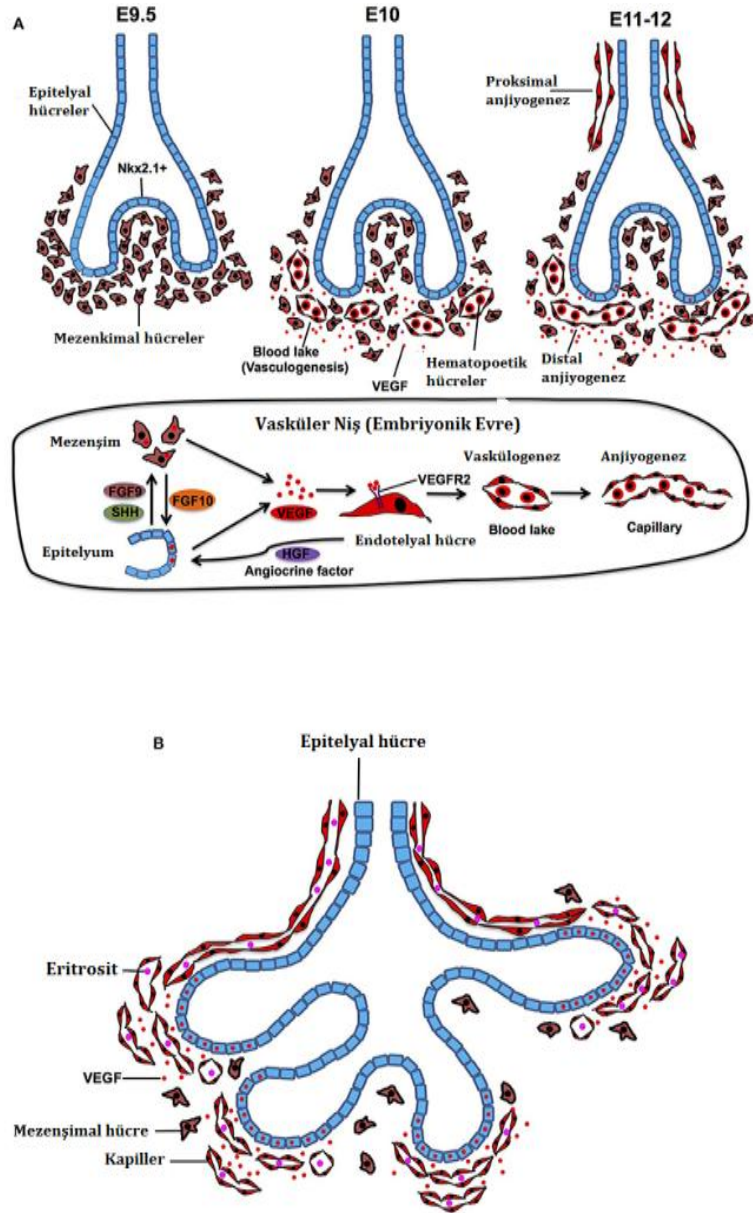
Şekil 12. Alveolar-kılcal membranla ilişkili pulmoner hücrelerin şematik düzenlenmesi. ATI hücresi—alveolar epitelyal tip I hücresi, ATII hücresi—alveolar epitelyal tip II hücresi (Nova ve diğerleri, 2019).

2.9. Akciğer Embriyolojisi

Akciğer ilk olarak döllenen 22 ila 26 gün sonra ön bağırsağın ventral duvarından bir divertikül veya tomurcuk olarak ortaya çıkar. Bu tomurcuk ön bağırsak endoderminden gelen epitel hücreleri, trakeayı oluşturmak için çevreleyen mezenşime yayılım göstererek kaudal olarak büyür. Gebeliğin dördüncü haftasında trakeanın kaudal ucu, her biri sağ ve sol ana bronşları oluşturmak üzere ilerleyen iki bronş tomurcuğuna bölünür. 32 ila 35 gün arasında lobar bronş tomurcukları oluşur ve 10 güne kadar segmental ve subsegmental bronş tomurcukları gelişir. Daha fazla ikilik dallanma devam eder ve 14. haftada toplam hava yolunun %70'i oluşur. Psödoglandüler dönemin sonunda (17 hafta) terminal bronşiyollere kadar iletilen hava yollarının gelişimi tamamlanmıştır. İnsan akciğeri distal hava yollarındaki nişlerde farklılaşmamış akciğer kök hücreleri içerir. Bu hücreler kendini yenileyen klonojenik ve in vitro multipotenttir. İn vivo olarak hasarlı fare akciğerine enjeksiyondan sonra insan akciğer kök hücreleri hasarlı organla yapısal ve işlevsel olarak bütünleşmiş insan bronşiyolları, alveoller ve pulmoner damarlar oluşturur (Hasleton ve Flieder, 2013).

Bronşlar gelişirken bunları çevreleyen splanknik mezenkimden kıkırdak plaklar gelişir. Bronşlardaki düz kaslar ve bağ dokusu ile pulmoner bağ dokusu kılcal damarlar bu mezenkimden meydana gelir. Akciğerlerin gelişimi sırasında splanknik mezenkimden meydana gelen bir visseral plevra tabakası ile kaplanırlar.

Plevral kavite ve akciğerler genişledikçe vücut duvarının mezenkimi içine kaudal olarak büyürler ve kısa sürede kalbe yaslanır. Göğüs bölgesindeki vücut duvarı somatik mezoderminden oluşan pariyetal plevra tabakası ile döşenir. Visseral plevra ve pariyetal arasında kalan boşluk plevral kavitedir (Moore, 2016).



Şekil 13. Psödoglandüler ve embriyonik evre (Mammoto, 2019).

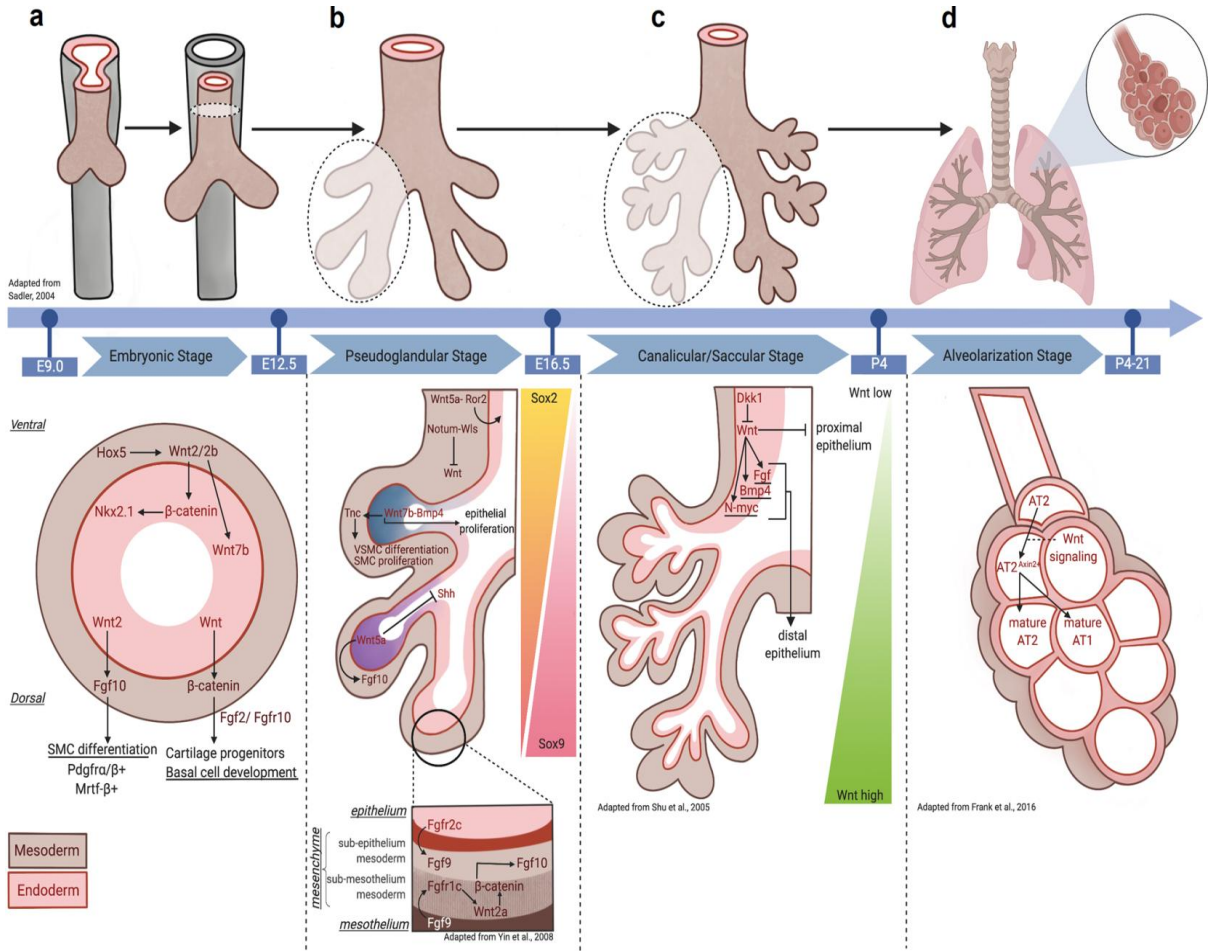
Embriyonik aşamada, NKX2.1 epitel tomurcukları büyür ve mezenşimin (E_{9.5}) içine doğru çıkıntı yapmaktadır. Mezenkim yoğunluğu seyrekleşir ve mezenkimal hücreler VEGF eksprese etmeye başlar ve dış ince endotelial hücreler (EC'ler) ve iç hematopoietik hücrelerden (E₁₀) oluşan vaskülogenez oluşumunu tetikler. Vaskülogenez ilerler, göç eder ve tomurcukların etrafında ilkel bir kılcal pleksusta birleşir (anjiyogenez) (E₁₁₋₁₂). Vasküler nişte, tomurcukların etrafındaki alveolar kılcal ağı uyaran VEGF'nin ekspresyonu, FGF₉ ve SHH gibi türetilen morfojenler tarafından kontrol edilir. Mezenkim kaynaklı FGF₁₀ ayrıca epitelde VEGF üretimini de tetikler. Kılcal EC'den türetilen HGF, hava yolu epitelindeki soy

bağlılığını kontrol eder. B) Pesudoglandüler evrede tekrarlayan epitelyal dallanma ve proksimal arter ve ven tomurcukların etrafındaki kılcal damarlarla iletişim kurmaya başlar. Mezenkim seyrekleşir ve ana VEGF kaynağı mezenkimden epitele kayar, bu da kılcal EC'lerin epitele doğru çekilmesine neden olur (Mammoto, 2019).

Olgun alveollerin yaklaşık %95'i postnatal dönemde gelişir. Doğumdan önce primordial alveoller respiratuvar bronşiyoller ve alveolar keselerde küçük çıkıntılar şeklinde görünürler. Alveol gelişimi 3 yaşına kadar büyük oranda tamamlanmış olur, ancak yaklaşık 8 yaşa kadar yeni alveoller eklenebilir. Olgunlaşmış alveollerin aksine olgunlaşmamış alveoller ilave primordiyal alveol oluşturma potansiyeline sahiptirler. Zamanında doğan bir yenidoğan bebeğin akciğerlerindeki primordial alveol sayısı yaklaşık 150 milyon civarındadır. Üç ile sekiz yaş arasında yetişkinlerde 300 milyon alveol sayısına ulaşır (Moore, 2016).

Akciğer gelişiminin son aşaması doğumdan sonra gerçekleşir. İç alveolar yüzey alanı ikincil septasyon (alveolarizasyon) süreci boyunca ilkel alveollerin daha fazla alt bölünmesiyle önemli ölçüde artar. Doğumdan sonra akciğerde hava yolu sıvısının temizlenmesi, alveol kesesinin genişlemesi, oksijen basıncının artması ve pulmoner dolaşım gibi dinamik ortam değişiklikleri meydana gelir. Bu değişiklikler vasküler büyümeyi uyarır; alveolar kılcal yüzey alanı doğumdan yetişkinliğe ~20 kat artar. Akciğer EC'leri bu dinamik çevresel değişikliklere uyum sağlar ve NO dahil çeşitli vazoaaktif molekülleri salgılayarak doğum sonrası pulmoner dolaşımı düzenler. Endotelyal NO sentazı (eNOS) eksikliği olan fareler, alveolar kılcal EC'lerin azlığını sergiler ve alveolarizasyonu bu EC'den türetilen NO'nun sadece pulmoner vasküler tonu düzenlemekle kalmayıp aynı zamanda bu aşamada alveolarizasyona da katkıda bulunduğunu gösterir (Gao ve diğerleri, 2016).

Doğumda akciğerler amniyotik kavitenin, akciğerlerin ve trakeanın salgı bezlerinden meydana gelen sıvıyla yaklaşık yarı yarıya dolmuş durumdadır. Doğum zamanı yaklaşmış fetusda pulmoner lenfatik damarlar yetişkinlerdekine kıyasla daha büyük ve sayıca daha çoktur. Lenf akışı doğumu izleyen ilk birkaç saatte hızlıdır ve daha sonra azalır. Normal akciğer gelişimi için üç faktör önem taşır: Akciğer gelişimi için yeterli toraks boşluğu, fetal solunum hareketleri (FSH) ve yeterli amniyotik sıvı hacmi. Amniyotik sıvı sızması ya da sıvının düşük üretimi nedeniyle oluşan, oligohidramnios ciddi ve kronikse, akciğer gelişimi gecikir ve fetal toraksın daralmasından dolayı ciddi pulmoner hipoplazi ortaya çıkar (Moore, 2016).



Şekil 14. Wnt sinyallerinin akciğer gelişimi sırasında epitelyal-mezenkimal etkileşimlerinin gösterimi (Aros ve diğerleri, 2021).

Yukarıdaki şekilde gelişimin embriyonik evresi (E9.0–12.5) sırasında, akciğer tomurcuğu trakeal-özofageal septasyondan çıkar. Mezenkimal (kahverengi) HOX5 geni, aşağı akış β -katenin sinyalleme yoluyla NKX2.1 akciğer progenitörünü oluşturmak için endodermal (pembe) Wnt2/2b'yi mekansal-zamansal olarak düzenler. Endodermal Wnt ligandları ayrıca daha sonra SMC farklılaşması ve kıkırdak ve bazal hücre gelişimi için mezenkimal FGF10 ve β -katenin teşvik eder. **b** Psödoglandüler evre (E12.5–E16.5) sırasında, akciğer tomurcukları terminal bronşiyoller geliştirmek için dallanma morfogenezine girer. Mezenkimal Wnt5a, ROR2'ye bağlı mekanizmalar yoluyla trakea ve kıkırdak oluşumunu destekler. Wntless (Wls) ile düzenlenen Notum, mezenkimal Wnt'yi baskılama, trakeal gelişim ve dallanma morfogenezi için gereklidir. Bir Wnt7b-BMP4 sinyal eksenine ayrıca epitelyal proliferasyonu ve mezenkimal vasküler SMC (VSMC) farklılaşmasını ve SMC proliferasyonunu destekler. Ayrıca, epitelyal Wnt5a ekspresyonu uzak uçlarda en yüksektir ve sırasıyla SHH ve

Fgf10 sinyalleşmesinin baskılanması ve aktivasyonu yoluyla dallanma morfogenezini teşvik etmeye çalışır. Mezenşimin daha yakından incelenmesi, hem epitel hem de mezotelyumdan FGF9 sinyalinin, submezotelyal Wnt2a'yı teşvik etmek ve mezenkimal hücre proliferasyonunu kolaylaştırmak için birleştiğini ortaya koymaktadır. **c** Gelişimin kanaliküler/sakküler evreleri (E16.5-P4) sırasında, terminal bronşiyoller daha belirgin hale gelir ve epitelyal keseler oluşturur. Wnt'nin DKK1 tarafından negatif düzenlenmesi, akciğer epitelinin proksimalizasyonu ile sonuçlanır. Yüksek düzeyde Wnt sinyali, kısmen N-MYC-BMP4-FGF sinyalinin 44 aracılık ettiği bir distal hava yolu fenotipini harekete geçirir. **d** Alveolarizasyon aşaması (P4–21), alveolar yapıların olgunlaşmasıyla sona erer. Wnt duyarlı (AXIN2+) ATII hücreleri, olgun bir ATII soyuna doğru eğilerek ve bir ATI soyun yerine akciğer alveologenezini düzenler (Aros ve diğerleri, 2021).

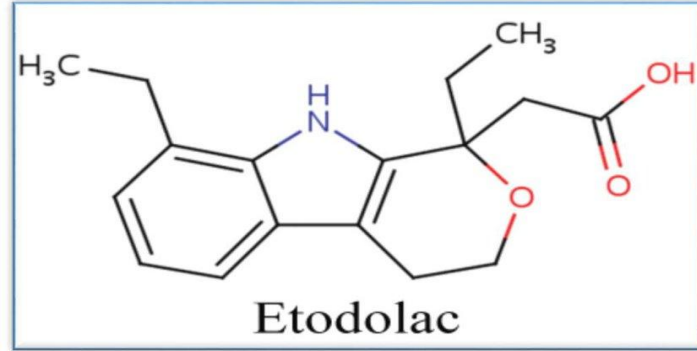
2.10. Etodolak

Etodolak, yalnızca reçeteye satılan ve uzun süreli kronik artrit tedavisi için ve kısa süreli akut ağrı için kullanılan nonsteroid antiinflatuar bir ilaçtır (NSAİİ). Etodolak diklofenak, sulindak, ketorolak ve indometasine benzer NSAİİ'lerin asetik asit türevi sınıfına aittir. Diğer NSAİİ'ler gibi etodolak da ağrı ve inflamatuvar yolaklarda önemli olan prostaglandinlerin oluşumunu bloke eden güçlü bir siklo-oksijenaz (Cox-1 ve -2) inhibitörüdür. Analjezik, antipiretik ve antiinflatuar aktiviteye sahiptir (Tirunagari ve diğerleri, 2009).

Etodolak 1991 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmıştır ve yalnızca reçeteye satılmaktadır. Şu anda yılda 3 milyondan fazla reçete doldurulmaktadır. Mevcut endikasyonlar, osteoartrit ve romatoid artrit tedavisini ve akut ağrının kısa süreli tedavisini içerir. Önerilen doz yanıt ve toleransa bağlı olarak günde 2 ila 4 bölünmüş dozda 400 ila 1200 mg'dır. Diğer NSAİİ'ler gibi, etodolak da genellikle iyi tolere edilir ancak yan etkiler arasında baş ağrısı, baş dönmesi, uyuşukluk, hazımsızlık, mide bulantısı, karın rahatsızlığı, mide ekşimesi, ishal, periferik ödem, kaşıntı ve aşırı duyarlılık reaksiyonları görülebilmektedir (Brocks ve Jamali, 1994).

Etodolak rasemat olarak pazarlanan kiral bir nonsteroid antiinflatuar ilaçtır. Temel olarak stereoselektif farmakokinetiği nedeniyle birkaç benzersiz düzenleme özelliğine sahiptir. Plazmada 'etkin olmayan' R-enantiyomerinin konsantrasyonları, aktif S-enantiyomerinkinden yaklaşık 10 kat daha yüksektir; bu kiral NSAİD'ler arasında yeni olan

bir gözlemdir. Diğer NSAİİ'lerde olduğu gibi, ilaç plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır okside metabolitlere ve asil-glukuronidlere hemen hemen tam biyotransformasyona uğrar. Etodolak sağlıklı gönüllülerde 1 ila 2 saat içinde ulaşılan maksimum plazma konsantrasyonlarıyla iyi emilir. Etodolak'ın eliminasyon yarı ömrü plazmada 6 ila 8 saat arasındadır ve her iki enantiyomer için benzerdir (Sancheti ve ark, 2010).



Prostaglandinler (PG'ler) araşidonik asidin (AA) COX-1 veya COX-2 tarafından oksidasyonundan üretilir. COX-1 PG'lerin temel seviyelerinden sorumludur, COX-2 ise stimülasyondan sonra PG'ler üretir. COX-2'nin seçici inhibisyonunun, enflamasyonda indüklenebilir PG'lerin seviyelerini azalttığı, ancak yapısal PG'ler üzerinde hiçbir etkisi olmadığı düşünülmüştür. Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların çoğu seçici olmayan COX inhibitörleri olarak işlev görür. Mide ülseri gibi ciddi yan etkileri olan NSAİİ'lere alternatif olarak seçici COX-2 inhibitörleri geliştirilmiştir. Etodolak seçici bir COX-2 inhibitörü olarak enflamatuvar bozuklukların ve romatoid artrit gibi ağrılı durumların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Glaser, 1995).

Yakın tarihli bir çalışma, etodolak'ın TRPA1 eksprese eden hücrelerde ve duyu nöronlarında Ca^{2+} girişini indüklediğini ve hücre içi kalsiyumdaki bu artışın bir TRPA1 seçici antagonist tarafından bloke edildiğini göstermektedir. Ek olarak etodolak, alil izotiyosiyanat (AITC) kaynaklı nosiseptif davranışı azalttığı görülmüştür. Etodolak'ın TRPA1'i etkinleştirip etkinleştirmedeğini ve nasıl etkinleştirdiğini daha fazla araştırmak için etodolak'ın AITC'nin neden olduğu akımlar üzerindeki etkileri test edilmiş ve etodolak'ın yalnızca TRPA1'i seçici olarak aktive etmekle kalmayıp aynı zamanda onu duyarsızlaştırdığı bulunmuştur. Sistein kalıntılarının kovalent modifikasyonu TRPA1'in etodolak tarafından modülasyonunda yer almıştır (Inoue ve diğerleri, 2012).

Tıbbi kullanıma sunulmuş bir indolasetik asit türevi ilaçtır. Etkinlik ve yan tesirleri bakımından bu gruptaki ilaçlara bir üstünlüğü yoktur. Ağızdan günde iki kez 200- 300 mg alınır. Binlerce hasta üzerinde yapılan bir incelemeye göre en sık görülen yan tesirleri gastrointestinal tahriş (%13), karın ağrısı(%11), bulantı (%8), diyare(%6), başağrısı(%5) ve vertigo (%4) dur (Kayaalp, 1998).

Anti- enflamatuar analjezik ve anti- piretik etkilidirler. Siklooksijenazı tersinir olarak inhibe ederler. Genellikle antipiretik olarak kullanılmazlar. Güçlü anti-enflamatuvar etkilerine rağmen toksik etkileri indometasinin kullanım alanını akut gut artriti, ankilozan spondilit ve kalçanın osteoartrit ile sınırlamaktadır. Etodolağın etkileri diğer NSAİ'lere benzemektedir. Gastrointestinal sisteme ait istenmeyen etkileri daha azdır (Howland, 2016).

2.10.1. COX-2 selektif NSAİ

COX-1'in substrat bağlanma yeri COX-2'den farklıdır. COX-1'den daha geniş ve daha esnek substrat kanalına sahip olan COX-2'nin bu bölgesine inhibitörler bağlanır. COX-1 ve COX-2 arasındaki yapısal farklılıklar selekoksip ve valdekoksib gibi COX-2 selektif ajanların geliştirilmesini sağlamıştır. Bu COX-1 ve COX-2'yi inhibe eden çoğu NSAİ'den farklıdır. Ancak bazı NSAİ'ler etodolak, meloksikam ve nimesulid başta olmak üzere COX-2 selektivitelerini göstermektedir. COX-2 inhibitörlerini gastrointestinal kanama oluşturma riski düşüktür. Bu selektif ajanların plateletlere de önemli bir etkisi yoktur. Ancak COX-2 seçici ilaçlar böbrek yetmezliğine neden olabilir ve hipertansiyon riskini artırır. Ancak kronik NSAİ kullanımı gereken durumlarda NSAİ ile ilişkili gastrodüodenal toksisite riski yüksek olduğundan COX-2 selektif inhibitörler mantıklı bir seçenek olabilir (Howland, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Etik Kurul Kararı

Deneysel çalışmamızda, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 64583101/2020/094 sayılı ve 28.10.2020 tarihli kararı ile etik yönden herhangi bir sakınca bulunmadığı onaylandı (EK1).

3.1.2. Deneysel Hayvan Modeli

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında 3 aylık dişi balb-c cinsi fare temin edildi. Fareler deney süresince 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam sağlanacak şekilde şeffaf polikarbon malzemeden üretilmiş kafeslerde tutuldu. Farelere deney süresince ad libitum yem ve çeşme suyu verildi.

3.1.3. Cihazlar

Çalışmada rotary mikrotom(Leica RM2265.Germany),etüv,OLYMPUS-bx50 mikroskullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Fareler rastgele 3 gruba ayrıldı. Verilecek maddeler oral gavaj yoluyla verildi. Aşağıdaki tabloda deney gurupları ve yapılan işlemler gösterilmiştir.

Tablo 1. Deneysel grupların oluşturulması

Gruplar	Yapılan işlemler	Süre	Denek Sayısı
Kontrol (Grup-1)	%40 'lik DMSO'da oral gavajla verildi	6 hafta	8
3 hafta Etodolak verilen grup (Grup-2)	10 mg/kg etodolac (etol ford 400 mg) %40 'lik DMSO'da çözündürülerek oral gavajla verildi	3 hafta	10
6 hafta Etodolak verilen grup (Grup-3)	10 mg/kg etodolac (etol ford 400 mg) %40 'lik DMSO'da çözündürülerek oral gavajla verildi.	6 hafta	10

3.2.2. Dokuların Hazırlanması

Farelerden alınan karaciğer, böbrek ve akciğer dokuları %10'luk formalinde 1 hafta boyunca fikse edildi. Dokuların takip aşamasına geçmeden önce nüfuz eden formalini uzaklaştırmak amacıyla akarsu ile yıkama işlemi yapıldı. Ardından dokulardaki suyu uzaklaştırmak amacıyla %60, %70, %80 ve %90'lık alkol serileri hazırlandı. Karaciğer ve böbrek dokuları %90'lık alkolden sonra asetona konuldu. Dehidrasyon, fiksasyonu tamamlanmış dokuların ilk takip aşaması olup parafin gibi sert maddelere dokuların

gömülmesi için gereklidir. Sertleştirici maddelerin dokuya nüfuz etmesi için dokudan suyun uzaklaştırılması gerekir. Dehidrasyon işlemi tamamlandıktan sonra şeffaflandırma işlemine geçildi. Doku içerisindeki dehidratasyon maddesini temizleyecek ve infiltrasyon aşamasında kullanılacak madde ile geçimli olabilen ve dokuya nazik davranabilen bir madde seçilmelidir. Ksilol en sık kullanılan madde ancak uzun süre bekletilmesi durumunda sertleşmeye yol açtığı için 2 seri hazırlandı ve 1'er saat bekletildi. Dehidrasyon ve şeffaflandırmadan sonra dokuların mikrotomda kesilmesi için sertleştirilmeleri gerekir. Bu aşamada amaç dokudaki solüsyonların tutucu madde ile yer değiştirmesi. Bu işleme impregnasyon (doyma) da denmektedir. En sık kullanılan madde parafin. Bu işlemde 3 seri olacak şekilde parafin hazırlandı ve 50'er dk bekletildi. Son parafin kabında temizleyici ajan kokusu almamaya dikkat edildi. Kaplardaki parafin iş yüküne bağlı olarak değiştirildi.

Tablo 2. Dokuların takip aşamaları

Uygulanan İşlem	Kimyasallar	Süre
Tespit	%10'luk formalin	1 hafta
Yıkama	Akarsu	12 saat
Dehidrasyon	Alkol (%70)	60 dk
Dehidrasyon	Alkol (%80)	60 dk
Dehidrasyon	Alkol (%90)	60 dk
Dehidrasyon	Alkol (%99)	60 dk
Dehidrasyon	Aseton	20 dk
Şeffaflandırma	Ksilol	60 dk
Şeffaflandırma	Ksilol	60 dk
İnfiltrasyon	Parafin	50 dk
İnfiltrasyon	Parafin	50 dk
İnfiltrasyon	Parafin	50 dk
Kapatma	Entellan	

3.2.3. Hematoksilen- Eozin Boyaması

Parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde bekletildi.

Tablo 3: Hematoksilen - Eozin boyaması

Uygulanan İşlem	Süre
Ksilol	5 dk
Ksilol	5 dk
Alkol %100	1 dk
Alkol %80	1dk
Alkol %70	1dk
Distile Su	3dk
Mayer Hematoksilen	1dk
Akarsu	2dk
Eozin	1dk
Alkol %70	1dk
Alkol %80	1dk
Alkol %100	1dk
Ksilol	5dk
Ksilol	5dk
Entellan ile kapatma	

3.2.4. İmmünohistokimyasal Boyama

Çalışmada İmmunoCruz Rabbit ABC Staining (sc-2018) boyama kiti kullanıldı. Öncelikle çalışma solusyonları ve tamponlar taze olarak hazırlandı.

Bloke edici serum: 2 ml PBS + 30 µl normal fare bloke edici serumu

Biyotinlenmiş İkincil Antikor: 2ml PBS + 30 µl normal fare bloke edici serumu +20 µl biyotinlenmiş fare anti- tavşan ıgG ikincil antikor stoğu

AB enzim reaktifi : 2 ml PBS + 40 µl biyotinlenmiş HRP (B) + 40 µl reaktif A (avidin). Mix hazırlandıktan sonra 30 dk bekletildi.

Peroksidaz substratı : 1.7 ml distile su+ 3 damla 15x substrat tamponu + 1 damla 50 x DAP kromajen+ 1 damla 50x peroksidaz substratı.

PBS ve Hidrojen peroksit distile suyla seyreltildi.

5 µl alınan kesitler polilizinli lamlara alındı ve etüvde 1 gün bekletildi. Etüvden alındıktan sonra ksilol ve azalan alkol serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Ardından taze hazırlanmış sitrat tamponuna konuldu ve mikrodalgaya alındı. 750 dereceye ayarlanarak kaynama noktasına ulaşınca kadar bekletildi. Ara ara kontrol edilip sıcaklığı istenen düzeye ulaşıttıktan sonra keep warm alındı. 10 dk keep warmda bekletildikten sonra mikrodalgadan alınıp soğumaya bırakıldı. Slaytlar soğuduktan sonra endojen peroksit aktivitesini söndürmek için hidrojen peroksit içinde 10 dk bekletildi. Ardından her biri 5 dk olmak üzere iki kez PBS'de yıkandı. %1.5 engelleme serumunda 1 saat bekletildi. Slaytlar silinip pap pen ile çizildikten sonra antikorlar eklendi. Serum Amiloid A (SAA) ve yardımcı T hücresi (CD₄) antikorları kullanıldı. SAA antikoru böbrek dokusunda, CD₄ antikoru akciğer dokusunda

kullanıldı. Antikorlar dokunun büyüklüğüne göre (50-100) µl arasında çekilip dokunun üzerine eklendi. +4°C'de overnichte bekletildi. 3 kez PBS'de 5'şer dk bekletildikten sonra slaytlar kurutulup üzerine biyotinlenmiş ikincil antikor eklendi. 1.5 saat dokunun üzerinde inkübe edildikten sonra 3 kez PBS içinde 5 dk yıkandı. Slaytlar kurutulduktan sonra AB enzim reaktifinden 1'er damla damlatılıp 30 dk bekletildi. 3X PBS 5 dk yıkamadan sonra peroksidaz substratında 1-3 damla eklendi. Kontrollü bir şekilde 1 ila 10 dk arası bekletildikten sonra distile suda yıkandı. Mikroskop altında kontrol edildikten sonra boyama

olmadıysa tekrar damlatılıp inkübe edildi. Ardından distile suda 5 dk yıkandı. Kesitler zıt boyama için mayer hematoksilen ile boyandı. 5-10 saniye boyada bekletildikten sonra akarsuda yıkandı. Artan alkol serilerinden ve ksilolden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı.

3.2.5. Biyokimyasal Analizler

Farelerden alınan kan örnekleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya laboratuvarında Alanin Amino Transferaz (ALT), Aspartat Amino Transferaz (AST), üre ve kreatin parametrelerine bakıldı.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) paket programının deneme sürümü kullanılarak yapılmıştır. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Bağımsız gruplar normal dağılan değişkenler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) karşılaştırıldı. Normal dağılıma uygunluk gösteren nicel değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri ortalama±standart sapma şeklinde gösterildi. Nitel değişkenlere ilişkin tanımlayıcı istatistikler frekans (%) şeklinde ifade edildi. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

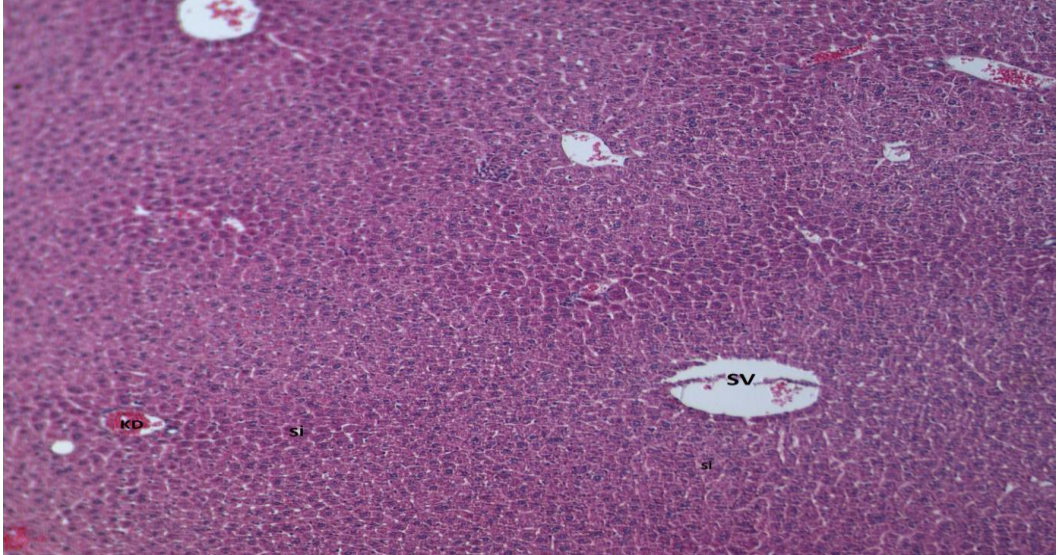
4.1. Işık Mikroskopuna Ait Histolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular (Grup 1)

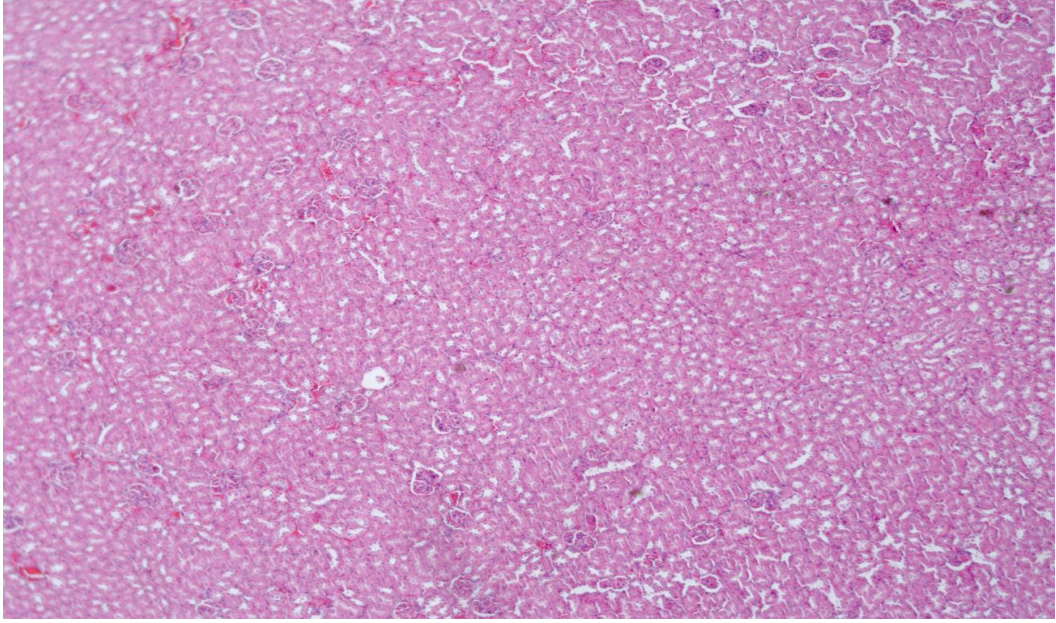
Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda normal morfolojide karaciğer parankimi gözlemlendi. Normal hepatosit hücreleri ve sinüzoidal kordonlar izlendi. Karaciğer epitel hücreleri normal görünümdeydi.

Böbrek dokusuna ait kontrol grubunda böbrek cisimciği ve tübül yapıları normal görünümdeydi. Böbrek cisimciğine ait pariyetal tabaka kesintisiz olarak devam etmekteydi ve Bowman kapsülü normal görünümdeydi. Proksimal ve distal tübüller normal morfolojide izlendi.

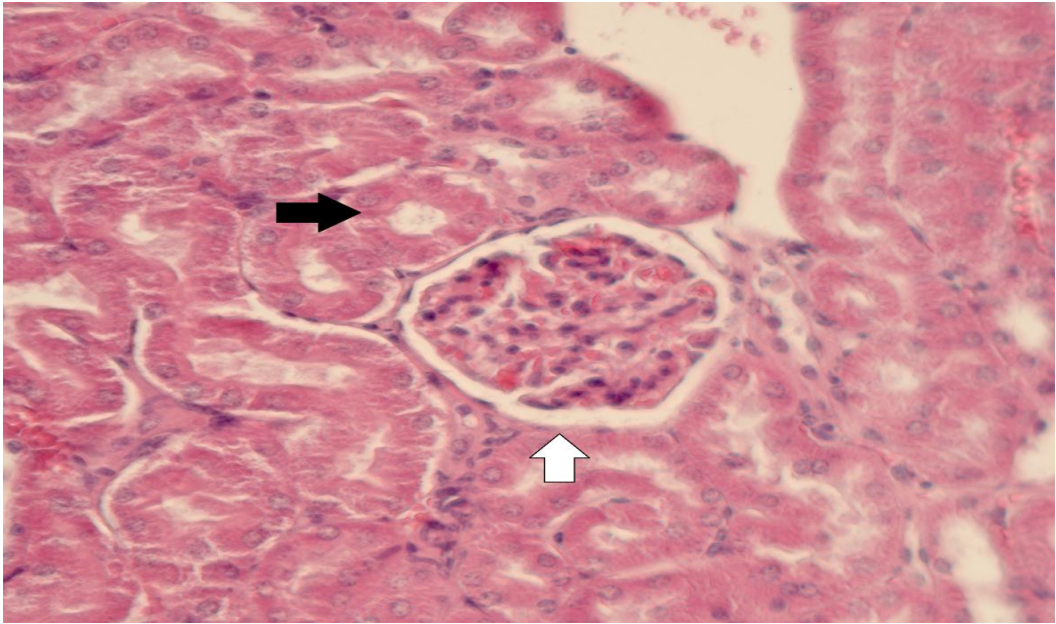
Akciğer dokusuna ait kontrol grubunda normal akciğer parankimi ve hava yolları gözlenmekte epitel boyunun ve subepitel kalınlığının normal olduğu gözlemlendi. Solunum yolları epitelinin düzenli bir şekilde devam ettiği izlendi.



Resim 1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu, normal karaciğer yapısı (Hematoksilen - eozin, 10x).

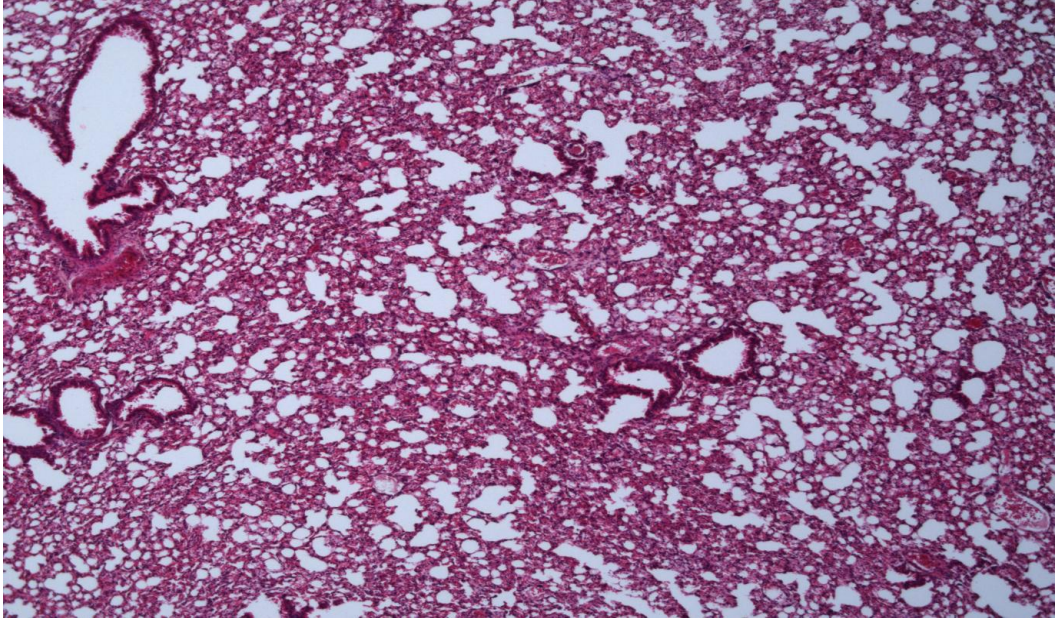


Resim 2. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu görülmektedir. (Hematoksilen - eozin, 5x).

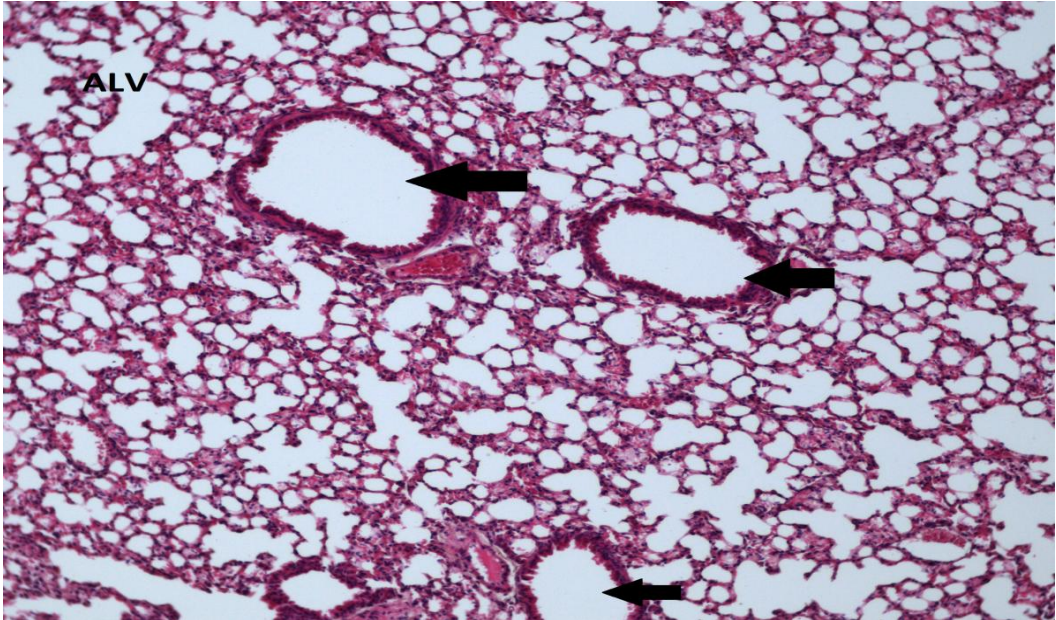


Resim 3. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu, normal morfolojide bowman kapsülü görülmekte ve korusu çevreleyen bazal membran yapısı kesintisiz devam etmektedir. Bowman aralığı ve tubulus epitelleride normal izlenmektedir (Hematoksilen - eozin, 40x).

siyah ok: renal tübül, **beyaz ok:** böbrek cisimciği



Resim 4. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu görülmektedir. Normal akciğer parankimi ve hava yolları gözlenmekte (Hematoksilen - eozin, 5x).



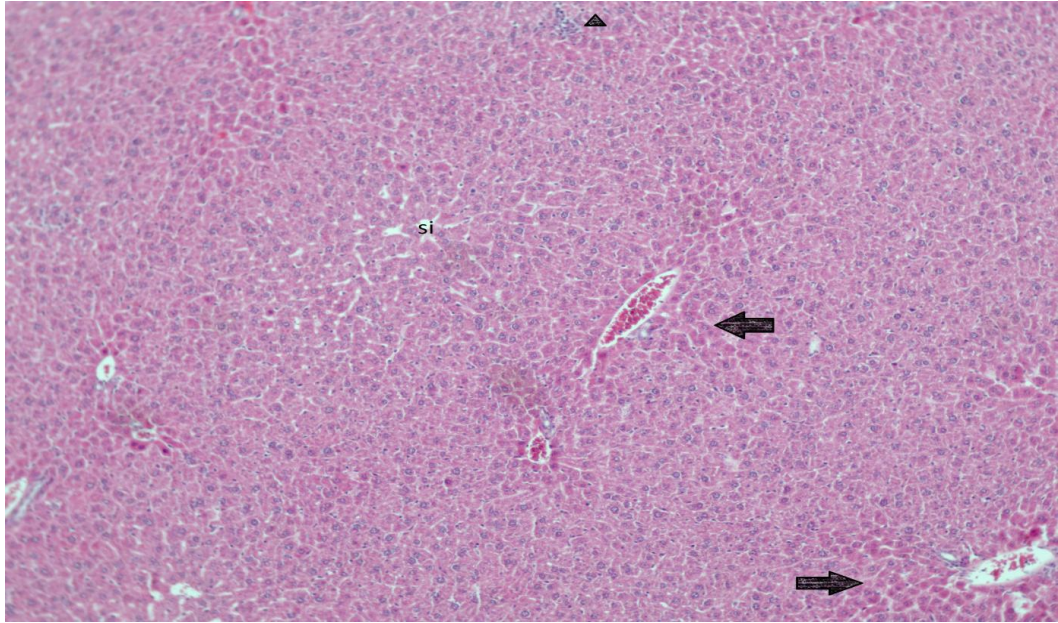
Resim 5. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu görülmektedir. Bronşiyoller ve alveoller normal morfolojide izlenmektedir. (Hematoksilen - eozin, 10x). **siyah ok:**bronşiol, **ALV:** alveol.

4.1.2. 3 Hafta İlaç Verilen Gruba Ait Bulgular (Grup 2)

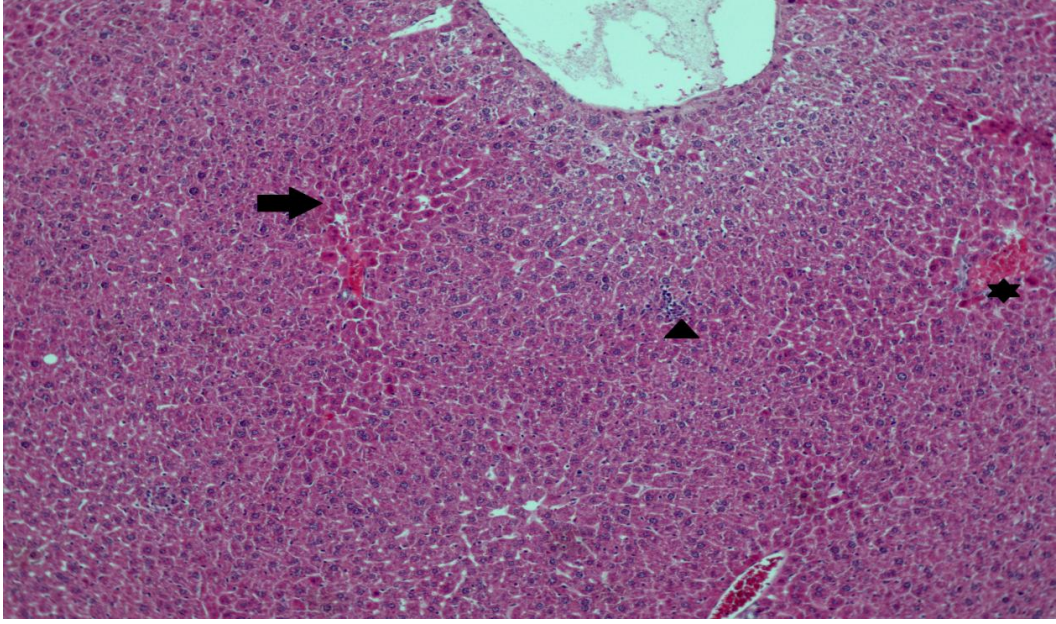
3 hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusu incelendiğinde yer yer sinüzoidal dilatasyonlar gözlemlendi. Nekroza giden hücreler görüldü ve karaciğer epitel hücre sitoplazmasında granüller ve vakuoller izlendi. Piknotik ve hiperkromatik çekirdekli hücreler gözlemlendi.

3 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu incelendiğinde proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon gözlemlendi. Tubulus epitelinde dejenerasyon ve yer yer dökülmeler görüldü. Bowman aralığı ve böbrek cisimciği normal morfolojide izlendi.

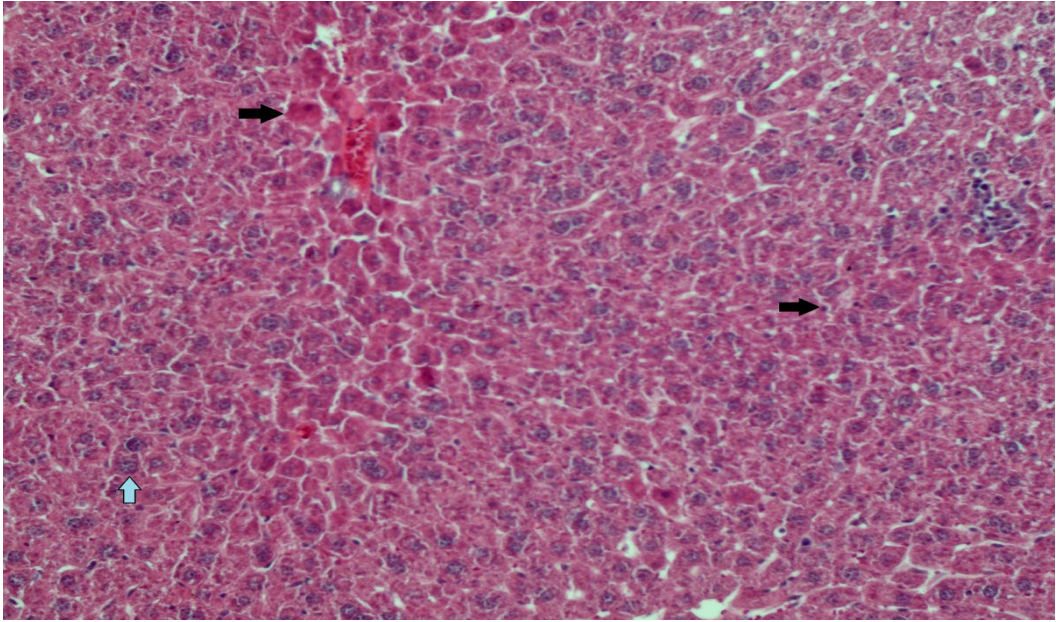
3 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunda bronşiyollerde ve venlerde dilatasyon görüldü.



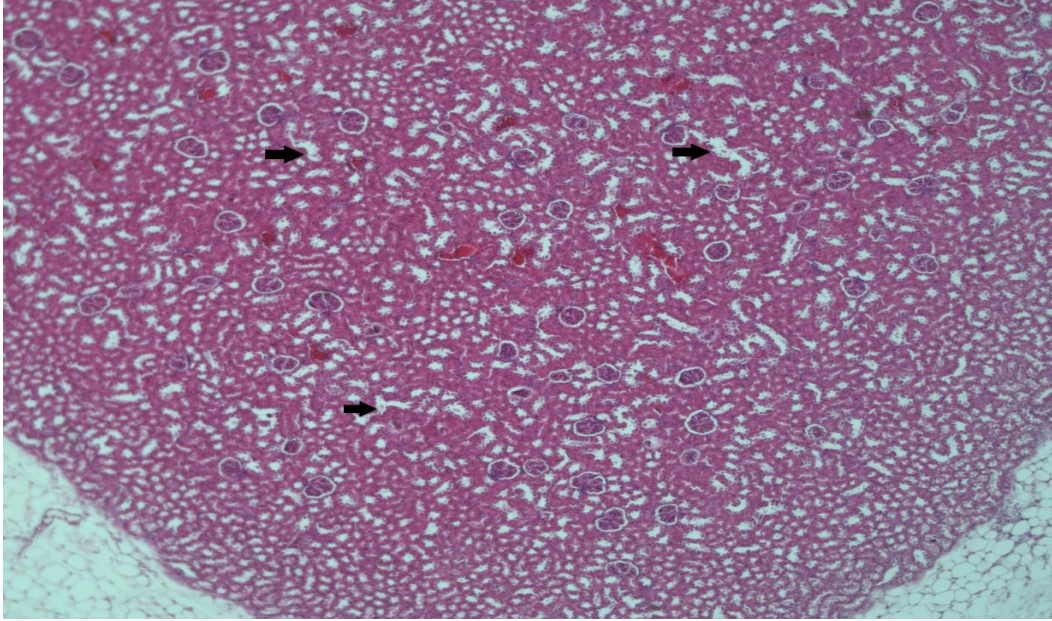
Resim 6. 3 hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusu, yer yer sinüzoidal dilatasyonlar görülmektedir. Nekroza giden hücreler izlenmektedir (Hematoksilen - eozin, 10x).



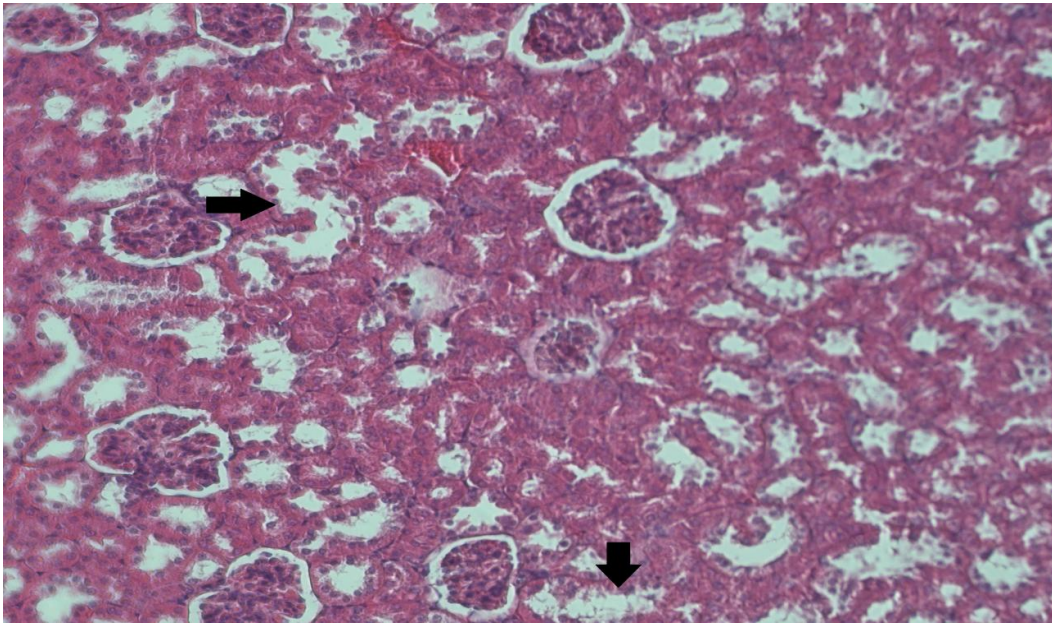
Resim 7. 3 hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusu. Mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmektedir. Yer yer kanamalar mevcut ve nekrotik hücre kümeleri izlenmektedir (Hematoksilen - eozin, 10x).



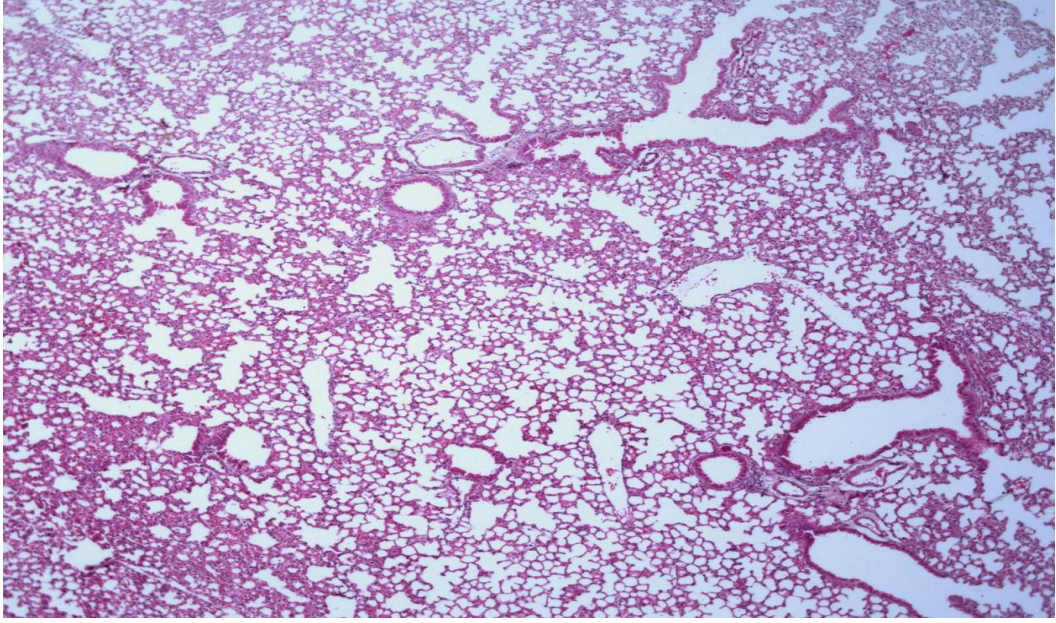
Resim 8. 3 Hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusu. Granüler ve vakuoler dejenerasyon izlenmektedir. Piknotik ve hiperkromatik çekirdekli hücreler gözlenmektedir (Hematoksilen-eozin, 20x). **mavi ok:** vakuolizasyon , **siyah ok:** piknotik ve hiperkromatik çekirdekler)



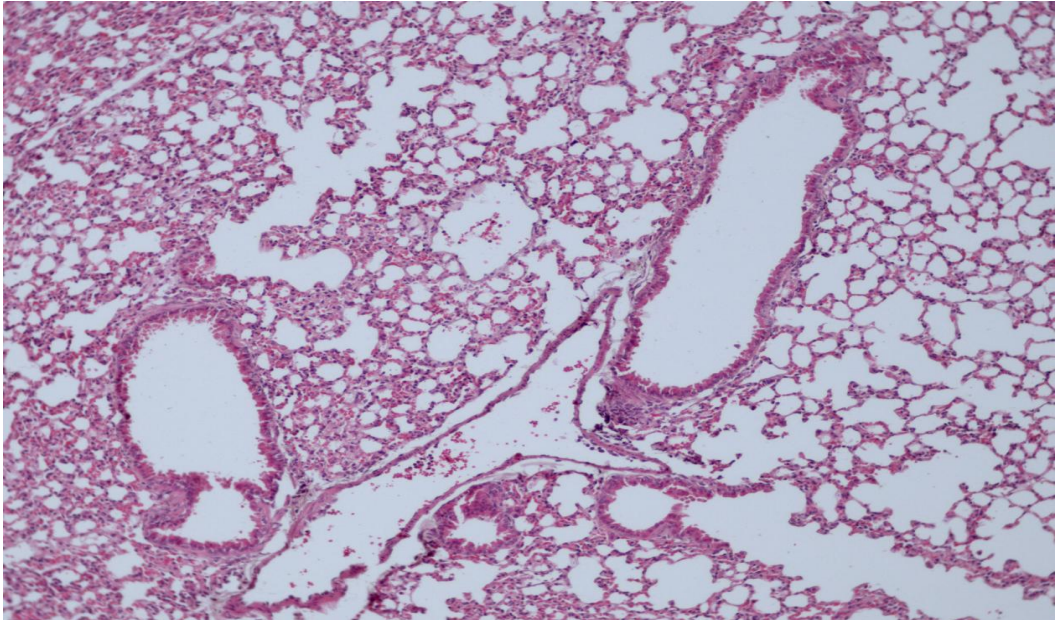
Resim 9. 3 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu. Dokuda tubuler dilatasyon görülmektedir (Hematoksilen-eozin, 5x). **Siyah ok:** tubuler dilatasyon.



Resim 10. 3 haftalık ilaç verilen böbrek dokusunda proksimal ve distal tübül epitelinde dejenerasyon ve dilatasyon görülmektedir (Hematoksilen-eozin, 20x). **siyah ok:** tubulus epitelini.



Resim 11. 3 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunda bronşiyollerde genişleme görülmekte. (Hematoksilen-eozin, 5x)



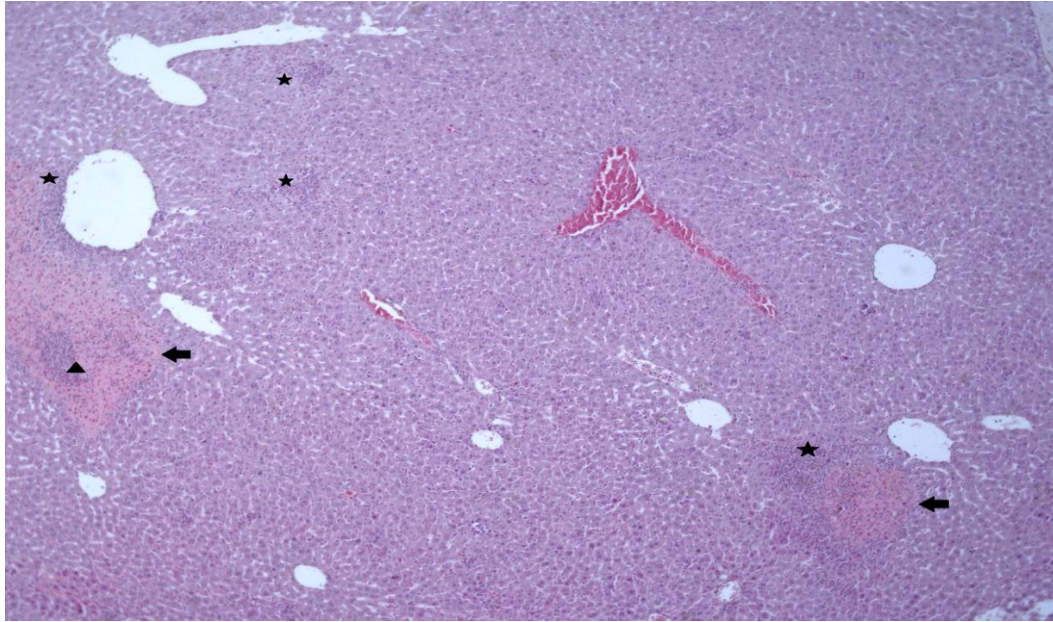
Resim 12. 3 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu. (Hematoksilen-eozin, 10x).

4.1.3. 6 Hafta İlaç Verilen Gruba Ait Bulgular (Grup 3)

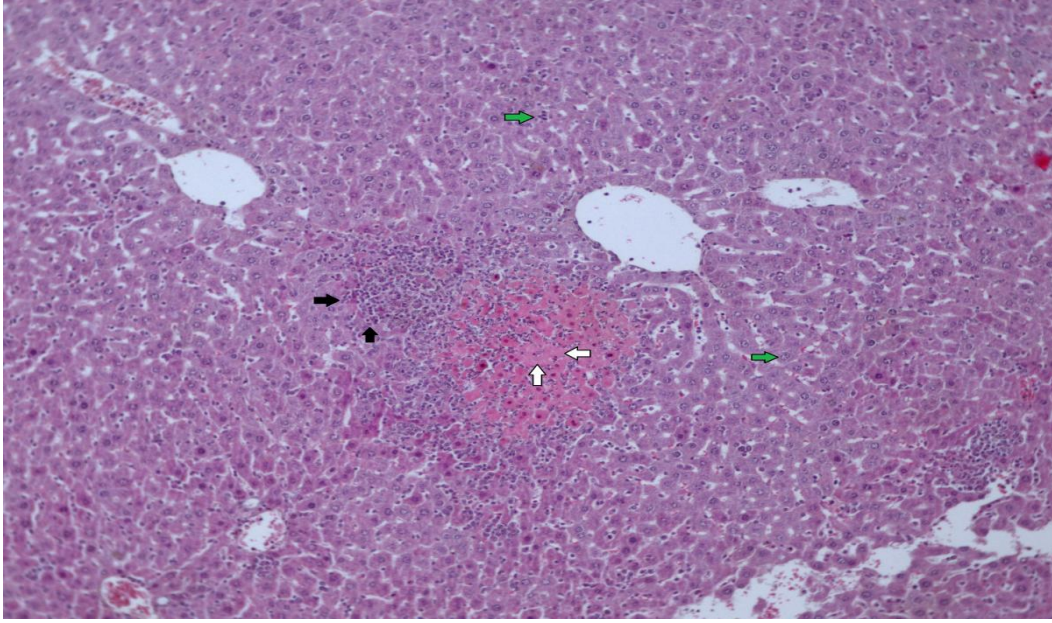
6 hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusunda portal venin çevresinde sinüzoidal dilatasyon gözlemlendi. Parankimde piknotik ve hiperkromatik çekirdekli hücreler görüldü. Geniş bir alanı kaplayan nekroza uğramış hücreler ve onları saran fagositik sisteme ait hücreler izlenmektedir.

6 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunda tubulus lümenlerinde yaygın nötrofil lökosit infiltrasyonu izlendi. Tubulus epitellerinde ciddi bir dejenerasyon ve dilatasyonun olduğu görüldü. Tubulus epitellerinde dökülmeler izlendi.

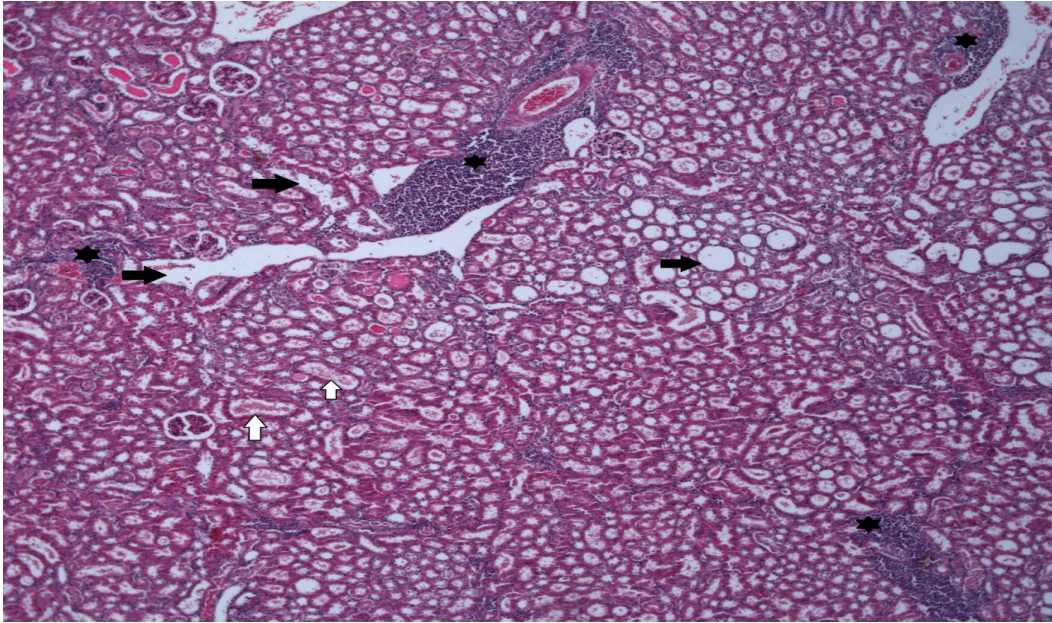
6 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunda da bronşiyollerde ve venlerde dilatasyon gözlemlendi.



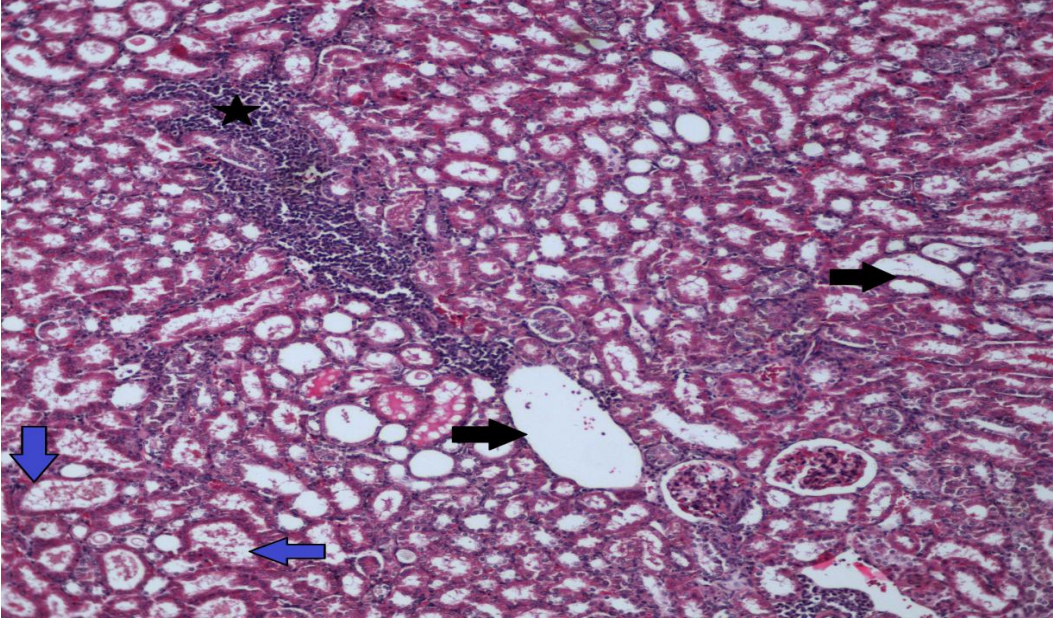
Resim 13. 6 hafta ilaç verilen gruba ait karaciğer dokusu. (Hematoksilen-eozin, 5x). **yıldız:** mononükleer hücre infiltrasyonu, **üçgen:** granülom, **siyah oklar:** nekrotik hücre kümeleri



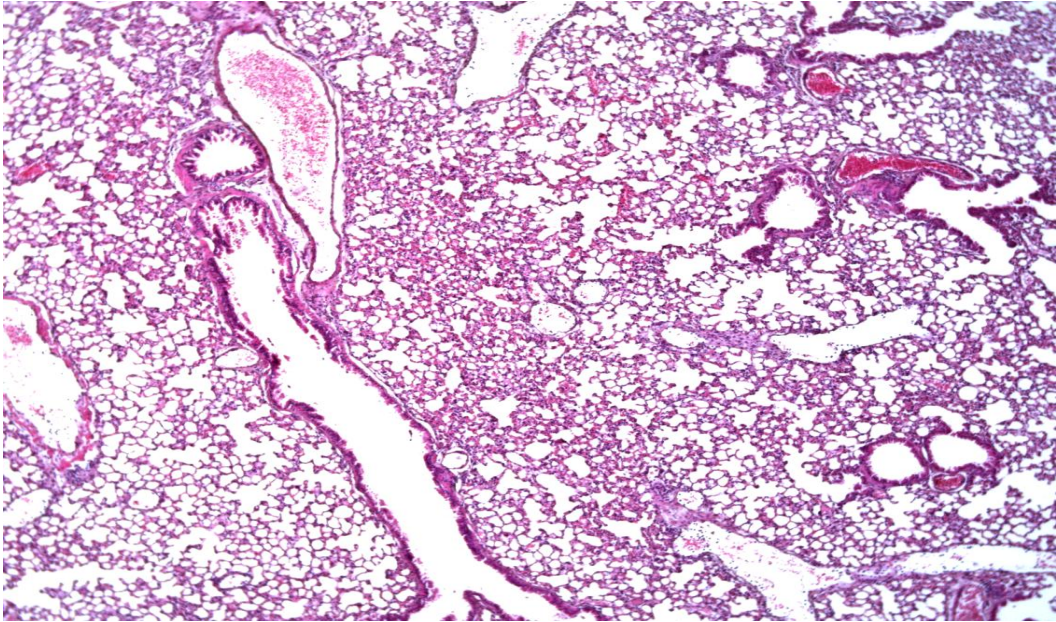
Resim 14. Grup 3'e ait karaciğer dokusu. Mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmektedir ve nekrotik hücreler izlenmektedir (Hematoksilen-eozin, 10x). **beyaz oklar:** karyolisiz, **siyah oklar:** granülom, **yeşil oklar:** piknotik çekirdeği ve vakuolize olmuş hücreyi göstermektedir.



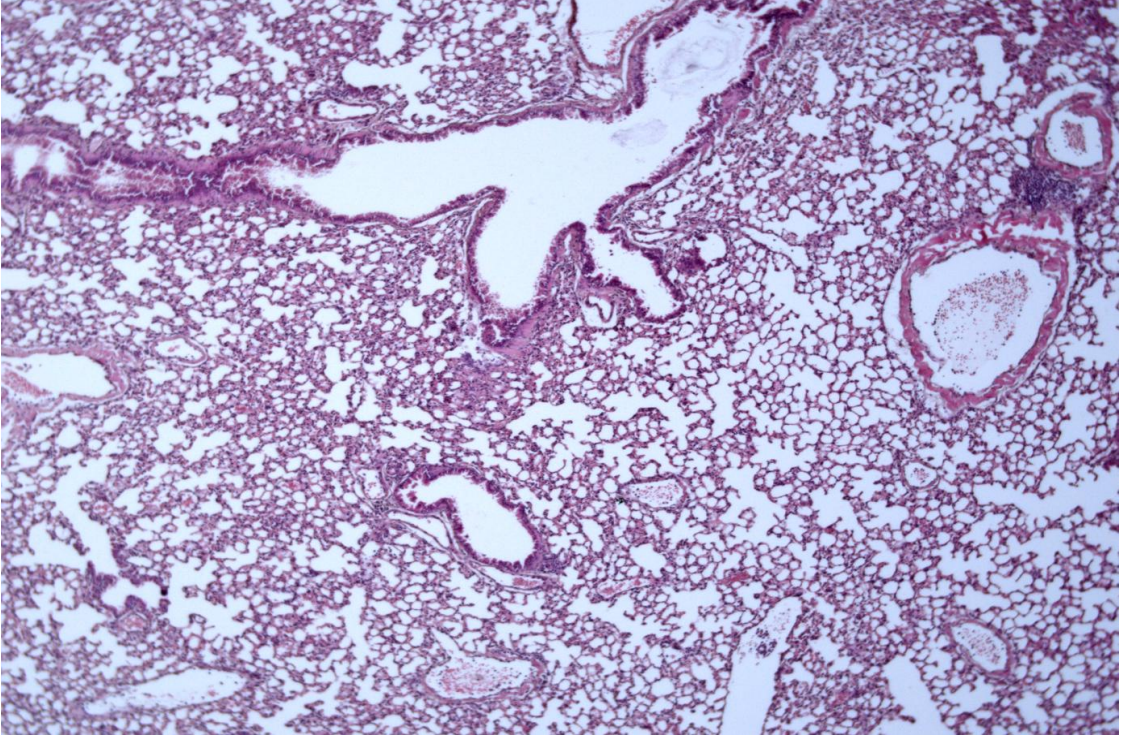
Resim 15. 6 haftalık etodolak verilen grup. Tubulus lümenlerinde yaygın nötrofil lökosit infiltrasyonu görülmektedir (Hematoksilen-eozin, 5x). **yıldız:** mononükleer hücre infiltrasyonu **siyah ok:** tubuler dilatasyon, **beyaz ok:** tubuluslarda lümene dökülmüş epitel.



Resim 16. Grup 3'e ait böbrek dokusu. Çok miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmektedir. Tubulus epitellerinde dejenerasyon ve dilatasyon mevcut. (Hematoksilen-eozin, 10x). **yıldız:** mononükleer hücre infiltrasyonu, **siyah ok:** tubuler dilatasyon, **mavi ok:** tubuluslarda lümene dökülmüş epitel ve dejenerasyon



Resim 17. 6 haftalık ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu. Venlerde ve bronşlarda dilatasyon görüldü (Hematoksilen -eozin, 5x).



Resim 18. 6 haftalık ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (Hematoksilen -eozin, 10x).

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Histolojik (yapısal) değişiklikler yarı nitel değerlendirme yöntemiyle karşılaştırıldı. Buna göre:

(-) (negatif puan) : Hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

(+) (1 pozitif puan): Hafif derecede,

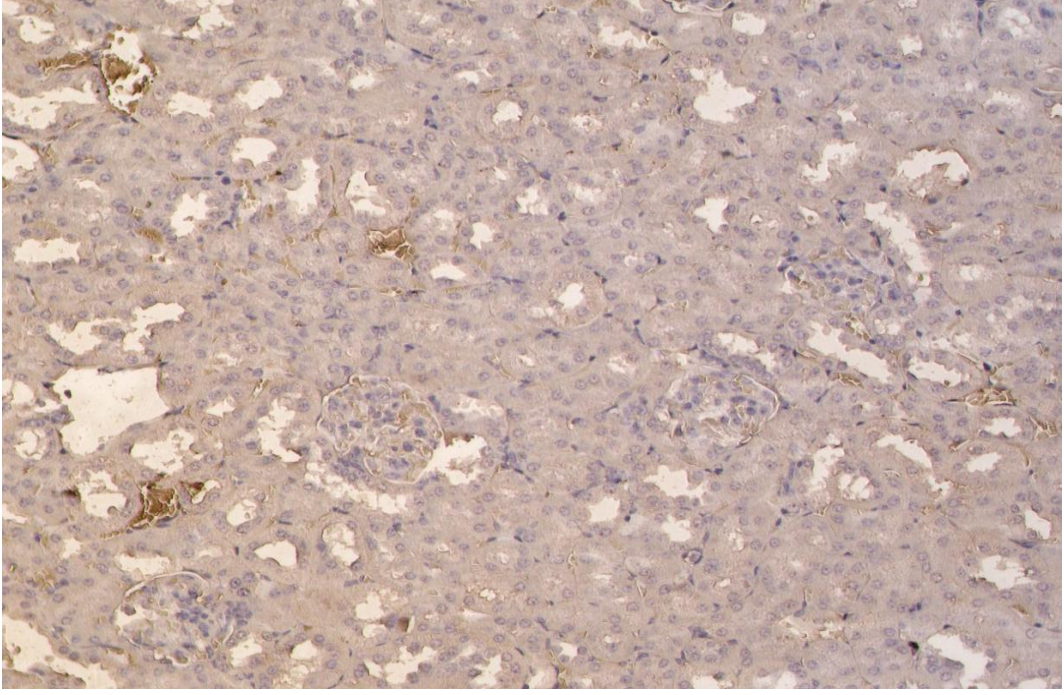
(++) (2 pozitif puan): Orta derecede,

(+++) (3 pozitif puan): Ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.

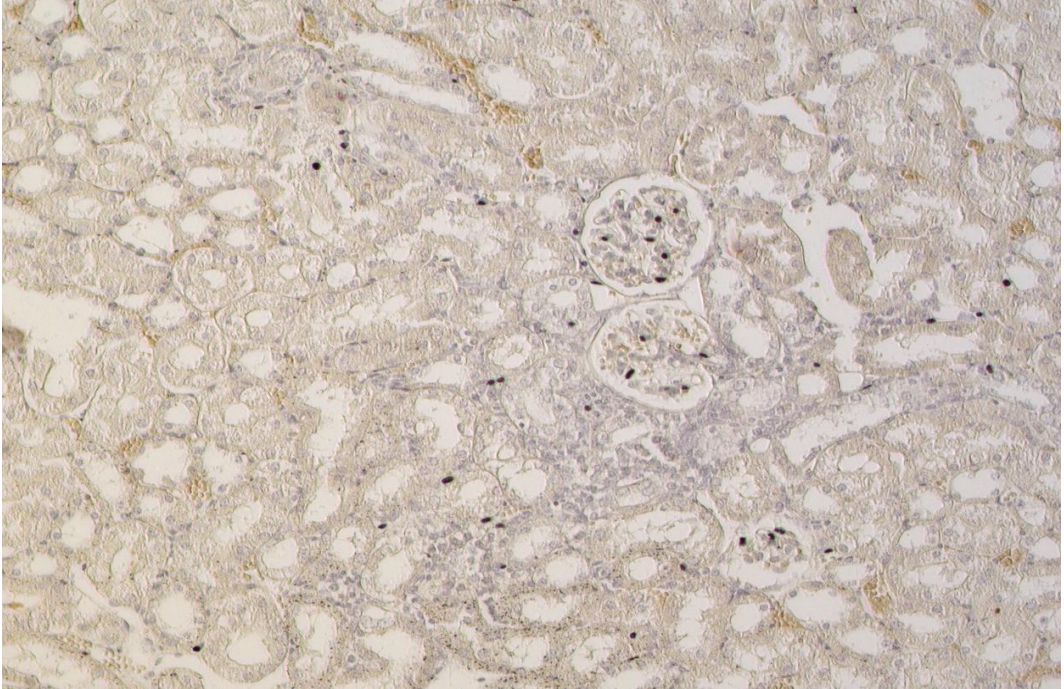
Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyama yarı nitel derecelendirme tablosu

SAA	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Boyanma Derecesi	-	-	++

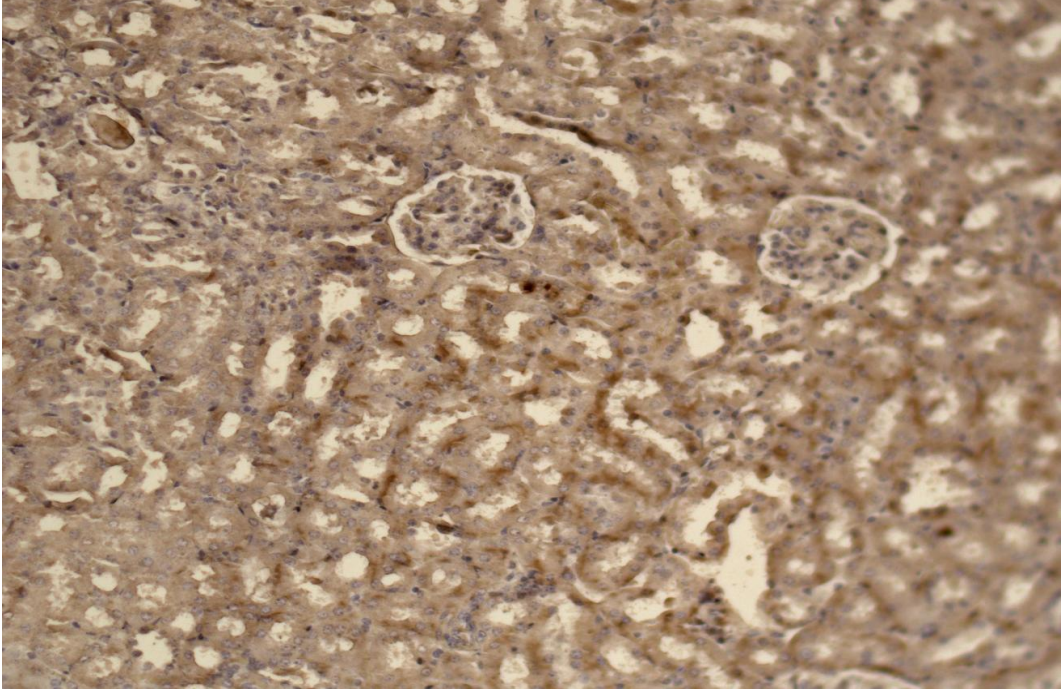
CD ₄	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Boyanma Derecesi	+	++	+++-/+



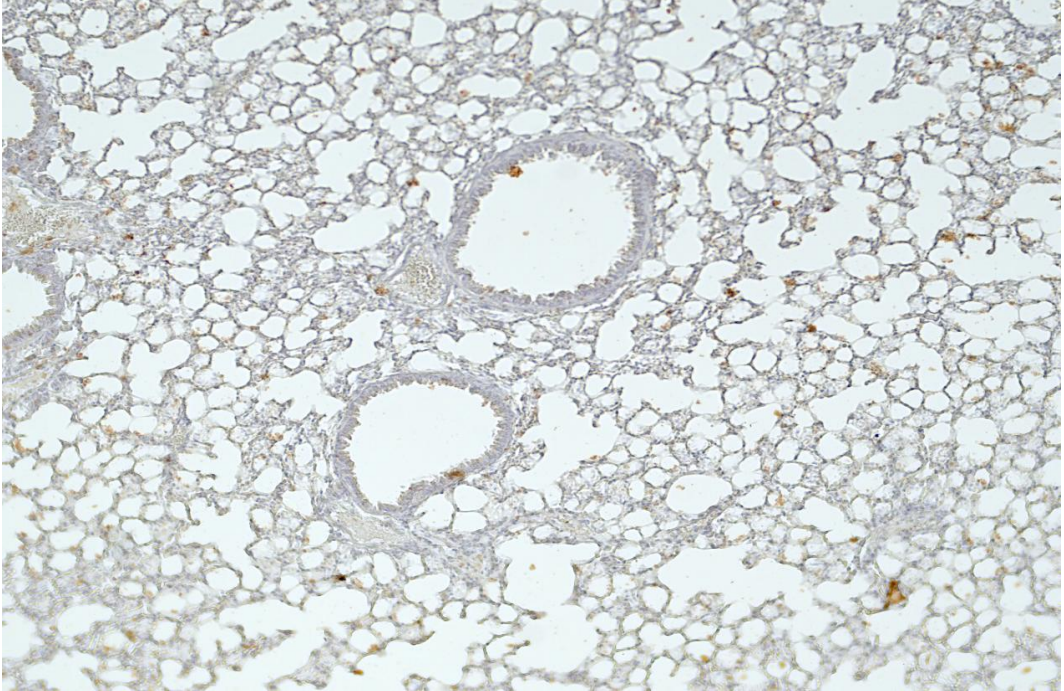
Resim 19. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu (SAA İmmün boyama 20x)



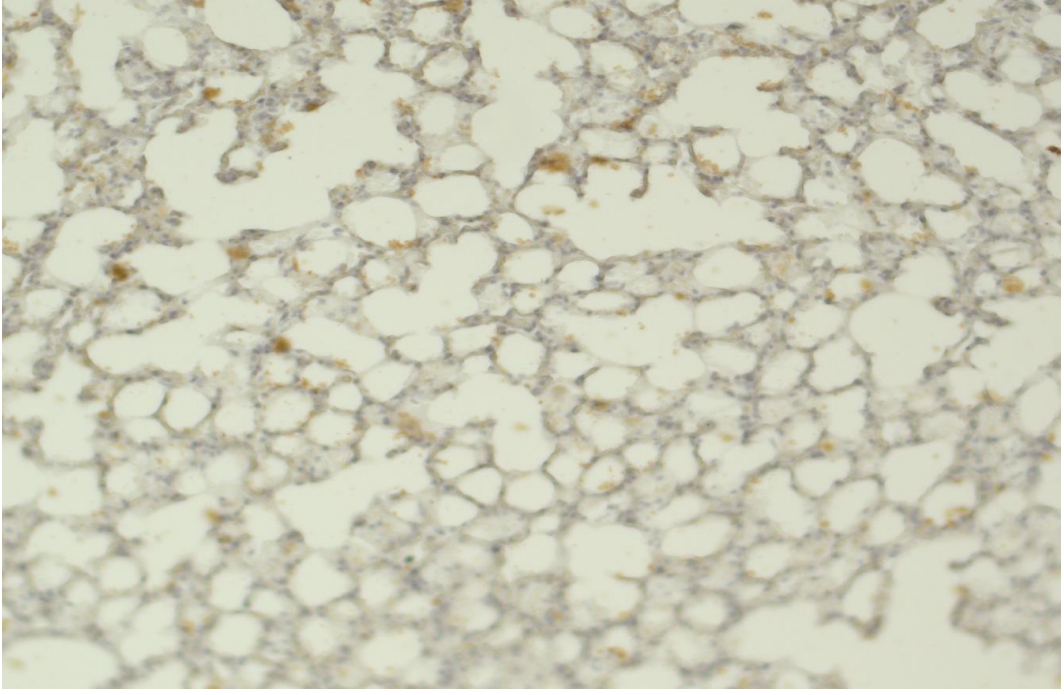
Resim 20. 3 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu (SAAİmmün boyama 20x).



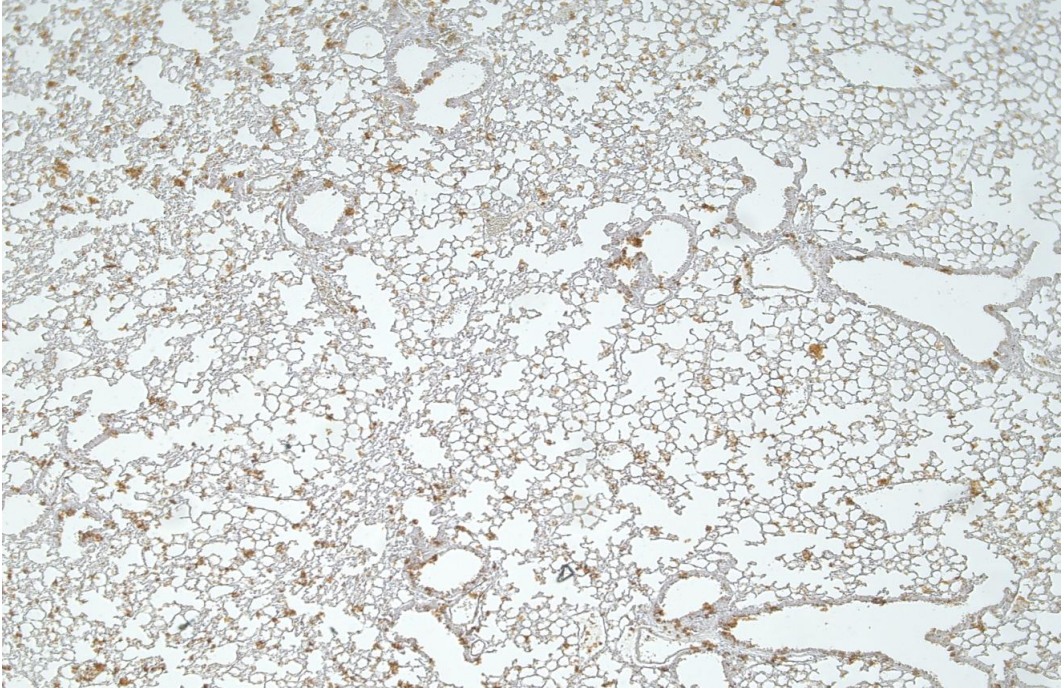
Resim 21. 6 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusu (SAAİmmün boyama 20x).



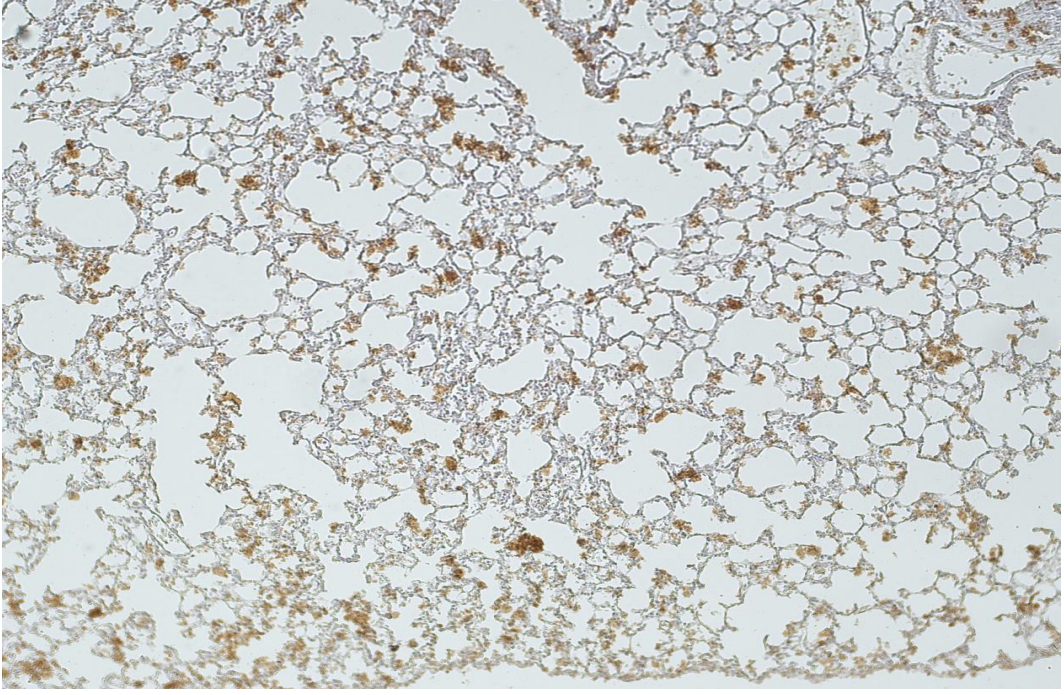
Resim 22. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu. (CD4 İmmün boyama 10x).



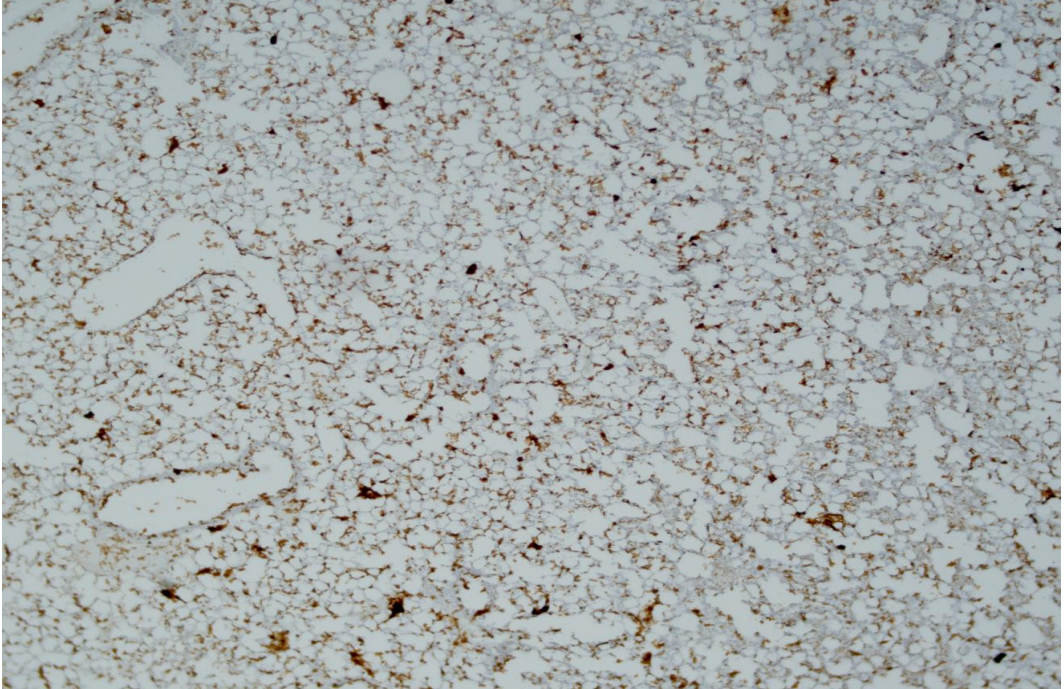
Resim 23. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu (CD4 İmmün boyama 10x).



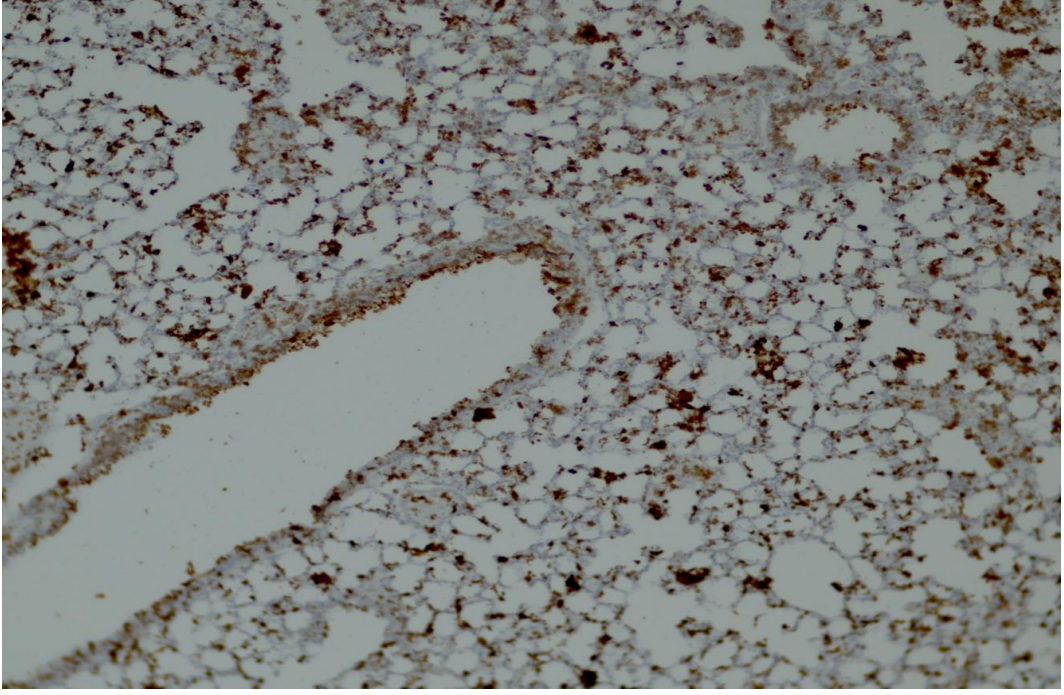
Resim 24. 3 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 İmmün boyama 5x).



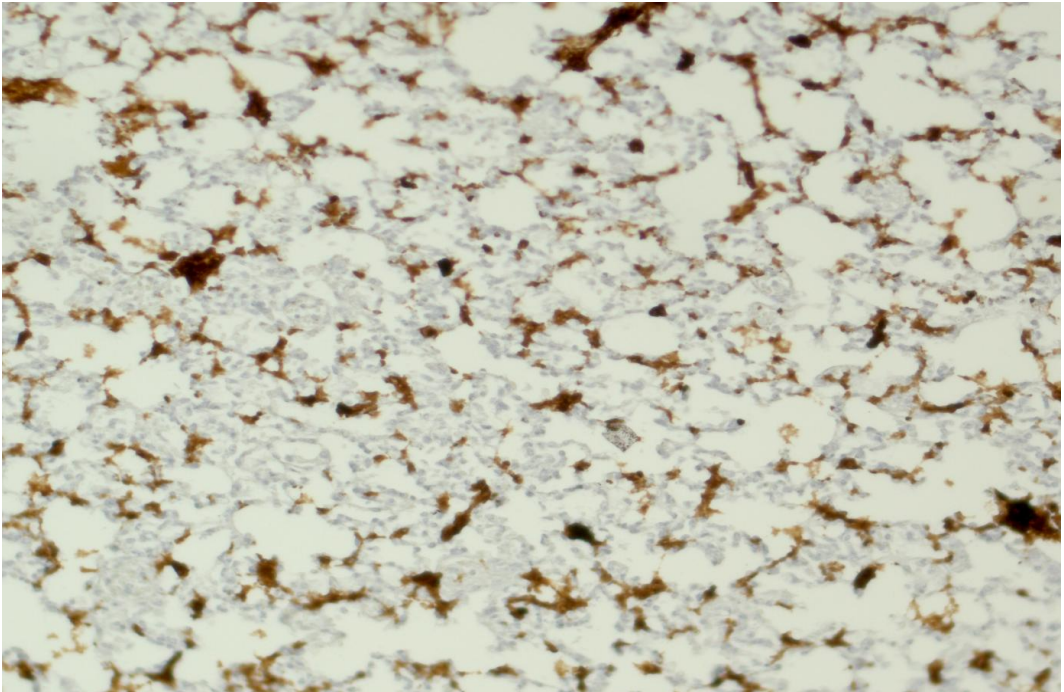
Resim 25. 3 haftalık gruba ait akciğer dokusu (CD4 İmmün boyama 10x).



Resim 27. 6 haftalık ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün Boyama 5x).



Resim 28. 6 haftalık ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 immün Boyama 10x).



Resim 29. 6 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusu (CD4 İmmün boyama 20x).

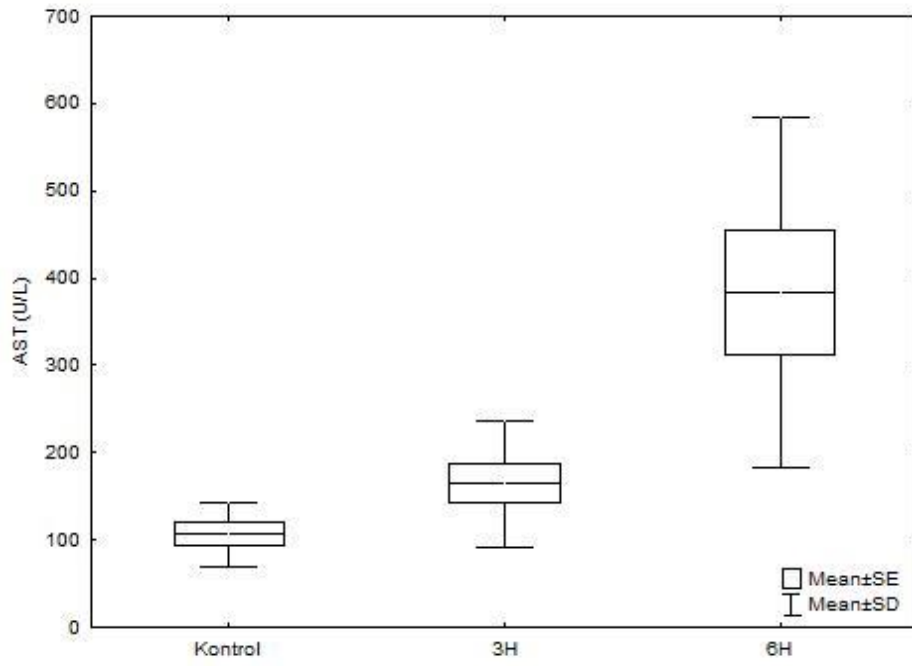
4.3. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 5. ALT, AST, Üre ve kreatin değerlerinin ortalaması

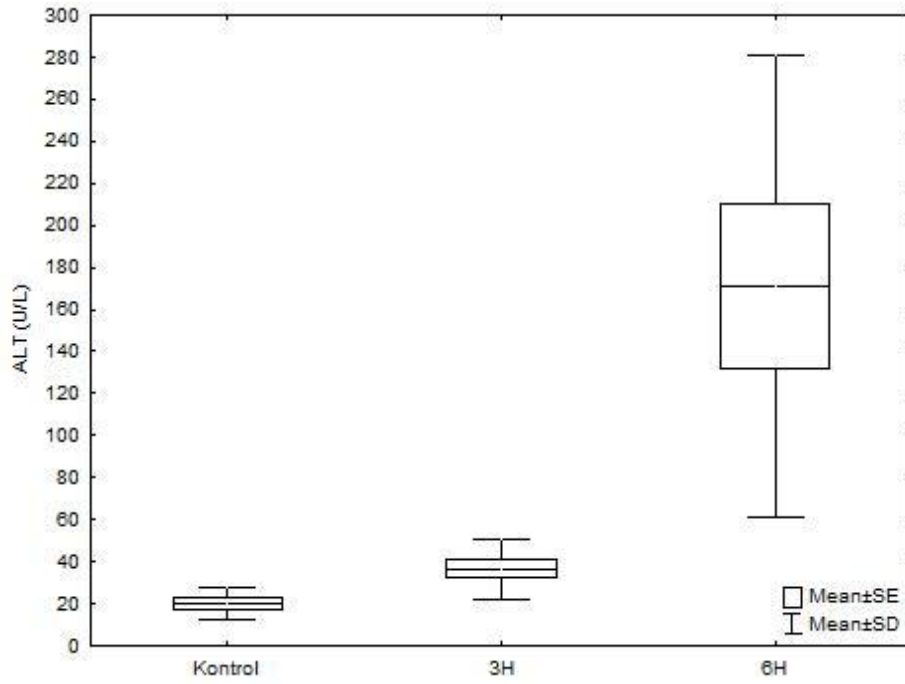
Parametreler	Kontrol grubu (n=7)	3 hafta ilaç verilen grup (n=10)	6 hafta ilaç verilen grup (n=8)	P Değeri
ALT [U/L]	20,43 (11-32)	36,60 (21- 68)	171,13 (51-309)	<0.001*
AST [U/L]	106,71 (61-155)	164,80 (66-283)	383,63 (155-772)	=0.001*
Üre [mg/dL]	33,43 (26-40)	44,70 (31-60)	64,25 (42-96)	<0.001*
Kreatin [mg/dL]	0.300 (0.22-0,43)	0,397 (0,28-0,56)	0.566 (0,47-0,72)	<0.001*

Tablo 6. ALT, AST, Üre ve kreatin değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması ve p değerleri

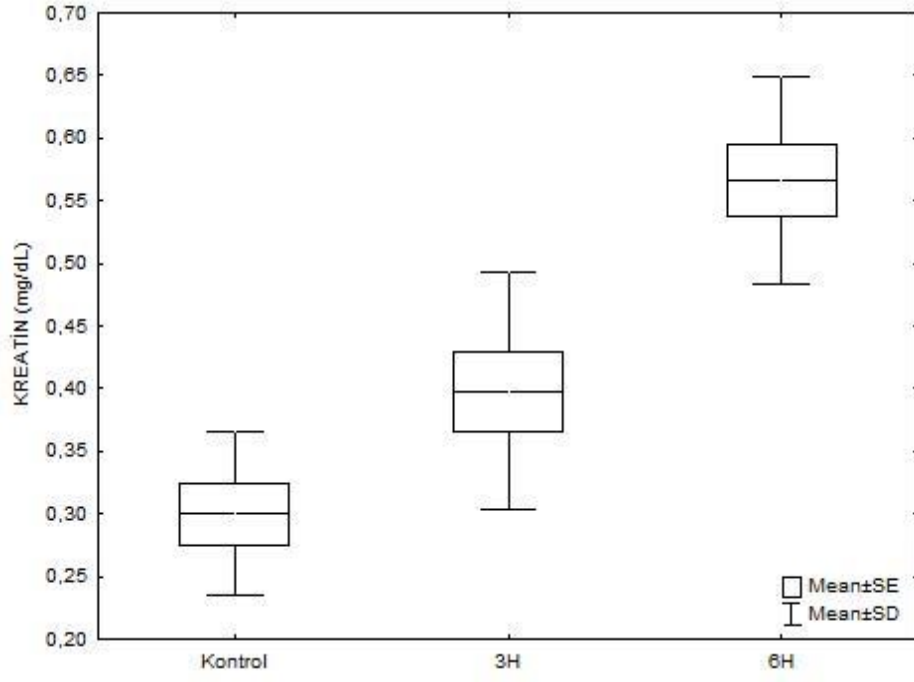
Gruplar (p değerleri)	ALT [U/L]	AST [U/L]	Üre [mg/dL]	Kreatin [mg/dL]
Kontrol - 3H	>0.86	>0.61	>0.18	>0.07
Kontrol-6H	<0.001*	=0.001*	<0.005*	<0.001*
3H- Kontrol	>0.86	>0.61	<0.018*	>0.072
3H- 6H	<0.001*	<0.003*	>0.062	<0.01*
6H- Kontrol	<0.001*	<0.01*	<0.005*	<0.001*
6H-3H	<0.001*	<0.03*	0.062	=0.001*



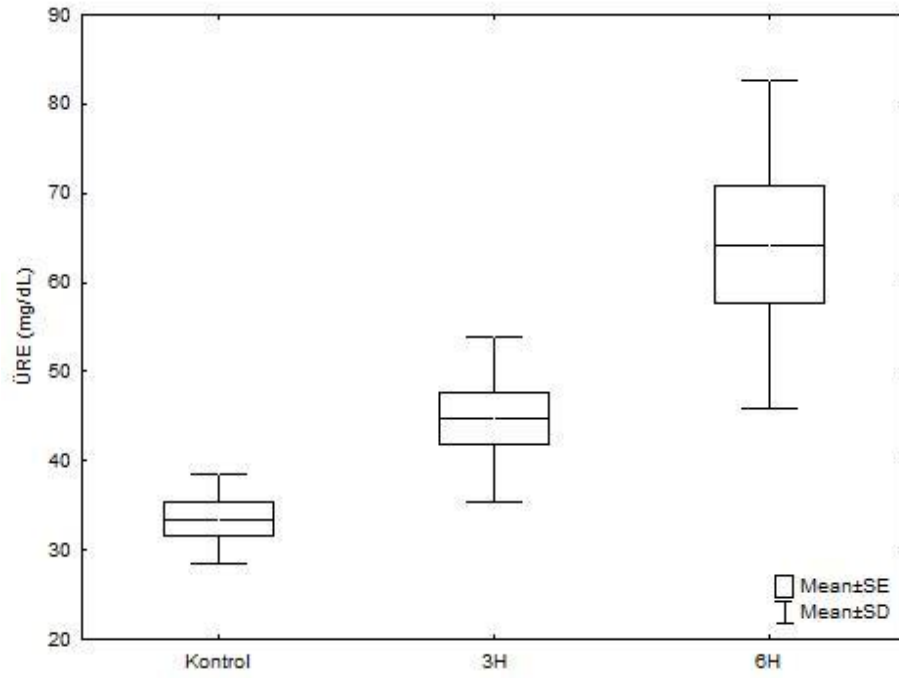
Şekil 15. AST analizinin grafiği



Şekil 16. ALT analizinin grafiği



Şekil 17. Kreatin analizinin grafiği



Şekil 18. Üre analizinin grafiği

5. TARTIŞMA

NSAII'in COX-2 seçicilik profilini değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar insan COX izozimlerini ifade eden bozulmamış hücrelerden izole edilmiş saflaştırılmış enzimler, zamana bağlı mikrozomal enzim tahlillerinden ve insan tam kan tahlillerinden izole edilmiş insan hücrelerine kadar uzanmaktadır. İnhibitör aktiviteler seçicilik indeksleri COX-1 ve COX-2 için IC50 değerlerinin oranları olarak ifade edilir. Etodolak diğer NSAII'ler ile doğrudan karşılaştırıldığı çalışmalarda, geniş bir analiz yelpazesinde tutarlı seçici COX-2 inhibisyonu göstermiştir. Bir çalışmada diğer NSAII'lerle etodolagin rekombinant insan COX izozimlerini eksprese eden çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde (CHO) COX-1'e göre COX-2 için 1000 kat seçicilik gösterdiğini bildirmişlerdir (Riendeau ve diğerleri, 1997).

Karaciğer ksenobiyotiklerin metabolize edilmesinde vücudumuzda merkezi bir rol oynamaktadır. Bu nedenle bu kimyasallardan kaynaklanan toksisiteye karşı oldukça hassastır. Bazı ilaçların aşırı dozda alınmasında ve bazen terapötik aralıkta kullanıldıklarında bile organda hasar meydana getirebilmektedir. Bu hasarını saptamak ve izlemek için mevcut klinik biyobelirteçler, duyarlılık veya özgüllük açısından yetersizdir (Zhou, 2013). İlaça bağlı karaciğer hasarının etiolojisinin büyük ölçüde bilinmemesiyle birlikte mevcut bilgiler genellikle mekanizmaları doğrudan toksisite ve dolaylı toksisite olmak üzere iki ana kategoride gruplandırmaktadır. Doğrudan toksisite asetaminofenden türetilen toksik metabolit N-asetil-p-benzokinonimin gibi ksenobiyotik veya metabolitlerinin doğrudan neden olduğu yaralanmaları içermektedir. Yüksek dozlarda asetaminofen maruziyetinde veya düşük hücre-sel glutatyon konsantrasyonu olan koşullarda N-asetil-p- benzokinoneimin proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanarak normal hücresel aktivitelerini kesmekte, hepatositlerin apoptozisine ve karaciğerde sentrilobüler nekroza yol açmaktadır (McBurney ve diğerleri, 2009).

İlaçlar karaciğerde sinüzoidal kandan bazolateral membranda bulunana taşıyıcılar aracılığıyla hepatositlere alınmaktadır. Hepatositlerde ilaç metabolizması faz 1, faz 2 ve faz 3 olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir. Faz 1 reaksiyonları sırasında ilaçlar hücresel proteinlere kovalent olarak bağlanarak bir ilaç-protein eklentisi oluşturup hücre için potansiyel toksisiteye sahip reaktif oksidatif metabolitler üretebilen bir süreç olan sitokrom

p450 enzimleri tarafından metabolize edilir. Böylece proteinin işlevini inhibe ederek hücrel stres meydana gelmektedir (Weaver, 2017).

Dokuda hücre hasarının meydana gelmesiyle bir bağışıklık tepkisini tetiklenerek neoantijenler olarak hareket edebilen ilaç - protein eklentisi serbest bırakılmaktadır. İlaç metabolitleri ayrıca safra tuzu ihraç pompası (BSEP) gibi hepatosit kanallıkları akış taşıyıcılarını da inhibe edebilir ve mitokondriye zarar vererek hepatosit ölümüne yol açan hücre içi safra asidi konsantrasyonlarında bir artışa neden olur. Safra asidinin neden olduğu stres ayrıca ölüm reseptörlerinin (tümör nekroz faktör reseptörü (TNF-R) ve FasR gibi) plazma zarına daha fazla hedeflenmesine yol açabilmekte, hücreyi ligand kaynaklı apoptoza duyarlı hale getirebilir veya nekroz ölüm reseptörlerinin liganttan bağımsız aktivasyonunu indükleyebilir (Andrade ve diğerleri, 2019).

Kronik hasar sonucunda zarar gören karaciğer hücrelerini uzaklaştırmakta görevli kuppfer hücreleri bulunmaktadır. Kuppfer hücreleri lizozomal enzimce zengin hücrelerdir ayrıca reaktif oksijen türlerini oluşturan temel kaynaktır. Makrofajlar, mitokondri hasarı, endoplazmik retikulum stresi ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazlar (NOX'lar) dahil olmak üzere birçok mekanizma ile ROS üretilir. NOX ailesinin üyeleri arasında, gp91 phox olarak da bilinen NOX2, plazma membranında yapısal olarak p22phox ile ilişkili fagositik NADPH oksidazdır. Karaciğerde yerleşik Kupffer hücrelerinde ve infiltrate makrofajlarda NOX 2'den türetilen ROS, onları oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) dahil olmak üzere çeşitli faktörlere yanıt olarak TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuar sitokinler üretmeleri için uyarır. Reaktif oksijen türleri kimyasal bağ kurmaya yatkındır. Endojen lipit ve proteinlerle bağ kurarak yapılara zarar vermektedir (Kim ve diğerleri, 2017).

Çalışmamızda ilaca bağlı hasarı görebilmek için balb/c cinsi farelere oral gavaj yoluyla 3 hafta ve 6 hafta süreyle 10 mg/kg ilaç uygulaması yapıldı. Karaciğer, böbrek ve akciğer dokuları alındı. Oluşturulan deney gruplarındaki morfolojik yapının saptanması için hematoksilen-eozin boyaması yapıldı.

Hematoksilen-eozin boyamayla morfolojik olarak karaciğer dokularında kontrol grubuyla 3 haftalık ilaç verilen grubu kıyasladığımızda dokuda sinüzoidal dilatasyonlar, nekroza giden hücreler görüldü, karaciğer epitel hücre sitoplazmasında granüller ve vakuoller izlendi. Piknotik ve hiperkromatik çekirdekli hücreler gözlemlendi. Yukarıda verilen literatürlere baktığımızda etodolağın olası bir mekanizmasının reaksiyonlar sırasında reaktif metabo-

litlerin oluşması ve bu metabolitlerin hücrel proteinlere kovalent bağlanması, hedef proteinin işlevinin veya konumunun değişmesine bağlı olarak protein işlevini inhibe edilmesi sonucu hücrel stres ile hepatosit hasarına uğradığı veya ek olarak reaktif oksijen türlerinden kaynaklandığı düşünülebilir. 6 hafta ilaç verilen grupta 3 hafta ilaç verilen gruba göre daha fazla nekrotik hücre gruplarına ve onları saran fagositik sisteme ait hücreler gözlemlendi.

Prospektif çalışmalarda etodolak alan hastaların serum aminotransferaz seviyelerinde yükselmeler yaşadığını görülmüştür. Hastaların 1'inde belirgin aminotransferaz yükselmeleri (>3 kat artış) meydana gelmiştir. Etodolak kaynaklı sarılık ile klinik olarak belirgin karaciğer hasarı nadirdir ancak birkaç ikna edici vaka yayınlanmıştır. Başlangıç gecikmesi birkaç gün ile birkaç ay arasında değişmekteydi ve enzim yükselmelerinin paterni kolestatik, hepatoselüler ve karışık olarak tanımlanmıştır (Zimmerman,1999).

Çalışmamızda kandan ALT ve AST seviyeleri ölçülerek karaciğer hasarı karşılaştırıldı. Kontrol grubuyla 3 haftalık grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmamıştır. Ancak 6 haftalık ilaç verilen grubu, kontrol ve 3 hafta ilaç verilen gruba kıyasladığımızda istatistiksel olarak da anlamlı farklar görüldü. 3 hafta ilaç verilen grupta kontrole kıyasla AST ve ALT değerlerinde yükselmeler görüldü ancak anlamlı değildi. 6 haftalık grubu kontrol ve 3 hafta ilaç verilen gruba kıyaslandığında ALT ve AST değerlerinde ciddi artışlar izlendi.

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların böbrek dokusuna da etkileri mevcuttur. Vaza rekta, glomerüler kapillerler ve tübüler fonksiyonlar üzerine etkili olan prostoglandinlerin sentezini inhibe etmektedirler. Ödem hiperkalemi, hipertansiyon ve hiponatremi gibi önemli komplikasyonlara yol açabilirler. Dehidratasyon, diüretikler, kusma, kalp yetmezliği, siroz, nefrotik sendrom ve kronik böbrek hastalığı gibi durumlarda NSAİİ kullanımı akut böbrek hasarı açısından risk faktörü oluşturmaktadır (Bonvalet ve diğerleri, 1987).

Analjezik nefropatisi papiller nekrozla ve interstisyel nefrit ile karakterizedir. Akut interstisyel nefrit ilaç dozuna bağımlı değildir ve immünolojik inflamatuvar reaksiyon ve kreatinin klirensinde azalma ile karakterizedir. Klasik bulguların ek olarak, glomerüller etkilenbilir ve minimal değişiklik hastalığı veya membranöz glomerülonefrit gelişimine yol açabilir. NSAİİ'lerin metabolitleri böbrekte oksijen basıncının en düşük olduğu renal medullada birikir ve vazokonstriksiyona yol açarak renal parenkimal perfüzyonu bozarlar. Zaman içerisinde fark edilmeden papiller nekroz, glomerüler skleroz, interstisyel fibrozis ve kortikal atrofi gelişebilmektedir (Nangaku ve Fujita, 2007).

NSAİİ ilaçların COX enzimlerini inhibe etmeleriyle beraber prostaglandin sentezinde azalma olması glomeruler hidroluk basınçta (glomeruler filtrasyonun major itici gücü) düşme ve akut böbrek hasarı gibi geri dönüşümlü bir renal iskemiye yol açabilmektedirler. Bu NSAİİ ilaçların renal vazodilatasyonu azaltmalarına bağılı olarak meydana gelir. Sağlıklı bireylerde prostaglandinlerin renal hemodinamikler üzerinde küçük rolleri vardır. Bununla beraber uzamış renal vazokonstriksiyon durumlarında glomeruler filtrasyonu korumak için prostaglandin sentezi artar. Ayrıca aşağıda belirtilen durumlarda da PG sentezi artarak, renal kan akımını ve preglomeruler rezistansı azaltarak GFR'yi korumaya çalışır (Huerta ve diğeri, 2005).

Kronik interstisyel nefrit; makrofaj, lenfositik infiltrasyon, tubuler atrofi ve interstisyel fibrozis ile beraber tubulointerstisiumun ilerleyici skarlaşmasıyla karakterize bir histopatolojik durumdur. NSAİ ilaçları sıklıkla kronik baş ağrısı, kas ağrısı ve artriti olan özellikle kadın hastalarda kullanılmaktadır. Bu hastalık Amerika Birleşik Devletlerinde son dönem böbrek hastalığının %1-3'ünden sorumludur. Böbrek hasarının oluşuğı yer NSAİ ilaçların toksik metabolitlerinin biriktiğı ve düşük oksijen basıncı içeren henlenin medüller bölgesi, vaza rekta ve toplayıcı kanallardan oluşun renal medulladır. Burada biriken metabolitler vazodilatör prostaglandin sentezini inhibe ederler, glutasyon medüller ve kan akımı seviyesini düşürürler sonuçta oksidan ve iskemik medüller hasarlanmayı arttırırlar. Bu hastalıkta gelişen major patolojik değışiklik renal papiller nekrozdur. Bunun da sebebi medullayı da içine alan enfarktüs ve trombozistir. İnterstisyel fibrozis, tubuler atrofi, glomeruler sklerozis ve mononükleer hücrel infiltrasyonlar nekrotik papilla üzerine kronik interstisyel nefritin sekonder kortikal değışiklikleridir (Huerta ve diğeri, 2005).

Çalışmamızda histomorfolojik olarak böbrek dokularını gruplar arasında karşılaştırdığımızda 3 hafta ilaç verilen gruba ait dokuda proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon gözlemlendi. Tubulus epitelinde dejenerasyon ve yer yer dökülmeler görüldü. Bowman aralığı ve böbrek cisimciğı normal morfolojide izlendi. 6 hafta ilaç verilen gruba ait böbrek dokusunda tubulus lümenlerinde yaygın nötrofil lökosit infiltrasyonu izlendi. Tubulus epitelinde ciddi bir dejenerasyon ve dilatasyonun olduğı görüldü.

Böbrek dokusundaki hasarı biyokimyasal olarak değıerlendirebilmek için ayrıca kandan üre ve kreatin değıerlerine bakıldı. Kontrol grubuyla 3 haftalık grubu karşılaştırdığımızda üre miktarının 3 haftalık grupta kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak da anlamlı yükselme vardı. 6 haftalık grupla kontrol grubu kıyaslandığında ciddi yükselme görüldü. Üre

protein metabolizmasının son ürünü ve idrardaki azotlu bileşiklerin çoğunu oluşturmaktadır. En önemli fizyolojik sentez yeri karaciğer olsada meydana gelen atık maddeler böbrekler tarafından süzülerek vücuttan atılmaktadır. Ürenin böbrekler tarafından yeterince süzülmediği durumlarda vücut dışına atılım gerçekleşmez ve kandaki üre miktarında yükselme görülür. Çalışmamızda histomorfolojik olarak böbrekte gördüğümüz hasar kandaki üre miktarını arttırmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Böbrekler kanı filtreleyerek vücudun ihtiyacı olan maddeleri kan dolaşımına geri kazandırırken vücuda zararlı maddeleri idrar yolu ile vücuttan atar. Kreatinde vücuttan uzaklaştırılan maddelerden biridir. Böbreğin filtreleme görevinde aksaklıklar olduğunda vücutta belli bir miktarda bulunan kreatin seviyesinde artış meydana gelir. Çalışmamızda kreatin değerlerini gruplar arasında karşılaştırdığımız zaman 3 haftalık ilaç verilen grupta kontrol grubuna oranla yükselmeler olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir değer değildi. Ancak 6 haftalık ilaç verilen grubun kreatin değerlerini diğer gruplarla karşılaştırdığımızda kayda değer istatistiksel olarak anlamlı artışlar görüldü. Kreatin seviyesinin yüksekliği klinikte başta böbrek hastalıkları olmak üzere pek çok farklı rahatsızlıktan dolayı çıkabilmektedir.

Serum amiloid A (SAA), böbrek de dahil olmak üzere birçok doku ve hücrede sayısız proinflamatuvar etki gösteren bir akut faz reaktanları ailesidir (Anderberg ve diğerleri, 2015). İnflamasyon sırasında üretilen IL-6 ve IL-1 gibi sitokinlerin etkisiyle karaciğer hücrelerinde sentezlenir. Böylece uzun süreli inflamasyon, SAA düzeyinde artışa ve sonunda AA formunda amiloid birikimine yol açabilmektedir. SAA aynı zamanda akut faz belirleyicilerindendir ve kronik inflamatuvar uyarı ile yüksek değerlere ulaşır. Fakat çoğu durumda amiloidoza yol açmaz (Meek ve diğerleri, 2013). Deneysel çalışmamızda immünohistokimyasal yöntemle SAA antikoru kullanılarak böbrek dokusunda SAA birikintilerine bakıldı. Deney grupları karşılaştırıldığında 3 haftalık grupta SAA birikmesi görülmezken 6 haftalık grupta yer yer birikintiler gözlemlendi.

Araştırmamızda karaciğer ve böbrek dokusunun yanında akciğer dokusunun da H-E boyama yöntemiyle ilacın histomorfolojik etkilerine ve immünohistokimyasal yöntemle cd4 antikoru bakıldı. 6 hafta ilaç verilen gruba ait akciğer dokusunda da bronşiyollerde ve venlerde dilatasyon gözlemlendi. İmmünohistokimyasal yöntemle cd4 antikoru bakıldığında ise tüm gruplarda boyanmalar görüldü. Ancak grupları karşılaştırdığımızda en yoğun boyanmalar 6 haftalık ilaç verilen grupta izlendi.

CD4+ T hücre aktivasyonu sırasında sitokin ortamı, spesifik antijen, antijen sunan hücre aktivasyon durumu birlikte uyarıcı molekül ekspresyonu ve aktivasyonun fizyolojik konumu dahil olmak üzere birçok faktörü içeren karmaşık bir süreçtir. Bu faktörlerin küçük bozulmaları bu hücrelerin nihai farklılaşmasını değiştirebilir. Ksenobiyotik maruziyeti, CD4+ T hücresinin farklılaşmasını ve müteakip adaptif bağışıklık tepkisini değiştirme potansiyeline sahiptir. CD4+ T hücre farklılaşmasının düzensizliği koruyucu adaptif bağışıklık tepkilerinin oluşumu üzerinde önemli sonuçlara sahip olabileceğinden, ksenobiyotiklerin immünotoksik potansiyelini değerlendirmede önemli bir yön, bunların CD4 T hücre farklılaşmasını değiştirip değiştirmediğini incelemektir (Reed ve Wetzel, 2018). Çalışmamızda CD4 hücrelerinde gruplar arasında bir artış gözlemlendi. Bu artış ilacın immunojenik haptentlerin oluşumuna neden olmasıyla bir bağışıklık tepkisinin tetiklenmesi sonucu meydana gelmiş olabilir. Ancak immünotoksik etkiye sahip olup olmadığını söyleyebilmek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatür araştırmasında deneysel hayvan modeli kullanılarak etodolağın 3 ve 6 haftalık ilaç kullanımı sonucunda böbrek dokusundaki SAA antikoruna ve akciğerde CD4 antikorunun çalışıldığı herhangi bir araştırmaya rastlamadık.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel çalışmamızda etodolağın 3 hafta ve 6 hafta süreyle kullanımı sonucunda karaciğer, böbrek ve akciğer dokuları üzerindeki etkilerine bakıldı. 3 hafta kullanımı sonucunda karaciğerdeki hasar histolojik olarak ciddi boyutlarda görülmedi. Çalışmamızda kandan ALT ve AST seviyeleri ölçülerek biyokimyasal olarak karaciğer hasarı karşılaştırıldı. 3 hafta ilaç verilen grupta kontrole kıyasla AST ve ALT değerlerinde yükselmeler görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Böbrek dokusundaki hasarı biyokimyasal olarak değerlendirmek için üre ve kreatin değerlerine bakıldı. Kontrol grubuyla 3 haftalık grubu karşılaştırdığımızda üre miktarının 3 haftalık grupta kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı yükselme izlendi. Kreatin seviyesinde de yükselmeler görüldü ancak anlamlı değildi.

6 hafta ilaç verilen grubun karaciğer ve böbrek dokusunun histomorfolojik incelenmesinde hasar daha ileri boyutlardaydı. Akciğer dokusundaki dilatasyon, 3 hafta ilaç verilen gruba göre ilerlemişti. 6 hafta etodolak verilen grubun biyokimyasal parametrelerinde kontrole ve 3 haftalık ilaç verilen gruba göre ciddi artışlar izlendi. Histomorfolojik değişikliklerle biyokimyasal parametreler birbirini destekler nitelikteydi.

İmmünohistokimyasal boyamalarda CD4 ve SAA antikorları bakıldı. Akciğer dokusunda CD4 seviyeleri her üç grupta gözlemlendi. Ancak ilacın alım süresinin artmasıyla dokuda boyanmaların yoğunlaşması ilacın bir bağışıklı tepkisine yol açtığını düşündürmekteydi. Böbrek dokusunda SAA miktarlarına bakıldı. Deney grupları karşılaştırıldığında 3 haftalık grupta SAA birikmesi gözlemlenmezken 6 haftalık grupta yer yer birikintiler gözlemlendi. İlacın daha uzun süreli kullanımıyla kronik inflamatuvar yanıtın oluşması sonucu SAA düzeyinde artışa neden olabileceğini düşünülmektedir. Çalışmamızda 6 haftalık grupta birikintiler görülmesi amiloid gelişimi olan hastaların bu ilacı kullanması sonucu hastalığın seyrini olumsuz yönde etkileyebilme ihtimali akla getirmektedir. İlacın tek başına kullanımı amiloidoza yol açıp açmadığıyla ilgili daha kesin bilgilere ulaşmak için ise daha uzun süreli çalışmalar yapılabilir ve daha fazla parametreler çalışmaya eklenebilir.

KAYNAKLAR

- Adam, S., Bodzin, T.B., (2012). *Anatomy and Physiology of the Liver*. Chapter 118 syf:1386
- Alberto, M.L. (2013). Galdos-Riveros AC, Pessolato AG, dos Santos JM, Miglino MA. Development of respiratory tract from bovine embryos. *Zoolog Science*.Jan;30(1):65-8
- Anderberg, R.J., Meek, R.L., Hudkins, K.L., Cooney, S.K, Alpers, C.E., Leboeuf, R.C. (2015). Diyabetik böbrek hastalığı ve podositlerde serum amiloid A ve inflamasyon . *Laboratory Investigation*, 95 : 250–26210.1038/labinvest.2014.163
- Andrade, R.J., Chalasani, N., Björnsson, E.S. (2019). Drug-induced liver injury. *Nature Reviews Disease Primers* 5, 58
- Andrew, W., Duncan, Dorrell, C., and Grompe, M. (2009). Stem Cells and Liver Regeneration. *Gastroenterology* 2009;137:466 – 481
- Aros, C.J.,Pantoja C.J., Gomperts, B.N. (2021). Wnt signaling in lung development, regeneration, and disease progression. *Communications Biology*.(4:601)
- Asklepios Atlas of the Human Anatomy (2014). Bilim Fotoğraf Kütüphanesi <https://www.sciencephoto.com/media/671080/view/renal-corpuscle-illustration> adresinden erişildi.
- Başak, M., Akan, D. (2015). Karaciğerin ve Safra Yollarının Radyolojik Anatomisi. *Türk Radyoloji Derneği*. Trd Sem 2015; 3: 336-48.
- Bechmann, LP., Hannivoort, RA., Gerken, G., Hotamisligil, GS., Trauner, M., Canbay, A. (2012). Karaciğer hastalıklarında hepatik lipid ve glukoz metabolizmasının etkileşimi. *Journal of Hepatology*. 56 :952-964.
- Bonvalet, J.P., Pradelles, P., Farman, N. (1987). Segmental synthesis and actions of prostaglandins along the nephron. *American Journal Physiology*. 253 (3 Pt 2): F377
- Brocks, D.R., Jamali, F. (1994). Etodolac clinical pharmacokinetics. *Clinical pharmacokineti* 26: 259– 274

- Chen, M., Suzuki, A., Borlak, J., Andrade, R. J., Lucena, M. I. (2015). Drug- induced liver injury: interactions between drug properties and host factors. *Journal of Hepatology*. 63, 503–514
- Couper, C., Chapurlat, R., Al-Daghri, N., Buruyere, O., Rannou, F., Roth, R. Reginster, J. R. (2019). Safety of oral nonselective non-steroidal anti-inflammatory drugs in osteoarthritis: what does the literature say? *Drugs and Aging* 36:15-24.
- Dar, WA., Sullivan, E., Bynon, JS., Eltzschig, H., Ju C. (2019). Ischaemia reperfusion injury in liver transplantation: Cellular and molecular mechanisms. *Liver international*. May;39(5):788-801.
- Davison, S.N. (2019). Clinical pharmacology considerations in pain management in patients with advanced kidney failure. *Clinical American Society Nephrology*. 14:917-931
- Dimas, V.V., Dillenbeck, J., Josephs, S.(2018). Congenital pulmonary vascular anomalies. *Cardiovascular Diagnosis Therapy*. Jun;8(3):214-224.
- Dressler, G.R. (2006). The cellular basis of kidney development. *Annual Review Cell Developmental Biology*. 22:509-29.
- Elliott, S,. (2016). *Liver: anatomy and scanning techniques*. Chapter 7. Syf :93
- Eras, J., Perazella, M.A.(2001). NSAIDs and the kidney revisited: are selective cyclooxygenase-2 inhibitors safe? *The American Journal Medical Science*. 321:181-190
- Evans, M.J., Van,Winkle L.S., Fanucchi, M.V., Plopper, C.G.(2001). Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Experimental Lung Research*. Jul-Aug;27(5):401-15.
- Florentina, R., Nikolaos, T. Mariana, J., Ion C. Tintoiu, Z.S.(2020). *Liver Diseases: A Multidisciplinary*. syf:806, ID: 2459462
- Ganesan, S., Comstock, A.T., Sajjan, U.S.(2013) *Barrier function of airway tract epithelium*. *Tissue Barriers*. 01;1(4):e24997.

- Gao, Y., Cornfield, D. N., Stenmark, K. R., Thebaud, B., Abman, S. H., and Raj, J. U. (2016). Unique aspects of the developing lung circulation: structural development and regulation of vasomotor tone. *Pulmoner Circulation Journal*. (pp:6, 407–425).
- Gary, CS., Steven, BB., Philip RB, Philipa HF, *Larsen's Human Embryology*. 5th Ed. Philadelphia:Churchilllivingstone.
- Glaser, K .B. (1995). Cyclooxygenase selectivity and NSAIDs: Cyclooxygenase-2 selectivity of etodolac (LODINE). *Inflammopharmacology* 3: 335– 345.
- Gordillo, M., Evans, T., Gouon-Evans V. (2015). Orchestrating liver development. *Development.*;142:2094-2108
- Grosse, C., Grosse, A. (2010). CT findings in diseases associated with pulmonary hypertension: a current review. *Radiographics*. 30:1753–1777.
- Haddad, M., Sharma, S. (2020). StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Jul 22, Physiology, Lung.
- Hall, J.E. (2011). Respiration. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.12th ed. Saunders Elsevier.7:465-507.
- Hammoutene, A., Rautou, PE.(2019). Role of liver sinusoidal endothelial cells in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. Jun;70(6):1278-1291.
- Hasleton, P., Flieder, D.B. (2013). *The normal lung: histology, embryology, development, aging and function*. Sahasrabudhe, N., John R. *Spencer's pathology of the lung*.(6.bs.pp.1-5). Cambridge University Press
- Howland,R.D., Mycek, M.J. (2016). *Lippincott's Illustrated Reviews*. Farmakoloji. (3. bs.,ss 503-504). İstanbul: Nobel kitapevleri.
- Hoy, W.E., Hughson, M.D., Diouf, B., Zimanyi, M., Samuel, T., McNamara, B.J., Douglas-Denton, R.N., Holden, L., Mott, S.A., Bertram, J.F. (2011). Distribution of volumes of individual glomeruli in kidneys at autopsy: association with physical and clinical characteristics and with ethnic group. *Journal of the American society of nephrology* . 33 Suppl 1:15–20

- Huerta, C., Castellsague, J., Varas-Lorenzo C, Garcia R. (2005). Nonsteroidal anti- inflammatory drugs and risk of ARF in the general population. *American Journal of Kidney Disease*.45(3):531-9.
- Jamkar, A.A., Khan, B., Joshi, D.S. (2017). Anatomical study of renal and accessory renal arteries. *Saudi Journal of Kidney DiseasesTransplant*. 2017 Mar-Apr;28(2):292-297
- Kayaalp, O.(1998). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. (8. bs.ss:1026). Ankara: Hacettepe taş baskı
- Kim, SY, Jeong, JM., Kim, SJ ve ark.(2017). Proinflamatuvar hepatik makrofajlar, monomerik TLR4-MD2 kompleksinin endositozu yoluyla NADPH oksidaz 2 yoluyla ROS üretir. *Nature Communication* 8, 2247.
- Lemos, FO., Florentino, RM., Lima, Filho, ACM., Santos, MLD., Leite MF. (2019). Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in the liver: Expression and function. *World Journal Gastroenterology*25(44): 6483-6494
- Leonard, L. Gunderson , J. Teper, E. (2007). *Clinical Radiation Oncology* , Second Edition, elsevier
- Lewis, J.H., Stine, J.G.(2013). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and leukotriene receptor antagonists. In, Kaplowitz N, DeLeve LD, eds. *Drug-induced liver disease*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, pp. 369-401.
- Mammoto, A., Mammto,T. (2019). Vascular Niche in Lung Alveolar Development, Homeostasis, and Regeneration. *Frontiers in Bioengineering Biotechnology*. (pp:7:318). doi: 10.3389/fbioe.2019.00318
- Marina Zwyer.(2010). *Embryology of the Kidney*. s 3-15DOI: 10.1007/978-3-540-87597-0_1
- Marini, T.J., He, K., Hobbs, S.K., Kaproth-Joslin K.(2018). Pictorial review of the pulmonary vasculature: from arteries to veins. *Insights Imaging*. 9(6):971-987
- McBurney, R.N., Hines, W.M., Von, Tungeln, L.S., Schnackenberg, K.L., Beger, R.D., Moland, C.L., Han, T. Beland, F.D. (2009). The liver toxicity biomarker study: phase I design and preliminary results. *Toxicologic Pathology*.;37(1):52–64.

- Meek, R.L., LeBoeuf, R.C., Saha, S.A., Alpers, C.E, Hudkins, K.L., Cooney, S.K. Tuttle, R.K. (2013). Glomerular cell death and inflammation with high-protein diet and diabetes *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28 : 1711–1720. 10.1093/ndt/gfs579
- Mescher, A.L. (2019) Junqueira Temel Histoloji. SolakoğluS., Erdoğan A., Mutlu, H.S. (14.bs,syf;338-339). Ankara, Güneş kitapevi
- Mescher, A.L. (2019) Junqueira Temel Histoloji. SolakoğluS., Erdoğan A., Mutlu, H.S. (14.bs,syf;394). Ankara, Güneş kitapevi
- Mitra,V., Metcalf, J. (2011). Functional Anatomy and Blood supply of the liver. *Anaesthesia And Intensive Care Medicine*;13:2
- Moinuddin, Z. (2015). Dhanda R. Anatomy of the kidney and ureter. *Anaesthesia And Intensive Care Medicine*. 16(6), 247–252.
- Moore L. K., Persaud T.V.N., Torchia G.M. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Dalçık,H. (bs:10 syf:217). İstanbul, nobel tıp kitabevleri.
- Murray, J.F.(2010). The structure and function of the lung. *International Journal Tuberculosis Lung Disease*. Apr;14(4):391-6.
- Nagata, M. (2018). Glomerulogenesis and the role of endothelium. *Current Opinion Nephrology Hypertension*. May;27(3):159-164.
- Nalbantoglu, I.L., Tan, B.R. Jr., Linehan, D.C., Gao, F., Brunt, E.M. (2014). Histological features and severity of oxaliplatin-induced liver injury and clinical associations. *Journal of Digestive Disease* ;15(10): 553–60.
- Nangaku, M., Fujita, T. (2007). Chronic Interstitial Nephritis. Chapter 59. *In: Comprehensive Clinical Nephrology*, Johnson RJ, Floege J, Feehally J (Eds), Philadelphia: Elsevier Limited,;703-16.
- Nova, Z., Skovierova, H., Calkovska, A.(2019). Alveolar-Capillary Membrane-Related Pulmonary Cells as a Target in Endotoxin-Induced Acute Lung Injury. *International Journal Molecular Science*. 20(4), 831
- Ovalle, W. K., Nahirney, P. C. (2009). *Netter's Essential Histology*. Müftüoğlu, S.,ss:313. Saunders Elsevier.

- Patwa, A. Shah, A.(2015). Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. *Indian Journal of Anaesthesia*.Sep;59(9):533-41.
- Pollak, M.R., Quaggin, S.E., Hoenig, M.P., Dworkin, L.D.(2014). The glomerulus: the sphere of influence. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*.9(8):1461–9.
- Rad, K.N, Aghdami, N., Moghadasali, R. (2020). Cellular and Molecular Mechanisms of Kidney Development: From the Embryo to the Kidney Organoid. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 24
- Reed, J., Wetzel, S.A. (2018). CD4⁺ T Cell Differentiation and Activation. In: DeWitt J., Rockwell C., Bowman C. (eds) *Immunotoxicity Testing*. Methods in Molecular Biology, vol 1803. Humana Press, New York, NY.
- Rehman, S., Ahmed, D. (2020). Embryology, Kidney, Bladder, and Ureter. Sep 3, Treasure Island (FL)
- Reidy, K.J., Rosenblum, N.D. (2009). Cell and molecular biology of kidney development. *Seminars in Nephrology*. 29(4):321-37.
- Riendeau, D., Percival, M. D., Boyce, S., Bridecu, C., Charleson, S., Cromlish, W., Evans, J..... Leger, S. (1997). Biochemical and pharmacological profile of a tetrasubstituted furanone as a highly selective COX-2 inhibitor. *British Journal of Pharmacology*. 121, 105-117.
- Ross, M.H., Pawlina, W.(2017). *Histoloji konu anlatımı ve atlas*. Baykal, B. (bs:6 syf:638-639). Ankara, palme yayıncılık.
- Sadler, TW. (2015). *Langman's Medical Embryology*. 13th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, .
- Schiessl, Hammer, A., Kattler, V., Gess, B., Theilig, F., Witzgall, R., Castrop, H (2015). Intravital imaging reveals angiotensin II–induced transcytosis of albumin by podocytes. *Journal Of American Society of Nephrology*.
- Schmidt, M., Christiansen, C.F., Mehnert, F., Rothman, K.J., Sorensen, H.T. (2014). Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and risk of atrial fibrillation or flutter: population based case-control study. *BMJ* 2011;343:d3450. *Neurology* 83:1–10

- Seely, J.C. (2017). A brief review of kidney development, maturation, developmental abnormalities, and drug toxicity: juvenile animal relevancy. *Journal of Toxicology Pathology*. April .30(2):125-133.
- Serls, A.E., Doherty, S., Parvatiyar, P., Wells, J.M. (2005). Different thresholds of fibroblast growth factors pattern the ventral foregut into liver and lung. *Development*, 132, pp.35-47
- Soriano, R.M., Penfold, D., Leslie, S.W.(2020). *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Kidneys*. Aug 23
- Staruschenko, A. (2012). Regulation of transport in the connecting tubule and cortical collecting duct. *Comprehensive Physiology*. Apr;2(2):1541-84.
- Tirunagari, S.K., Derry, S., Moore, R.A., McQuay, H.J. (2009). Single dose oral etodolac for acute postoperative pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews* CD007357.
- Tortora, G.J., Grabowski, S.R. (2001). *Principals of anatomy and physiology*, ed 9, New York, Harpers Collins Collage Publisher.
- Tremblay, K.D., Zaret, K.S. (2005). Distinct populations of endoderm cells converge to generate the embryonic liver bud and ventral foregut tissues. *Developmental Biology*. 280 pp.87
- Ugo, L., Quaia, E., (2020). Imaging of the Liver and Intra-hepatic Biliary.2020.PP3-1.978-3-030-38983
- Weaver, R. J. Betts, C., Blomme, E. A., Jensen, K.G., Hewitt, P.G., Juhila, S., Labbe, G. Park, K.(2017). Test systems in drug discovery for hazard identification and risk assessment of human drug-induced liver injury. *Expert Opinion Drug Metabolism Toxicology*. 13, 767–782 .
- Weiskirchen, R., Tacke, F.(2019). Relevance of Autophagy in Parenchymal and Non-Parenchymal Liver Cells for Health and Disease. *Cells journal*. Jan 01;8(1)
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal Anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging Disease*. 9:143–150. doi: 10.14336/AD.2017.0306.

Yıldırım, M. (2004). *Topografik Anatomi*. Nobel Tıp Kitabevleri

Youssef, E., Richard, L., Baron, and Khaled M., Elsayes.(2015). "Diagnostic approach of focal and diffuse hepatic diseases." *Cross-Sectional Imaging of the Abdomen and Pelvis*. Springer, New York, NY, 211-76.

Zhang, H., Pu, W., Tian, X., Huang, X., Liu, Q., Li, Y. Zhou, B. (2016). Genetic lineage tracing identifies endocardial origin of liver vasculature. *Nature Genetics*. 48:537–543

Zhou, Y. (2013). Biomarkers of drug-induced liver injury. *Current Biomarker Findings*:3 1–9

Zimmerman, H.J.(1999). Drugs used to treat rheumatic and musculoskeletal disease. In, Zimmerman HJ. (ED) *Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, pp. 517-553.

EKLER

EK1



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 28/10/2020

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2020 Yılı V. Oturum

Sayı : 64583101/2020/094

Proje Başlığı : Farklı sürelerde etodolak kullanımının farelerde yapısal ve biyokimyasal etkilerinin incelenmesi.

Proje Yürütücüsü : Alpaslan GÖKÇİMEN

Proje Ekibi : Evin ZİREK

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması

İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması

Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması

İnsanlarda araştırma

İnsan olmayan primatların kullanılması

Transgenik hayvanların kullanılması

Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARMEZLER
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Furhan DOST
Üye

Prof. Dr. Öğr. Üyesi İZZET ZAN
Üye

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Dr. Öğr. Üyesi Umut
DEMETOĞLU
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder
ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz
KARAARSLAN
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce
GÜLER Sor. Vet. Hek.
Üye

Vet. Hek. Dr. Sêrdar AKTAŞ
Sor. Vet. Hek.
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Mustafa ÇOBANOĞLU
Sivil Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Farklı sürelerde etodolak kullanımının farelerde yapısal ve biyokimyasal yapılarının incelenmesi ” başlıklı Yüksek Lisans/Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Evin ZİREK

Öğrencinin Adı ve Soyadı

... / ... / ...