

157332

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

**HİPOKSİK YENİDOĞAN SIÇANLARIN SOLUNUM SİSTEMİ**  
**MORFOLOJİSİ VE NÖROENDOKRİN HÜCRELERİNİN**  
**HİSTOKİMYASAL OLARAK IŞIK MİKROSKOBİK DÜZEYDE**  
**İNCELENMESİ**

**Arş.Gör. PELİN COŞTUR BIYIKSIZ**

**Kocaeli Üniversitesi**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin**  
**Yüksek Lisans Programı İçin Öngördüğü**  
**Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı**  
**BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

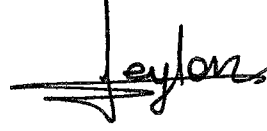
**Danışman: Doç.Dr. MELDA YARDIMOĞLU YILMAZ**

**KOCAELİ- 2004**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

İşbu çalışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı  
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof.Dr.Süreyya CEYLAN



Üye Prof. Dr. Hakkı DALÇIK



Üye Doç.Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ (Danışman)



ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

02.10.8/ 2004



Prof. Dr. NEJAT GACAR

Enstitü Müdürü

Mühür

## ÖZET

### **Hipoksik Yenidoğan Sıçanların Solunum Sistemi Morfolojisi ve Nöroendokrin Hücrelerinin Histokimyasal Olarak Işık Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi.**

Bu çalışmada, yenidoğan sıçan akciğerlerinde nöroendokrin hücrelerin morfolojik özelliklerini, solunum epitelindeki yerleşimini, bronş ve bronşiyollerdeki dağılımını ve hipoksinin bu hücreler üzerinde oluşturduğu etkileri ışık mikroskopik düzeyde araştırdık. S. Dawley cinsi 15 sıçan çalışma grubuna; 2 sıçan ise kontrol grubuna alındı. Hipoksi çalışma grubuna 1 saatlik hipoksi (%8 oksijen; %92 azot) uygulandı. Kontrol grubuna ise hiçbir müdahalede bulunulmadı. Hipoksi sonrası 1., 2., 3., 4., 24. saatlerde ve 21.gün sıçanlar sakrifiye edildi ve akciğerleri çıkarıldı, bilinen yöntemlerle doku takipleri yapıldı ve 5 µm'lik parafin kesitleri alındı. Ardışık olarak alınan kesitler Hematoksilen-Eosin (H&E), Periyodik Asit Schiff (PAS), Tripas (Hotchkiss'in Periodic Acid-Schiff-Orange G), Solcia'nın Maskelenmiş Metakromazi ve Grimelius'un gümüşleme yöntemleri ile boyanarak histolojik bulgular değerlendirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer; Hipoksi; Nöroendokrin hücreler; Pulmoner NEC; DNES hücre; NEB.

## **ABSTRACT**

**The morphology of the respiratory system of the newborn hypoxic rats and investigations of the neuroendocrine cells histochemically of the light microscopy level.**

In this study, we aimed to investigate morphological properties, localization in the respiratory epithelium and distribution in the bronchus and bronchioles of neuroendocrine cells in newborn rat lungs and effects of hypoxia on these cells at the light microscopic level. S.Dawley fifteen each seven-day-old rats were enrolled into the study and two each seven-day-old rats were control group. Study group was exposed to unilateral carotid artery ligation an hour hypoxia (8% oxygen in 92% nitrogen). Control group was not exposed to operation. 1, 2, 3, 4, 24 hours and 21day after the injury each rat was killed and their lung was removed for histological study. Tissues were processed with routine methods and cut into 5µm paraffin sections. Serial paraffin sections were stained with Haematoxylin-Eosin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), Tripas (Hotchkiss'in Periodic Acid-Schiff-Orange G), Masked metachromasia (Solcia et al.) and Grimelius method for argyrophil cells and histological results were evaluated for light microscopy.

**Key Words:** Lung; Hypoxia; Neuroendocrine cells; Pulmonary NEC; DNES cells; NEB.

## TEŞEKKÜR

Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında değerli bilgi birikimlerini benimle paylaşan, danışmanlığın ötesinde beni motive edip yönlendiren, bu şekilde bana manevi destek de sağlayan değerli hocam;

***Doç. Dr. Melda Yardımoğlu Yılmaz'a,***

Gerek Yüksek Lisans Eğitimim, gerekse tez çalışmam sırasında gösterdiği ilgi ve katkılarından dolayı minnettar olduğum hocam;

***Prof.Dr.Hakkı Dalçık'a,***

Manevi desteğini bizden esirgemeyen Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı Başkanımız;

***Prof.Dr.Süreyya Ceylan'a,***

Değerli Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyeleri

***Yrd.Doç.Dr. Süheyla Gonca ve Yrd.Doç.Dr. Serdar Filiz'e,***

Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalında görev yapan değerli çalışma arkadaşlarım;

***Dr. Yusufhan Yazır***

***Dr. Elif Yeşim Tekdemir***

***Bio. Arzu Taş'a***

İstatistiki testlerin yapılmasında katkısı olan Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi;

***Yrd.Doç.Dr. Nilay Etiler' e***

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim;

***Annem, Babam ve Kardeşim Selin'e***

Her zaman yanımda olan sevgili eşim

***Oğuzhan Bıyık' a***

Canım oğlum

***Batuhan'a***

**TEŞEKKÜR EDERİM.....**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                           |             |
|---------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ÖZET.....</b>                                                          | <b>IV</b>   |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                      | <b>V</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR.....</b>                                                      | <b>VI</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER.....</b>                                                   | <b>VII</b>  |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>                                | <b>IX</b>   |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>                                               | <b>X</b>    |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ.....</b>                                             | <b>XIII</b> |
| <b>1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....</b>                                    | <b>1</b>    |
| 1.1. Giriş.....                                                           | 1           |
| 1.2. Solunum Sistemi Embriyolojisi.....                                   | 3           |
| 1.2.1 Alt Solunum Sistemi Embriyolojisi.....                              | 3           |
| 1.2.2 Akciğer Embriyolojisi.....                                          | 4           |
| 1.2.3 Pulmoner NEC Embriyolojisi.....                                     | 5           |
| 1.3 Solunum Sistemi Histolojisi.....                                      | 6           |
| 1.4. Solunum Sistemi ve Nöroendokrin Hücreler.....                        | 13          |
| 1.4.1. Diffüz Nöroendokrin Sistem (DNES).....                             | 13          |
| 1.4.2. Pulmoner NEC'lerin Histokimyasal ve Morfolojik<br>Özellikleri..... | 20<br>24    |
| 1.5. HİPOKSİ.....                                                         | 24          |
| 1. 5.1. Hipoksinin Etkileri.....                                          | 25          |
| 1. 5. 2. Hipoksik Hipoksi.....                                            | 25          |
| 1. 5. 3. Hipoksik Hipoksinin Nedenleri.....                               | 26          |
| <b>2. AMAÇ VE KAPSAM.....</b>                                             | <b>27</b>   |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                            | <b>27</b>   |
| 3.1. Deney Hayvanları.....                                                | 27          |
| 3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....                                         | 27          |
| 3.3. Işık Mikroskopik Ölçümler ve Sayımlar.....                           | 28          |
| 3.4. İstatistiki Değerlendirmeler.....                                    | 28          |

|           |                                        |           |
|-----------|----------------------------------------|-----------|
| <b>4.</b> | <b>BULGULAR.....</b>                   | <b>29</b> |
| 4.1.      | Kontrol grubu bulguları.....           | 29        |
| 4.2.      | Hipoksi deney grubu bulguları.....     | 30        |
| 4. 2. 1.  | Hipoksiden 1 saat sonra (2.grup).....  | 30        |
| 4. 2. 2.  | Hipoksiden 2 saat sonra (3.grup).....  | 30        |
| 4. 2. 3.  | Hipoksiden 3 saat sonra (4.grup).....  | 31        |
| 4. 2. 4.  | Hipoksiden 4 saat sonra (5.grup).....  | 31        |
| 4. 2. 5.  | Hipoksiden 24 saat sonra (6.grup)..... | 32        |
| 4. 2. 6.  | Hipoksiden 21 gün sonra (7.grup).....  | 32        |
| <b>5.</b> | <b>TARTIŞMA.....</b>                   | <b>57</b> |
| <b>6.</b> | <b>SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>       | <b>66</b> |
|           | <b>KAYNAKLAR.....</b>                  | <b>67</b> |
|           | <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                   | <b>80</b> |

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

|                                |          |                                                                       |
|--------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| <b>ACE</b>                     | <b>:</b> | <b>Angiotensin converting enzyme (Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim)</b> |
| <b>ACTH</b>                    | <b>:</b> | <b>Adreno-kortikotropik hormon</b>                                    |
| <b><math>\alpha</math>-MSH</b> | <b>:</b> | <b>Alfa-melanosit stimulan hormon</b>                                 |
| <b>APUD</b>                    | <b>:</b> | <b>Amine and amine-precursor uptake and decarboxylation</b>           |
| <b>bHLH</b>                    | <b>:</b> | <b>Basic helix –loop-helix</b>                                        |
| <b>CGRP</b>                    | <b>:</b> | <b>Calcitonin gene related peptide</b>                                |
| <b>DNES</b>                    | <b>:</b> | <b>Diffüz nöroendokrin sistem</b>                                     |
| <b>Glut</b>                    | <b>:</b> | <b>Glucose transporter</b>                                            |
| <b>GRP</b>                     | <b>:</b> | <b>Gastrin releasing peptide</b>                                      |
| <b>KOAH</b>                    | <b>:</b> | <b>Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.</b>                           |
| <b>NEB</b>                     | <b>:</b> | <b>Neuroendocrine body (Nöroendokrin cisimcik)</b>                    |
| <b>NEC</b>                     | <b>:</b> | <b>Neuroendocrine cell (Nöroendokrin hücre)</b>                       |
| <b>POMC</b>                    | <b>:</b> | <b>Pro-opiomelanocortin</b>                                           |
| <b>iNOS</b>                    | <b>:</b> | <b>Inducible nitric oxide synthase</b>                                |
| <b>bNOS</b>                    | <b>:</b> | <b>Brain nitric oxide synthase</b>                                    |
| <b>eNOS</b>                    | <b>:</b> | <b>Endothelial nitric oxide synthase</b>                              |
| <b>NO</b>                      | <b>:</b> | <b>Nitric oxide</b>                                                   |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                  |                                                                                                                                    |           |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 1.</b>  | <b>Bronş ve bronşiyol kesiti.....</b>                                                                                              | <b>8</b>  |
| <b>Şekil 2.</b>  | <b>Akciğerin iletili hava yolları.....</b>                                                                                         | <b>9</b>  |
| <b>Şekil 3a.</b> | <b>Yeni doğan (1 hf'lık) sıçan akciğerinin genel görünümü.H&amp;E....</b>                                                          | <b>34</b> |
| <b>Şekil 3b.</b> | <b>Yeni doğan (1 hf'lık) sıçan akciğerinin genel görünümü.<br/>Solcia.....</b>                                                     | <b>34</b> |
| <b>Şekil 4a.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında<br/>respiratuvar epitel. H&amp;E.....</b>                        | <b>35</b> |
| <b>Şekil 4b.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında<br/>respiratuvar epitel. PAS.....</b>                            | <b>35</b> |
| <b>Şekil 4c.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda alveol duvarındaki<br/>hücreler. Tripas.....</b>                                     | <b>36</b> |
| <b>Şekil 4d.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda alveol lümeni.<br/>Tripas.....</b>                                                   | <b>36</b> |
| <b>Şekil 4e.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında<br/>respiratuvar epitel. Solcia.....</b>                         | <b>37</b> |
| <b>Şekil 4f.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş duvarında<br/>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....</b>           | <b>37</b> |
| <b>Şekil 4g.</b> | <b>Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında<br/>respiratuvar epitel.Grimelius'ungümüşlemesi.....</b>         | <b>38</b> |
| <b>Şekil 5a.</b> | <b>Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol<br/>duvarında respiratuvar epitel. H&amp;E.....</b>              | <b>39</b> |
| <b>Şekil 5b.</b> | <b>Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br/>duvarında respiratuvar epitel. PAS.....</b>                      | <b>39</b> |
| <b>Şekil 5c.</b> | <b>Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br/>duvarında respiratuvar epitel. Tripas .....</b>                  | <b>40</b> |
| <b>Şekil 5d.</b> | <b>Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol<br/>duvarında respiratuvar epitel. Solcia.....</b>               | <b>40</b> |
| <b>Şekil 5e.</b> | <b>Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br/>duvarında respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....</b> | <b>41</b> |

|                   |                                                                                                                                          |    |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 5f.</b>  | Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi..... | 41 |
| <b>Şekil 6.</b>   | Kontrol ve hipoksi gruplarında bronşda DNES hücre sayısı.....                                                                            | 42 |
| <b>Şekil 7.</b>   | Kontrol ve hipoksi gruplarında bronşiyolde DNES hücre sayısı...                                                                          | 43 |
| <b>Şekil 8a.</b>  | Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş duvarında respiratuvar epitel. H&E.....                          | 44 |
| <b>Şekil 8b.</b>  | Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitel. PAS.....                      | 44 |
| <b>Şekil 8c.</b>  | Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitel. Solcia.....                   | 45 |
| <b>Şekil 8d.</b>  | Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....               | 45 |
| <b>Şekil 8e.</b>  | Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi..... | 46 |
| <b>Şekil 9a.</b>  | Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitel. H&E.....                                | 47 |
| <b>Şekil 9b.</b>  | Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. PAS.....                                    | 47 |
| <b>Şekil 9c.</b>  | Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitel. Solcia.....                             | 48 |
| <b>Şekil 9d.</b>  | Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....               | 48 |
| <b>Şekil 9e.</b>  | Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....           | 49 |
| <b>Şekil 10a.</b> | Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. H&E.....                                    | 50 |
| <b>Şekil 10b.</b> | Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. PAS.....                                    | 50 |
| <b>Şekil 10c.</b> | Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitel Solcia.....                              | 51 |
| <b>Şekil 10d.</b> | Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf <sup>o</sup> lık) sıçanda bronş respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....               | 51 |

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 10e:</b> Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol<br>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....  | 52 |
| <b>Şekil 11a:</b> Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. H&E.....                          | 53 |
| <b>Şekil 11b:</b> Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. PAS.....                          | 53 |
| <b>Şekil 11c:</b> Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....     | 54 |
| <b>Şekil 11d:</b> Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol<br>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi..... | 54 |
| <b>Şekil 12a:</b> Hipoksiden 21 gün sonraki (4hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. H&E.....                                    | 55 |
| <b>Şekil 12b:</b> Hipoksiden 21 gün sonraki (4hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. PAS.....                                    | 55 |
| <b>Şekil 12c:</b> Hipoksiden 21 gün sonraki (4hf'lık) sıçanda bronş<br>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....               | 56 |
| <b>Şekil 12d:</b> Hipoksiden 21 gün sonraki (4hf'lık) sıçanda bronşiyol<br>respiratuvar epitel. Grimelius'un gümüşlemesi.....           | 56 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 1.</b> Alt solunum yollarındaki hücre tipleri.....                                                | 12 |
| <b>Çizelge 2.</b> İnsanda neoplastik olmayan akciğer hastalıkları ve<br>Pulmoner NEC’teki değişiklikler..... | 19 |
| <b>Çizelge 3.</b> Kontrol ve hipoksi gruplarında ortalama DNES<br>hücre sayıları ve standart sapmaları.....  | 33 |



## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

### 1.1.Giriş

Ülkemizde yeni doğan dönemindeki ölüm nedenlerinin % 11'inin doğum sırasındaki hipoksiye bağlı olduğu ifade edilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı AÇS-AP Genel Müdürlüğü: Üçüncü bin yıla başlarken anne ve çocukların durumu, 2000). Erken doğan bebeklerde asfiksi sıklığının % 60'lık oranlara vardığı bildirilmiştir. Hipoksi veya doku perfüzyonunun azalmasıyla başta beyin olmak üzere akciğerler ve diğer dokuların etkilendiği gözlenmektedir. Hücre hasarının en yaygın nedenlerinden biri de bilindiği gibi hipoksi ve serbest radikal hasarıdır (Fishback, 1999). Hipoksik iskemi hücrelerde enerji yetersizliği, serbest radikal oluşumu, asidoz vd. yollarla hasara sebep olmaktadır. Organizmada oksidatif hasara karşı bir çok koruyucu sistem devreye girmektedir (Risberg ve ark., 1991).

Akciğer parankim ve havayolları epitelinde amin ve peptitleri sentezleyen Nöroendokrin hücre (Neuroendocrine Cell; NEC)'ler vardır. Bu hücreler "Diffüz nöroendokrin sistem (DNES)"in pulmoner komponentini oluşturur. Fonksiyonları ve solunum sistemi hastalıklarındaki rolleri tam olarak bilinmemektedir (Memiş, 2004). Sağlıklı erişkin insan akciğerinde pulmoner nöroendokrin hücreler (Pulmonary Neuroendocrine Cell; pulmoner NEC), larinksten alveollere kadar her seviyede, ancak en çok intrapulmoner bronş ve bronşiyollerde bulunurlar. Hava yollarında her 2500 non-endokrin hücreye, bir pulmoner NEC karşılık gelmektedir (Memiş, 2004). Bu hücrelerin çoğu soliterdir, çok az bir kısmı ise oldukça organize innerve hücre toplulukları oluştururlar, bunlara Nöroepitelyal Cisimcik (Neuroepithelial Bodies; NEB) denir. (Cutz, 1997). NEB'ler gastrin-releasing peptide (GRP), kalsitonin, kalsitonin gene-related peptid (CGRP) ve serotonin gibi bir dizi sekretuar ürün salgırlar (Lauweryns, 1986).

Bronşiyal astım, kronik bronşit ve amfizem, bronşiektazi, kistik fibrozis ve eozinofilik granüloma gibi inflamasyonla karakterize hastalıklarda pulmoner NEC'ler uyarılmaktadır (Memiş, 2004).

Pulmoner NEC çalışmalarında temelde iki önemli nokta vardır: Birincisi karsinoid tümörler ve küçük hücreli karsinomlar gibi pulmoner nöroendokrin tümörlerin biyolojik hücre karakteristiklerinin i yüzünü kavramak, ikincisi ergin ve fetüs akciğerlerinde bulunan pulmoner NEC'in biyolojik özelliklerini ve fizyolojik rollerini açıklamaktır. Örneğin, küçük hücreli karsinomlar içinde otokrin büyüme faktörlerinin salgılandığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Fetal akciğer gelişiminde, pulmoner NEC'in rolü olduğu tahmin edilmektedir (Cuttita F ve ark., 1985; Bancroft, 2002).

İlk olarak tanımlandığı zamandan beri NEC'in kemoreseptör fonksiyon grdğu bilinmektedir. İnnerve olan hücre kümeleri, hipoksi durumundaki azalan oksijen miktarına cevap olarak pulmoner fonksiyonları düzenlerler (Gosney J. R., 1993). Tavşan fetuslarında, oksijene duyarlı mekanizmaların varlığı ile ilgili çalışmalardan sonra pulmoner NEC'lerin kemoreseptör işlev grdğu bildirilmiştir. Bu hücrelerin oksijene duyarlılık mekanizmaları net olarak bilinmemektedir (Youngson ve ark., 1993). Başka bir çalışmada, pulmoner NEC sisteminde bulunan oksijene duyarlı kemoreseptörlerin, lokal ve refleks aracılı düzenleyici fonksiyonlarıyla, hava yollarının büyüme ve gelişimini düzenlediğine dikkat çekilmiştir. Pulmoner DNES'teki nöral komponentin duysal olduğuna dair kanıtlar ve hücre farklılaşmasıyla ilgili deneysel kanıtlar, pulmoner NEC membranına spesifik oksijen reseptörünün varlığını düşündürmüştür (Lommel ve ark., 1999). NEC'lerin kemoreseptör rol yerine daha çok pulmoner zedelenmeden sonra rejenerasyon ve tamir olaylarında, akciğerin büyüme ve gelişmesinde, parakrin regülasyonda görev aldıkları da düşünülmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2003).

Bir çalışmada akut, kronik hipoksi ve normoksik yeni doğan tavşanların akciğerlerinde, pulmoner arterlerde t.media kalınlığı ve 5-HT floresans şiddetiyle NEC sayıları belirlenmiştir. Hipoksik yeni doğan tavşanların pulmoner arter kalınlığının (Heath ve ark., 1990) ve NEC sayılarının belirgin şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (Keith ve arkadaşları, 1981). Havayolu mukozasına yaygın olarak dağılan aminopeptid üreten pulmoner NEC'lerin akciğer gelişimi ve pulmoner vasküler direncin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Ayrıca kronik hipoksi boyunca pulmoner NEC tarafından üretilen pulmoner vazodilatatör etkisi olan CGRP düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (McBride, 1990; Ijsselsstijn H., 1995). Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'ında da alveolar hipoksi sonucu pulmoner arteriollerin t. media'sının düz kasları, normalde kas içermeyen distaldeki damarlara doğru yayılır ve t.intimada kalınlaşma olduğu görülür (İlhan M.,1998). Bu çalışmada, deneysel hipoksi modeli oluşturularak, hipoksiden sonra farklı zaman aralıklarında sakrifiye edilmiş yeni doğan sıçanların bronş ve bronşiyollerindeki pulmoner NEC'in hipoksiye verdiği yanıtta kantitatif olarak ne düzeyde etkilendiğini araştırmayı amaçladık.

## **1.2. Solunum Sistemi Embriyolojisi**

### **1.2.1 Alt Solunum Sistemi Embriyolojisi**

İnsanda 4. haftanın başında ilkel farinks tabanının orta hattında laringotrakeal çukur belirir daha sonra kabarak laringotrakeal divertikül'ü oluşturur. Bu yapı splanik mezenkim içine kaudal yönde ilerler ve uç kısmı genişleyerek “ akciğer tomurcuğunu” oluşturur. Divertikülün endoderminden larinks, trakea, bronş, bronşiyol ve alveolü döşeyen epiteller ve salgı epitelleri gelişir. Bağ dokuları, kıkırdaklar ve düz kaslar ise splanik mezenkimden gelişir. Laringotrakeal divertikulum ön barsaktan önce trakeoözefagal yarık ile daha sonra bu yarığın kapanması ile oluşan trakeoözefagal septumla ayrılır. Bu septum ön barsağı laringotrakeal tüp olarak adlandırılan larinks, trakea, bronş ve akciğerlerin tomurcuğunu oluşturacak ventral bölüm ile özefagusu oluşturacak dorsal bölüm olarak ikiye ayırır.

#### **Trakea'nın gelişimi**

Trakea'nın epitel ve bezleri endodermden gelişirken, kıkırdaklar bağ dokuları ve düz kas yapıları çevre splanik mezenkimden gelişir.

## **Bronşların gelişimi**

Splanik mezenkimle çevrili akciğer tomurcuğu 4. haftada iki bronşiyal tomurcuğa ayrılır. 5. haftada her bronşiyal tomurcuk primer bronşların primordiumunu yapmak üzere genişler. 5. haftanın sonunda her primer bronş 2 veya daha fazla bronşiyal tomurcuğa dallanır. Bunlar sekonder bronşların primordiumudur. Sağda superior sekonder bronş akciğerin superior lobunu, inferior sekonder bronş ise ikiye dallanarak akciğerin orta ve alt lobunu; solda ise 2 sekonder bronş superior ve inferior loplari oluşturur. segmental (tersiyer) bronşlar; sekonder bronşların 8. hafta sırasında dallanmaları ile sağda 10, solda 8 veya 9 tane segmental bronş şekillenir. Bronş ağacı gelişirken doğumdan önce 17 kez dikotomik (ikiye bölünme) bölünme gerçekleşir. Doğumdan sonra 6 bölünme daha olacaktır. Bronşlar gelişirken duvarlarında çevre splanik mezenkimden hiyalin kıkırdak plakları, düz kaslar, bağ dokusu ve kan damarları gelişir.

### **1.2.2. Akciğer Embriyolojisi**

Akciğer gelişimi dört evreye bölünür:

- Psödoglandular evre
- Kanaliküler evre
- Terminal kese evresi
- Alveoler evre

#### **Psödoglandüler Evre (5 - 17. hafta)**

Gelişmekte olan akciğerler bu evrede bir ölçüde ekzokrin salgı bezlerine benzerler. 17.haftaya kadar gaz alışverişiyle ilgili olanlar hariç, akciğerlerin tüm temel elemanları oluşur. Fakat solunum mümkün olmadığından, bu evrede doğan fetüsler yaşayamaz.

### **Kanaliküler Evre (16 - 25. hafta)**

Bronşlar ve terminal bronşiyollerin lümenleri genişlemiş, akciğerler damardan zenginleşmiştir. Terminal bronşiyoller çok sayıda respiratuvar bronşiyollere, her respiratuvar bronşiyol de 3-6 alveolar kanala dallanır. Bu kanalların her biri de terminal kese ya da primitif alveol olarak adlandırılan kübik epitelle döşeli bir şişkinlikle sonlanır.

### **Terminal Kese Evresi (24. haftadan doğuma kadar)**

Bu evrede birçok terminal kese (primitif alveol) gelişir. 24-28. haftalar arasında terminal kese epiteli çok incelik ve altına kapillerler yerleşir. 24. haftada terminal keseler, tip 1 pnömositlerle ve pulmoner surfaktanı salgılayan tip 2 pnömositlerle döşelidir. 24. haftadan sonra doğan fetuslar yaşayabilir. Sufaktan 32. haftada yeterli düzeye erişir. Alveoller, intrauterin hayatın son 6 haftası ile doğum sonrası 8. yaşa kadar gelişmeye devam eder.

### **Alveolar Evre (Geç Fetal Evreden Çocukluğa Kadar)**

Bu evrenin başlangıcında her alveolar kanal, birbirleri ile gevşek bağ dokusu ile ayrılmış ince duvarlı primitif alveollerin oluşturduğu bir demetle sonlanır. Doğuma kadar tipik olgun alveoller şekillenmez.

#### **1.2.3. Pulmoner NEC Embriyolojisi**

Akciğer epiteli ön barsak epitelinden gelişmektedir. Akciğer epitelinin farklılaşması sırasında oluşan ilk hücre tipi insanlarda ve hayvanlarda pulmoner NEC olarak tanımlanmış hücreler olabilir. Biyolojik anlamda pulmoner NEC'in erken görülmesi olayı tam netliğe kavuşmamıştır.

Pulmoner NEC immatur hava yolu epitelinden farklılaşır ve yetişkin akciğerlerden çok, geç fetal dönemde (intra uterin olarak) daha çok sayıda gözlenir.

Pulmoner NEC'in proliferasyonu ve diferansiyasyonunun moleküler mekanizmalarının anlaşılması için henüz birkaç çalışma yapılmıştır. Pulmoner NEC'in fetal periyotta çoğalması merkezden çevreye doğru olmaktadır (Ito, 1999) .

Pulmoner NEC orijini ile ilgili olarak günümüzde etkisini koruyan çeşitli görüşler vardır. Bunlar; Pearse'ye göre tüm APUD hücre tiplerinin embriyonik kökeni "nöral krest" tir. Her ne kadar Pearse ve arkadaşları sonradan birkaç hücre tipinin nöral krest ve epiblasttan köken aldığını söylese de (Pearse ve Takor, 1979), nöral krest hipotezi etkisini hala sürdürmektedir. Çünkü DNES'in orijininin, nöral krest olduğu hipotezi çok daha ikna edicidir (Andrew ve ark., 1998, Stenberg, 1997; Ito ve ark., 1997; Day ve ark., 2002). Bununla birlikte, immatur fetal epitelinde yapılan invitro çalışmalarda pulmoner NEC'in endodermal orjinli olduğu görünmektedir (Sidhu G.S., 1979; Emura ve ark., 1994; Ito ve ark., 1997).

Sternberg'e göre, günümüzün embriyolojik verileriyle NEC'lerin çoğunun nöral krest orjinli olduğu görüşü etkisini yitirmiştir. Şimdilerde nöral krest olduğu ispatlanan NEC'ler yalnızca şunlara ait olanlardır: Adrenal medulla, ekstra-adrenal paraganglionlar, myenterik plexus hücreleri ve sempatik ganglionlar, tiroid C hücreleri. Aynı zamanda, yapılan bazı çalışmalar tiroid C hücrelerinin nöral krest orjinli olduğundan, şüphe duyulmasına sebep olmaktadır. Bununla birlikte solunum ve sindirim sisteminde bulunan, peptidler ve amin üreten hücrelerin endodermal orjinli olabileceği gösterilmiştir (Sternberg, 1997)

### **1. 3. Solunum Sistemi Histolojisi**

Akciğerler ile akciğerleri dış ortama bağlayan tübüler yapılardan oluşan solunum sistemi esas fonksiyonları göz önüne alınarak iki bölüme ayrılır:

a) İletici bölüm: Havayı akciğer alveollerine kadar ileten bölümdür (burun, nazofarinks, larinks, trakea, bronş ve bronşiyollerden oluşur). İki bölümü bağlayan geçiş kısmı respiratuar bronşiyollerdir.

b) Respiratuar bölüm: Kan ile hava arasında gaz alışverişinin yapıldığı bölümdür (respiratuar bronşiyoller, duktus alveolaris ve alveollerden oluşur). İletici bölüm basit bir hava pasajı değildir, havanın ısınması, nemlendirilmesi, yabancı maddelerden temizlenmesi (siller, mukus ve lenfositler aracılığıyla) bu geçiş sırasında yapılır. Farinks sindirim sisteminin bir bölümünü oluşturur. Larinks ses organını içerir.

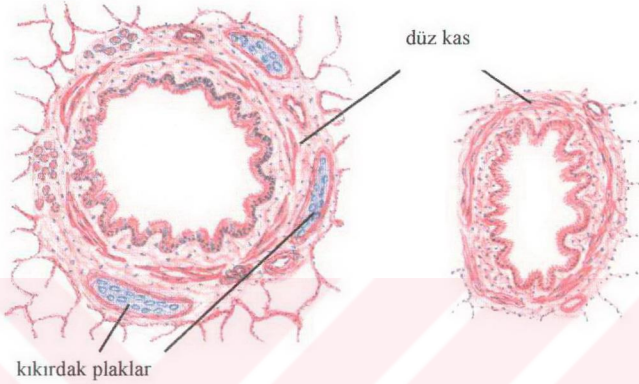
Trakea: Trakea larinksin tabanından iki primer bronşun ayrıldığı noktaya kadar uzanan, yaklaşık 10 cm. uzunluğunda ince duvarlı bir tüptür. Trakea tipik solunum epiteli ile döşelidir. L. propria da 16-20 adet C harfi şeklinde hyalin kıkırdak halkası vardır. Bunlar trakea'nın lümenini açık tutmaya yarar. C harfi şeklinde hyalin kıkırdak halkası birbirine fibroelastik ligament ve düz kas demeti ile bağlanır.

Bronş Ağacı : Trakea, hilumdan akciğerlere giren iki primer bronşa ayrılır. Primer bronşlar akciğere girdikten sonra sağ akciğerde üç, sol akciğerde iki bronşa ayrılır.

Bronşlar : Her primer bronş ikiye ayrılarak, 9-12 defa dallanır, böylece her dal çapı yaklaşık 5 mm. oluncaya kadar incelir. Bronşlarda kıkırdakların şekli trakea'ya göre oldukça düzensizleşir. Ancak büyük bronşlarda kıkırdak halkalar lümeni tamamen çevreler. Bronş çapı azaldıkça kıkırdak halkaların yerini izole hyalin kıkırdak plakları alır (Şekil 1) Epitelin altında, bronşun l.propriasında birbirini çaprazlayan spiral düz kas demetleri yer alır. İletici bölümün duvarındaki düz kas demetleri, solunum bölümüne yaklaştıkça belirginleşir. Ölümünden sonra bu kasların kontraksiyonuyla, kesitlerde bronş mukozası kıvrıntılı görülmektedir. L. propria elastik liflerden zengindir, bronş lümenine açılan çok sayıda seröz ve müköz bezler vardır. Bronşların dallanma noktalarında çok sayıda lenf nodülleri vardır.

## BRONŞ

## BRONŞİYOL



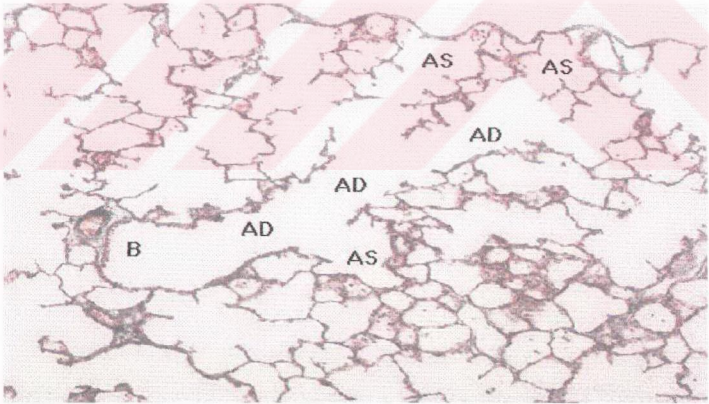
**Şekil 1:** Bronş ve bronşiyol kesiti (Dr. Samir El-Shafey)

**Bronşiyoller:** Bronşiyoller, çapı 5 mm. ya da daha az olan intralobüler hava yollarıdır. Mukozalarında kıkırdak ya da bez içermezler (Şekil 1). Başlangıç segmentlerinde goblet hücrelerine rastlanır. Büyük bronşiyollerde, epitel silyalı yalancı çok katlı prizmatiktir. Daha küçük terminal bronşiyollerde bu epitelin boyu ve karmaşıklığı azalır. Silyalı tek katlı prizmatik veya kübik olur. Terminal bronşiyol epiteli aynı zamanda Klara hücreleri de içerir. Bu hücrelerin silyaları yoktur. Apikal sitoplazmalarında salgı granülleri bulunur. Bronşiyol yüzeyini koruyan glikozaminoglikanları salgırlar. L.propria büyük oranda düz kas ve elastik liflerden yapılmıştır. Bronş ve bronşiyollerin kas yapısı, vagus siniri ve sempatik sinir sisteminin kontrolü altındadır. Bronşiyollerde, ayrıca NEB denen özelleşmiş bölgeler bulunur. Bunlar salgı granülü içeren ve kolinerjik sinir sonlanmaları alan 80-100 hücreden oluşur. Salgıları lokal etki gösterir. Bunlar olasılıkla hava yolu içindeki gaz bileşimineki değişikliklere karşı yanıt oluşturan kemoreseptörler olabilirler.

**Respiratuvar Bronşiyoller :** Solunum sisteminin iletili bölümü ile solunum bölümü arasında geçiş bölgesi olan iki yada daha fazla respiratuvar bronşiyole ayrılır.

Respiratuvar bronşiyol bölümleri silyalı kübik epitel ve klara hücreleri ile döşelidir, alveollere açılan kısımları yassı alveol epitel hücrelerine dönüşür. Respiratuvar bronşiyol epitelinin altında düz kas ve elastik bağ dokusu vardır. Alveoller arasında, bronşiyol epiteli silyalı kübik epitelidir.

**Alveol Kanalı :** Respiratuvar bronşiyoller boyunca distale doğru bronşiyol duvarına açılan alveol sayısı artar ve sonuçta duvarda alveolden başka bir yapı bulunmaz hale gelir ve tüp artık alveol kanalı (duktus alveolaris) adını alır. Alveol kanalı ve alveoller çok ince yassı alveol hücreleriyle döşelidir. L. propriada alveollerin kenarları boyunca düz kas hücrelerinden oluşan bir ağ bulunur. Alveol kanalı ve alveoller elastik lif ve kollajen liflerle desteklenir. Alveol kanalları, alveol keseleri ile ilişkili atriyumlara açılır (Şekil 2). Her atriyumdan iki yada daha fazla alveol kesesi çıkar. Atriyumların ağızları, alveol keseleri, alveoller elastik ve retiküler liflerden oluşan karmaşık bir ağ ile sınırlıdır. Elastik lifler soluk alma ile alveollerin genişleyebilmesini, soluk verme sırasında pasif olarak büzülmesini sağlar.



**Şekil 2:** Akciğerin iletilci hava yolları. En küçük bronşiyollerin (B) devamında ductus alveolaris (AD), alveolar keseler (AS)'e açılıyor. Masson trikrom boyama, 10X10 ( Dr. Thomas Caceci'nin izniyle).

Alveoller : Respiratuvar bronşiyoller, alveol kanalları, alveol keselerinde bulunan yaklaşık 200µm. çapında kese şeklinde çıkıntılardır. Bronş ağacının son bölümü olan alveollerde hava ile kan arasında oksijen ve karbondioksit değişimi gerçekleşir. İki komşu alveol arasında interalveolar septum bulunur. Burada kapillerler, fibroblastlar, elastik ve retiküler lifler ile makrofajlar bulunan iki ince yassı epitel tabakasından oluşur. Alveollerdeki hava ile kapiller kanı, kan-hava bariyeri ile birbirinden ayrılır. Bu bariyer alveollerin yüzey epiteli ve alveol hücrelerinin sitoplazması, alveol ve endotel hücrelerinin bazal laminaları ve endotel hücrelerinin sitoplazmasından oluşmuştur; bu tabakanın kalınlığı 0.1-1.5 µm. arasında değişir. İnteralveolar septumda başlıca beş tip hücre bulunur: kapiller endotel hücreleri (%30), tip I alveol hücreleri (%8), tip II hücreler (%16), fibroblast ve mast hücreleri (%36), alveolar makrofajlar (%10). Kapiller endoteli pencereci değildir ve kesintisiz olarak kapillerleri döşer. Tip I hücreler, ileri derecede incelmış hücrelerdir. Bu hücreler alveol yüzeyinin %97'sini kaplar. Görevi; gazların geçişine uygun minimal kalınlıkta bir bariyer sağlamaktır. Tip II hücreler, alveol yüzeyinin %3'ünü kaplar. Tip I hücreleri arasına serpilmiş olarak bulunur. Tip I hücreleri ile aralarında desmozomlar ve zonula okludensler vardır. Görevi; pulmoner sürfaktanı oluşturmaktır. Pulmoner sürfaktanın akciğerde birkaç önemli işlevi vardır. Öncelikle, alveol hücrelerinin yüzey geriliminin azaltılmasına yardımcı olur. Yüzey geriliminin azaltılmasının anlamı, alveollerin havayla dolması için daha az solunum gücü harcanması ve böylece solunumun kolaylaştırılmasıdır. Sürfaktan olmasaydı alveoller soluk verme sırasında kapanırlardı. Sürfaktan tabakası durağan olmayıp sürekli bir dönüşüm halindedir.

Solunum (Respiratuvar) Epiteli: İletici bölümün çoğu yeri goblet (kalisiform) hücrelerinden zengin psödostratifiye (yalancı çok katlı), silli silindirik epitel ile döşelidir. Bronş bronşiyollere dallandıkça psödostratifiye epitel, önce basit silindirik epitele, daha sonra (terminal bronşiyolde) kübik epitele döner. Bronş ağacının en alt bölümündeki epitel ise basit yassı tiptedir. Solunum sisteminde direkt hava akımı ya da fizik aşınmalarına uğrayan yerlerdeki epitel ise çok katlı yassı tiptedir (orofarinks, epiglottis, korda vokalis). Goblet hücreleri küçük bronşiyollerde giderek azalır ve terminal bronşiyolde tamamen kaybolur. Goblet hücrelerinin kaybolduğu halde en küçük bronşiyollerde silli epitel bulunmaktadır.

Goblet hücrelerinin salgıladığı mukus yapışkan olduğundan birçok partikülleri ve suda eriyebilen gazları (sülfat ve ozon gibi) absorbe eder, sil hareketiyle farinkse yollanarak, farinkste ya yutulur ya da öksürük ile dışarıya atılır. Mukusun temizleyici rolünün yanı sıra, alınan havayı nemlendirme görevi vardır. Aşağıdaki çizelgede alt solunum yollarındaki hücre tiplerine ait bilgiler (Sternberg, 1997) özet olarak verilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1: Alt Solunum Yolundaki Hücre Tipleri <sup>a</sup>

| Hücre Tipi                                 | Özellikleri                                                                                                                                                                     | Fonksiyonu                                                                                                                                                              | Yerleşimi                                                           | Açıklama                                                                       |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Silli                                      | Kübik silindirik silli bronşiyol epitel hücreleri herbiri apikal yüzde yaklaşık 250 adet sil taşır ve her sil yaklaşık 6µm uzunluktadır.                                        | Mukus akışının proksimal taşınımı                                                                                                                                       | Bronş ve bronşiyoller                                               | Kronik irritasyon sonucu morfolojik anomalilerin gözlenmesi ve sayısal azalma. |
| Goblet                                     | Silindirik mukus salgılayan hücreler apikalden salınan glikoprotein mukus içerir                                                                                                | Havayolu mukusuna katkıda bulunur.                                                                                                                                      | Bronşların proksimalinde daha fazla, bronşiyollerde daha az bulunur | Kronik havayolu irritasyonunda artmış sayıda bulunur.                          |
| Bazal                                      | Bazal membran boyunca yer alan nispeten az sitoplazmalı kısa hücrelerdir.                                                                                                       | Silli ve goblet hücrelerin öncülüdür.                                                                                                                                   | Bronşlar ve nadiren Bronşiyollerde bulunur.                         | Yok                                                                            |
| Nöroendokrin (Kulchitsky veya K hücreleri) | Çok sayıda yoğun özlü nörosekretuar granülleri ile bazal yerleşimli hücreler; tek veya gruplar halinde (Nöroepitelyal cisim) havayollarının çatallanma yerlerine yakın bulunur. | Spesifik fonksiyonları detaylı bilinmemekte; DNES'in bir parçası olarak düşünülmektedir                                                                                 | Bronşlar ve nadiren bronşiyollerde bulunur.                         | Yok                                                                            |
| Klara                                      | Ovoid elektron yoğun granüllü sitoplazması apikalde şişkinlik yapar, silsiz bronşiyol epitel hücrelerinin çoğunluğunu oluşturur.                                                | Mukus havuzun katkıda bulunmak ve lümeni saran ekstraselüler sıvının devamlılığını sağlamak, diğer bronşial hücreler için progenitör; sürfaktan üretiminde rolü vardır. | Esas olarak bronşiyollerde bulunur.                                 | Yok                                                                            |
| Tip 1 Alveolar Pnömosit                    | Geniş yassı alveolar sınırlayıcı hücreler alveol yüzey alanının %93'ünü kaplar.                                                                                                 | Gaz değişimi için ince kan-hava geçişini oluşturur.                                                                                                                     | Alveollerde bulunur.                                                | Yok                                                                            |
| Tip 2 Alveolar Pnömosit                    | Silindirik alveolar sınırlayıcı hücreler; mikrovillüslü yüzey sürfaktan sentezler ve salgılar (lameller,inklüzyonlar); bölünebilirler.                                          | Alveollerin devamlılığını sağlar; tip 1 pnömositler için progenitör rol oynar.                                                                                          | Alveollerde bulunur                                                 | Kronik hasara yanıtta ve tamir olaylarında sayıları artar.                     |

<sup>a</sup> (Colby ve ark., 1995; Sternberg, 1997)

## 1. 4. Solunum Sistemi ve Nöroendokrin Hücreler

### 1. 4.1. Diffüz Nöroendokrin Sistem (DNES)

Heidenhain adlı araştırmacı 1870 yılında gastrointestinal epitelde küçük granüllü hücrelerin bulunduğunu göstermiştir. Diffüz endokrin epitelyal organ kavramını ortaya koyan ilk araştırmacı Friedrich Feyther (1938)'dir. Feyther, bu hücreleri şeffaf hücreler (Helle zellen) olarak adlandırmıştır. 1949 yılında Fröhlich, 1954 yılında Feyther tarafından; bu şeffaf hücrelerin akciğerde olanlarının, arjirofilik olduğu gösterilmiştir. Akciğer endokrin hücreleri, lokal aktif humoral ürünler salgılayabilen hücrelerdir. 1969'da Pearse tarafından geliştirilmiş olan ortak sınıflandırmaya göre "Feyther cells" ve APUD (Amin Prekürsör Uptake ve Dekarboksilasyon) kavramı önerilmiştir. APUD ailesi içinde, hipofizin ön lobu, hipotalamus, pinealosit, karotid cisim hücreleri, tiroid C hücreleri, akciğer ve mide endokrin hücreleri, merkel hücreleri, melanosit, pankreas'ın endokrin hücreleri, timus ve sempatik sinir hücreleri, adrenal medulla hücreleri bulunur. Günümüzde; bu endokrin hücrelerin bazılarının amin prekürsörlerini oluşturmaması nedeniyle, APUD kavramı yerini büyük oranda, nöronlar ve endokrin hücre karakteristiklerini taşıyan DNES kavramına bırakmıştır (Pearse ve Takor, 1979; Junqueira, Carneiro, 2003). 1970'lerde pulmoner NEC çalışmaları; erişkin akciğerlerdeki pulmoner NEC azlığı ve histokimyasal tanımlama tekniklerinin yetersizliği nedeniyle çok fazla ilerleme göstermemiştir. Bununla birlikte 1970 yılında Lauweryns ve arkadaşları; pulmoner NEC'in fetal akciğerde bol bulunduğunu rapor etmişlerdir. 1978'de ise Wharton ve arkadaşları, immunohistokimyasal metodların gelişimi ve çeşitli endokrin belirlere karşı antikorların üretiminin pulmoner NEC'in gösterilmesine olanak sağladığını rapor etmişlerdir. Daha sonra hücrelerin genel ince yapısal özellikleri tanımlanarak; dekarboksi amin prekürsörlerini yaptıkları ve nöronlardaki aktif biyolojik peptidleri sentezledikleri gösterilmiştir (Ito, 1999).

Farklı dokularda pulmoner NEC'ler, özdeş proteinleri üretebilirler. Ör; somatostatin; bazı hipotalamik nöronlarda, pankreasın D hücrelerinde, bronkopulmoner endokrin hücrelerde, timik endokrin hücrelerde ve kalsitonin ile beraber lokalize olduğu tiroid C hücrelerinde ve bazı ürogenital endokrin hücrelerde bulunur. GRP, 27 aminoasitli Bombesin'in memelilerdeki homologudur; tiroid C hücrelerinde, sempatik ganglionların küçük floresan yoğun hücrelerinde, gastrointestinal miyenterik plexusun nöral hücrelerinde ve bronkopulmoner endokrin hücrelerde bulunur. NEC'ler, basit bir prekürsör molekülden farklı ve aynı proteinleri üretebilirler. Ör. ACTH, büyük öncü molekül olan pro-opiomelanocortin (POMC)'den sentezlenir. Adenohipofizde, POMC işlenerek ACTH,  $\beta$ -lipotropin ve 16 KDN-terminal fragmanını oluşturur. İntermediet lobta ACTH ve  $\beta$ -lipotropin ayrı ayrı işlenerek  $\alpha$ -MSH ve  $\beta$ -endorfin'i oluştururlar. NEC'lerin hormonal çeşitliliğinin nedeni, tek bir genden üretilen farklı m-RNA'ların alternatif birleşme yerlerinden kaynaklanır. Kalsitonin ve CGRP'nin her ikisi de olgun m-RNA'nın iki farklı formundan üretilmek için birleşen primer bir RNA kopyasından üretilir. Birden fazla gen; birbirleriyle yakın ilişkili peptitlerin kodlarını içerebilir (Stephan S. Stenberg, 1997). Pulmoner NEC farklılaşmasını, temel nöronal helix-loop-helix (bHLH) transkripsiyon faktörünün düzenlediği rapor edilmiştir (Borges ve ark., 1997; Ito ve ark., 2003).

Pulmoner NEC'e uygun çeşitli isimler vermiştir. Bu isimlendirmede şunlar dikkate alınmıştır: ışık veya elektron mikroskopik özellikleri, histokimyasal özellikleri, hücre sayıları ve DNES fonksiyonları. Endokrin hücre veya NEC terimleri yaygın olarak kullanılır (Ito, 1999). Pulmoner NEC kümeler halinde veya soliter halde alveolar kanalda, büyük bronşlarda akciğer içinde hava yollarında dağılmıştır. Küme halinde bulunan pulmoner NEC'lere farklı zamanlarda çeşitli isimler verilmiştir: Bunlara;

1949 Frohlich 1963 Glorieux tarafından "korpuskül"

1964 Shulga tarafından "adacık reseptörleri"

1972 Lauweryns ve Peuskons tarafından "nöroepitelyal cisimcik (NEB)" olarak isimlendirildi (Ito T, 1999).

Çeşitli hayvan türleri ve insanın mevcut hava yolları epitelinde NEC'ler bulunur ve kümeleşerek NEB'leri oluşturur. Genel sitokimyasal özellikleriyle ilgili olarak arjirofilik sitoplazma florojenik aminleri içerir, kurşunlu hematoksilan ile (+) boyanır ve maskelenmiş metakromazi görülür. Çeşitli dokular içine dağılmış APUD hücreleri ile boya özellikleri benzerdir. İnsan ve hayvan akciğerlerinin her ikisinde bulunan serotonine immunoreaktivite gösterir ve insan akciğerinin NEC'leri içinde peptid hormonlarının immunoreaktivitesi daha spesifik hücre belirteçleri ile teşhis edilmektedir. NEC'in ince yapısal düzeyi sitoplazmalarında bulunan koyu öz granüllerle karakterize edilirken bu granüllerde amin-peptid hormonlarının depo edildiği kabul edilir. NEB'lerin ayırt edici özelliği, asetilkolin esterase ile pozitif boyanması ve yalnız NEC şeklinde bulunmaması, miyelinsiz sinir sonlanmalarının granüllü hücrelerle temas halinde olmasıdır. Soliter NEC'ler trakea bronşiyol epitelinde yayılmaktadır, oysa NEB sadece intrapulmoner hava yolları içinde bulunur. Postnatal akciğerler içinde küçük hava yollarında soliter NEC ve NEB'ler birlikte görülür. İnsan akciğer gelişiminde NEC ilk olarak gestasyonun 8. haftasında görülürken, diğer tüm epitelyal hücreler hala farklılaşmamıştır. Glandular periyodun sonunda NEC'ler tek tek ve gruplar halinde bronşiyal epitelinin uzunluğu boyunca bulunur. NEC'lerin fonksiyonları pulmoner vasküler veya bronşiyal cevabın nörohormonal düzenlenmesi ve NEB'in intrapulmoner hipoksiye karşı kemoreseptör görevi görmeleridir (Cutz, 1982).

Lommel ve ark. (1999), 1989-1999 yılları arasında yaptıkları çalışmalarda pulmoner NEC sisteminde oksijene duyarlı kemoreseptörle hava yollarının büyüme ve gelişiminin düzenlenmesine dikkati çekmiştir.

NEC ve NEB'ler büyük oranda lümenle ilişkilidir. Parakrin ve kemoreseptör rolü olan soliter NEC ve NEB'ler (yeni doğan tavşan) respiratuvar yolda görülür. Hage (1974) de fare ve domuzda ve tavşan fütuslarında arjirofilik endokrin hücreleri göstermiştir. Hamster, fare ve fütal tavşan akciğerini karşılaştırsak, bu hücrelerin sayılarının, fetal tavşanda daha çok olduğunu birçok yazar rapor etmiştir. Çok sayıda omurgalının epitelinde soliter NEC ve NEB'ler bulunmaktadır.

Bu küçük pulmoner granüllü epitelyal hücreler morfolojik ve histokimyasal özellikleri ile ayırt edicidir. Bu hücrelerin bazıları bombesin, leu-enkefalin, kalsitonin için immunoreaktivite gösterir (Dalçık ve arkadaşları,1994).

Dalçık ve arkadaşları (1994), yeni doğan tavşan akciğerinde NEC'leri göstermek için Grimelius'un gümüş nitrat metodu, Azur II ve Metilen mavisi boyalarından yararlanmışlardır. Araştırmacıların birinci amacı, respiratuvar salgı yapan hücreleri boyamada kullanılan gümüş nitrat boyama metodlarını geliştirmekti; ikinci amacının, NEC veya NEB'leri teşhis etmekte kullanılan Azur II ve Toluidin mavisi ile boyama metodlarını düzeltmekti; üçüncü amacı ise, yeni doğan tavşanlarda bu hücreleri incelemektir. Yine bu çalışmada psödostratifye silindirik epitelin bazalinde soliter NEC'ler görülmüş; bu hücrelerin bazal sitoplazmalarında boya birikintilerine sahip olduğu gözlenmiştir. Soliter NEC'lerin daha çok arjirofilik boyanmaktadır. NEB apeksi ince, bazali geniş koniye benzetilmiştir; NEB'lerde hücrelerin apikal lümen ve bazal membran ile direk ilişki içinde bulunduğu; Azur II ve toluidin mavisi ile boyanan yarı ince kesitlerde NEC'lerin apikal sitoplazmalarının vakuollü ve şeffaf veziküllerle dolu olduğu gözlenmiştir (Dalçık ve ark., 1994).

Başka bir araştırmada ise küçük bronş ve bronşiyolde birkaç piramidal şekilde soliter NEC'ler lümeden uzakta lokalize olmuş şekilde görülmüştür, arjirofilik boyanan görüntülerde ışık mikroskobu ile NEC'ler kolayca teşhis edilmiştir (Becker ve ark.,1980). Cutz ve ark. (1975), soliter NEC şeklini piramide benzetmişler ve basit silindirik tip epiteldeki arjirofilik hücrelerin lümenle ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Psödostratifye silli prizmatik epiteldeki, arjirofilik hücreler bazalde lokalizedir. Bazalde lokalize olan hücrelerin bazal sitoplazmalarında daha çok gümüş tanecikler kümelenmiştir. Bununla birlikte apikal hücrelerdeki gümüş tanecikler apikal sitoplazmada daha çoktur. Goniakawska-Witaliska ve ark. (1992), semenderin akciğerinde soliter NEC'de immunohistokimya yöntemi ile serotonin, met-enkefalin ve leu-enkefalin varlığını göstermiştir. Lümendeki çevresel değişiklikler diğer bazı hücelere göre endokrin veya parakrin fonksiyonları daha çok etkileyebilir. NEB'lerin morfolojileri bir tat tomurcuğuna benzemektedir.

NEB'lerin hücreleri içindeki vakuoller içinde nöropeptidler bulunur.ve hava alanları ile NEB'lerin ilişkili olduğu çok sayıda araştırma ile rapor edilmiştir (Zacccone, 1989).

Goniakowska-Witalinska ve ark. (1992), kaplan semender akciğer NEB'lerinin kısa mikrovilluslara ve sillere sahip olduğunu göstermiştir. Goniakowska-Witalinska ve Cutz (1990), kurbağa akciğerlerindeki sinir sonlanmalarını göstermişlerdir. NEB ve soliter NEC'lerin rolü tam anlamıyla bilinmemekle beraber, sitoplazmadaki spesifik granülleri, anatomik lokalizasyonu, bu hücrelerin lokal kimyasal değişikliklere karşı duyu reseptörü olduğunu göstermektedir ve merkezi sinir sistemi tarafından idare edildiği bilinmektedir. Bu hücrelerin endokrin veya parakrin fonksiyonları olduğu bildirilmiştir (Dalçık ve ark.,1994).

Seldeslagh ve Lauweryns (1997), kedilerin akciğerlerinde Nöral Hücre Adhezyon Molekülü (NCAM)'in NEB ve nöral doku elementleri için duyarlı ve spesifik bir belirteç olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, ard arda gelen seri kesitlerde NCAM ekspresyonunu Nöron Spesifik Enolaz (NSE) ekspresyonu ile karşılaştırmışlardır. Akciğerlerin gelişim sürecinde, pulmoner sinir ve endokrin sistem arasında paylaşılan NCAM antijenlerinin varlığı, erişkin akciğerinde NCAM proteinlerinin nöral doku elementlerine dönüşümü engellenir. NEB ve NEC'de ekspresse olan NCAM'deki farklılık NEB ve sinirler arasındaki kontakların oluşumunun NCAM ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür.

Deneyisel hayvan çalışmaları kullanılarak kronik hipoksi, toksik maddeler ve karsinojenler izlenmiştir. Pulmoner NEC'in hastalıklarda ve inflamatuvar durumlarda fonksiyonel görünüşünün değiştiği gözlenmiştir (Ito, 1999; Çizelge 2). Karsinoid tümörler çoğu organda görülmekle birlikte en çok akciğer, bronşlar ve gastrointestinal kanalda görülür. Karsinoid tümörler; enterokromaffin ve arjentaffin hücreler gibi NEC'lerden köken alırlar. Elektron mikroskopik incelemede hücreler çok sayıda nörosekretuar granüller içerirler ki, bu granüllerde çok çeşitli hormonlar, biyojenik aminler, peptidler ve nörotransmitterler bulunur. Bu maddeler de çeşitli semptomlara ve endokrin sendromlara yol açabilirler.

Ancak tümörlerin sekreteruar aktiviteleri zaman zaman değişebildiği gibi metastaz yapmış bir tümör de ana hücreden farklı hormonal aktivite gösterebilir. Bunun yanında karsinoidlerin oldukça önemli bir kısmı peptid yapmayabilir ve semptom vermeyebilir. Karsinoid tümörlerden salgılanan başlıca maddeler; serotonin, ACTH, histamin, dopamin, substans P, nörotensin, prostaglandinler, kallikrein, substans K (nörokinin alfa), nöropeptid K, büyüme hormonu (GH), GH releasing hormon (GHRH), gastrin, kromogranin A ve B, kalsitonin, insülin, katekolaminler'dir (Bayram, 2004; Kulke, 1999; Modlin, 1997).

Çizelge 2. İnsanda neoplastik olmayan akciğer hastalıkları ve pulmoner NEC’teki değişiklikler (Ito, 1999)

| Akciğer hastalıkları      | Pulmoner NEC değişimi          | Sorumlu nedenler                                        | Yazar (yıl)                                    |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Çocuk Hastalıkları        |                                |                                                         |                                                |
| Hiyalin membran hastalığı | Azalma                         | Hava yolunda hücre nekrozu                              | Johnson ve ark., (1982).                       |
| Bronkopulmoner displazi   | Küçük havayollarında artış     | Kronik hipoksi ve aktif rejenerasyon                    | Johnson ve ark., (1982). Cutz ve ark., (1984). |
| Wilson-Mikity sendromu    | Bronşıyoalveolar geçişte artış |                                                         |                                                |
| Asfiksi                   | Artış                          | Hipoksi                                                 | Gillan ve ark., (1986).                        |
| Pulmoner hipoplazi        | Değişken                       | Değişken                                                | Ito ve ark., (1987). Cutz ve ark., (1995).     |
| Ani ölüm sendromu         | Bronşıyoalveolar geçişte artış | Kronik hipoksi annenin sigara içmesi ve gelişme gerliği | Perin ve ark., (1991). Cutz ve ark., (1996).   |
| Erişkin Hastalıkları      |                                |                                                         |                                                |
| Pnömoni                   | Artış                          | Hava yolu hasarı                                        | Allibone ve Gosney (1990).                     |
| Kronik bronşit ve amfizem | Artış                          | Kronik hipoksi ve inflamasyon                           | Gosney ve ark., (1989).                        |
| Bronşiyal astım           | Alveolar kanalda artış         | Hava yolu hasarı                                        | Stanislawski ve ark., (1981).                  |
| Bronşiektazi              | Artış                          | İnflamasyon ve lokal hipoksi                            | Gould ve ark., (1983).                         |
| Eozinofilik granüloma     | Artış                          | Sigara ve diğerleri                                     | Aguayo ve ark., (1990).                        |
| Pulmoner hipertansiyon    | Artış                          | Hipoksi                                                 | Gosney , (1989).                               |
| Sigara içimi              | Artış                          | Nikotin, karsinojenler ve hava yolu hasarı              | Aguayo , (1993).                               |
| Akciğer fibrozisi         | Artış veya değişme yok         | inflamasyon ve rejenerasyon                             | Tsutsumi ve ark., (1983).                      |
| Kistik fibrozis           | Artış                          |                                                         | Wolf ve ark .(1986).                           |

#### 1.4.2. Pulmoner NEC'lerin Histokimyasal ve Morfolojik Özellikleri :

H&E ile boyanmış kesitlerinde pulmoner NEC, organ yapısının düzeni ve şeffaf sitoplazması ile tanınır. Bununla birlikte yalnızca H&E boyamalarıyla hücrelerin nöroendokrin karakterlerini tanımlamak olanaksızdır. Ayrıca H&E ile boyanmış kesitlerde soliter pulmoner NEC'leri teşhis etmek çok zordur (Ito, 1999). Sekresyon durumu ve fiksasyon metoduna bağlı olarak sonuçta ürün değişmektedir (Gosney ve Sissons, 1985). Pulmoner NEC teşhisinde, immunohistokimyasal teknikler ve Grimelius gümüş nitrat boyama gibi arjirofilik boyama kullanılmaktadır (Ito, 1999). Grimelius boyama metodu, yüksek sıcaklık ve gümüş nitratin yüksek konsantrasyonları ile daha iyi arjirofilik boyamaktadır (Ito ve ark.,1985). Kemirici akciğerlerindeki pulmoner NEC'lerin gösterilmesi, arjirofilik boyama metodlarıyla oldukça başarısızdır. Pulmoner NEC'in fonksiyonel görünüşlerini, sekretuar durumunu, sayılarını ve değişimlerini görmek, açıklamak için immunohistokimyasal teknikler kullanılmaktadır. Fiksasyon metodları, boyama metodları, kullanılan antikorun orjini ve incelenen hayvan türleri, immunohistokimyasal sonuçları çok etkilemektedir. Araştırmaların ortak amacı, yerinde immunohistokimyasal belirteçler seçmektir. Serotoninin depo halinde bulunduğu rapor edilmiş, pulmoner NEC sayılarının gözlenmesinde serotonin immun boyası ve floresansa sebep olan formaldehit kullanılması önerilir (Ito , 1999). Fareler için, pulmoner NEC serotonin immun-reaktivitesi azdır (Ito ve ark., 1999). Pulmoner NEC, CGRP pozitif olup sulandırılmış supra optimal metotla, immun boyaması yapılır.

İncelenecek olan hayvanların ve çalışmanın amacına uygun, ayırt edici özellikteki antikor seçmeye dikkat etmek gerekmektedir. Hücre ve doku içindeki spesifik DNA ve RNA genlerinin, morfolojik olarak gösterilmesi, in situ hibridizasyonla mümkündür. Pulmoner NEC'in sahip olduğu bombesin/GRP (Spindel ve ark.,1987), proopiomelanokortin (Texier ve ark., 1991; Wang ve ark., 1996) bu metotla gösterilmektedir.

Soliter pulmoner NEC, havayolları epitelinde nadiren görülmektedir. NEC ve NEB'lerin temel yapısı birbirine benzemektedir. Pulmoner NEB'ler alveolar kanalda tip 1 ve tip 2 alveolar hücreler tarafından örtülmektedir (Ito, 1999).

Klara hücreleri ve pulmoner NEC'in, histogenetik (Linnoila ve ark., 1982) ve fonksiyonel (Pearsall ve ark., 1985) olarak benzedikleri öne sürülmüştür. Pulmoner NEC'in apikal yüzünde küçük mikrovilluslar bulunur. Pulmoner NEC'in oksijene duyarlı olduğu bilimekte olup, pulmoner NEC'in oksijene duyarlı proteinleri membran çevresinde immunolokalizedir (Ito, 1999). Pulmoner NEC'in yüzeyinde bulunan diffüz asit-glikoprotein, rutenyum kırmızısı ile boyanmaktadır. Lektin sitokimyası; destekleyici klara hücreleri ve pulmoner NEC'in hücre yüzey membranlarındaki şeker kalıntılarının farklı olduğunu göstermiştir. pulmoner NEC yüzeyinin şeker yapıları sayesinde; pulmoner NEC'in biyolojik fonksiyonlar taşıdığı ileri sürülmektedir. Sıkı bağlantılar, komşu destekleyici klara hücreleri ve pulmoner NEC'in apikal hücre membranlarında iyi gelişmiştir. Bu sıkı bağlantılar, pulmoner NEC'in lümenine ait yüzeyde hücre membran özelleşmesine katkıda bulunur ve pulmoner NEC'in reseptör fonksiyonunu sürdürülebilir. Kümelenmiş pulmoner NEC'in diğer karakteristik özellikleri, bir kaç miyelinsiz sinir sonlanmaları ile ilişkilidir. İnnerve olan kümeler NEB olarak adlandırılmıştır (Ito ve ark., 1992; Widdicombe J., 2001). Fetal gelişim periyodunda, kümelenmiş pulmoner NEC innervasyonu fetal evreye paralel olarak giderek artmaktadır (McDowell ve ark., 1994). DNES üyesi olan pulmoner NEC'in sitoplazması içinde küçük yoğun granüller görülmektedir (Dey ve Hoffpauir, 1986; Wang ve Cutz, 1993). Farelerde fetal periyotta; havayolu bronşlarındaki pulmoner NEC'lerin salgıladığı bombesinin, akciğer gelişiminde önemli olduğu ileri sürülmektedir (King ve ark., 1995).

İmmunositokimyasal çalışmalar göstermiştir ki, çok sayıda salgı ürünleri bir tek granül içinde paketlenmiştir (Dey ve Hoffpauir, 1986; Wang ve Cutz, 1993). Golgi kompleksi iyi gelişmiştir ve yoğun granüller bulunur. Fare akciğerinde, lobar bronşlarda, bronş şekillenmesi ile pulmoner NEC artmaktadır. Sıçan akciğerlerinde merkezden çevreye doğru pulmoner NEC artmaktadır. Tavşanlarda gelişimin geç psödoglandular evresinde, büyük bronşlarda pulmoner NEC'ler görülmektedir.

İnsanda, elektron mikroskopik immunohistokimyasal çalışmalarla, gestasyonun 8. haftalarında proksimal bronşlarda pulmoner NEC görüldüğü açıklanmıştır (Ito, 1999). İnsanda pulmoner NEC serotonin ve NSE immunoreaktivitesi erken görülmektedir (Stahlman, Kasselberg, Orth, Gray, 1985; Cutz ve ark., 1985) ve haftalar sonrasında ise az miktarda CGRP, bombesin pozitif hücreler görülmektedir (Johnson ve ark., 1988). İmmunohistokimyasal çalışmalar göstermiştir ki, nöroendokrin belirteçler ve sekretuar ürünleri, aynı zamanda oluşmamaktadır (Ito ve ark., 1999).

İnsan ve hayvan akciğerlerinin normal havayolu epiteli içerisinde, nöroendokrin farklılaşma gösteren hücreler vardır. Bu hücreler nöroendokrin tümörlerin sahip olduğu ince yapısal özelliklere ve immunohistokimyasal reaktiviteye sahiptir. Epiteli bazı durumlarda, hiperplaziye uğramış hücreler kuşatmıştır (Cutz E, 1997). Yeni doğan, hiperoksik veya hipoksik durumdaki sıçanların; bronkopulmoner displazisi, (Shenberger J ve ark., 1997), konjenital diyafragmatik hernisi olanlarında (Ijsselstijn ve ark., 1997) pulmoner NEC hiperplazisi görülmüştür.

NEC'lerin hem epitelyal hem de endokrin çizgi boyunca farklılaşma kapasitesine sahip epitelyal "kök hücre" orijinli oldukları düşünülmektedir (Laarhoven ve ark., 1991; Nesland ve ark., 1985). Primer pulmoner hipertansiyon (Heath ve ark., 1987), kistik fibrozis, astım, eozinofilik granüloma gibi bazı akciğer hastalıkları pulmoner NEC hiperplazisi ile ilişkilidir. Bazı durumlarda hiperplazinin havayolu hastalıklarına sebep olduğu görülmektedir (Armas ve ark., 1995).

Klasik olarak pulmoner epitelin stem/progenitör hücrelerinin; proksimal hava yollarında bazal ve müköz hücreler, bronşiyollerde klara hücreleri ve alveollerde tip 2 pnömositler olduğu düşünülmektedir. Son veriler, pulmoner NEB'ler içinde uzanan, klara hücrelerinin bir varyantı bulunduğunu, birçok kök hücre kriterleriyle karşılaşıldığını ve tip 2 pnömositlerin, en azından iki tipi olduğunun ve bunlardan bir tipinin hasara daha dirençli olduğunu ileri sürmektedir. Bununla beraber pulmoner kök hücre biyolojisinin altında yatan görüş, pulmoner epitelin kandan kaynaklandığı görüşüdür. (Bishop, 2004)

Fetusda pulmoner NEC'ler, NEB'ler şeklinde innerve olmuşlardır. Genel inancın aksine, ergin olanlarda genelde pulmoner NEC'ler tek tek bulunur. Kromogranin A, en iyi, immunohistokimya yöntemiyle teşhis edilir. Yapılan çalışmalarla, normal ergin insan akciğerinin epitelyal hücre dizileri arasında, küçük ve büyük havayollarının her ikisinde pulmoner NEC'lerin oranı %0.41 dir. Pulmoner NEC'lerin çoğalma oranları bir miktar diğer epitelyal hücrelere benzer (%1) (Boers ve ark.,1996). Sıçanlardan hazırlanan majör aksiyal hava yolu preparatlarında, proksimal hava yollarında, distal alanlardan daha fazla sayıda pulmoner NEC vardır (Avadhanam ve ark.,1997).

NEB; amin-peptit içeren innerve hücre kümelerinin oluşturdukları topluluklardır. İnsan ve hayvan havayolu mukozasına baştan başa dağılmıştır. Fetal tavşanlarda, oksijene duyarlı mekanizmaların keşfinden itibaren, pulmoner NEC'lerin karotid cisme benzer, kemoreseptör fonksiyon gösterdiği bilinmektedir. Yapısal olarak NEB kemoreseptöre benzemektedir ve hipoksiye duyarlı havayolu reseptörü olarak çalışırlar. Bu hücrelerin oksijene duyarlılık mekanizmaları henüz bilinmemektedir (Youngson ve ark., 1993).

Keith ve arkadaşları (1981), arjirofil granüller içeren NEB ve NEC'lerin sayılarını ayrıca formalinin neden olduğu floresans özelliğini kullanarak serotonin emisyon yoğunluğu ile göstermişlerdir. Grimelius boyasının serotonin ile iyi reaksiyon vermediğini, serotonin dışındaki komponentlerle daha iyi reaksiyon verdiğini vurgulamışlardır. Bu araştırmacılar, yaptıkları bir başka çalışmada; akut, kronik hipoksi ve normoksik yeni doğan tavşanların akciğerlerinde, arteriyal medial kalınlığını ve 5-HT floresans şiddetiyle NEC sayılarını saptamışlardır. Hipoksik yeni doğan tavşanların; belirgin şekilde artmış pulmoner arter kalınlığına ve NEC sayılarına sahip olduğu görülmüştür. Havayolu mukozasına yaygın olarak dağılan aminopeptid üreten pulmoner NEC'lerin akciğer gelişimi ve pulmoner vasküler tonusun regülasyonunda önemli bir rol aldığı düşünülmektedir. Ayrıca kronik hipoksi boyunca pulmoner NEC tarafından üretilen pulmoner vazodilatör etkisi olan CGRP düzeylerinin arttığı gösterilmektedir (McBride ve ark., 1990; Ijsselstijn H., 1995).

KOAH'ta alveolar hipoksi gelişimi ile pulmoner arteriollerin medial düz kasları, normalde kas içermeyen distaldeki damarlara doğru yayılır ve t.intimada kalınlaşma görülür ( İlhan M.,1998)

### 1.5. Hipoksi

Hipoksi, doku düzeyindeki  $O_2$  eksikliğidir. Anoksiden daha doğru bir terimdir. Çünkü dokularda  $O_2$  olmamasına pek az rastlanır. Hipoksi 4 tipe ayrılır.

1. Hipoksik hipoksi (anoksik hipoksi): Arter kanının basıncı azalmıştır.
2. Anemik hipoksi : Arteriyal basınç normal, fakat  $O_2$  taşıyacak hemoglobinin miktarı azalmıştır.
3. Staz hipoksisi : Dokulara giden kan akımı o kadar azalmıştır ki, basınç ve hemoglobin konsantrasyonu normal oldukları halde  $O_2$  dokulara iletilmemektedir.
4. Histotoksik hipoksi: Dokuya iletilen  $O_2$  miktarı uygunsa da zehirli cismin etkisinden dolayı doku hücreleri kendilerine gelen  $O_2$  'den yararlanamazlar.

#### 1.5.1 Hipoksinin Etkileri

Staz hipoksisinin etkileri, buna maruz kalan dokuya göre değişir. Hipoksik hipoksi ve hipoksinin diğer genelleşmiş tiplerinde ilk önce etkilenen beyindir. İnspirasyon havasındaki basıncın birdenbire 20 mm Hg nin altına düşmesi, örneğin 17000 m. (50000 feet) yükseklikte uçan bir uçağın kabin basıncının aniden kaybolması, yaklaşık olarak 20 sn. de bilinç kaybına ve 4-5 dk. da ölüme yol açabilir. Daha az şiddette hipoksi alkolün meydana getirdiklerini andıran çeşitli zihin bozuklukları doğurur. Bunlar arasında yargı zayıflığı, uyuklama , ağrı duyusunda azalma, heyecan hali, oryantasyon bozukluğu, zaman duyusunun ortadan kalkması ve başağrısı sayılabilir.

Diğer belirtiler arasında iştahsızlık, bulantı, kusma, taşikardi hipoksinin şiddetli olduğu durumlarda hipertansiyon görülür. Ventilasyon, aort ve karotis kemoreseptör hücrelerinin uğradıkları hipoksinin şiddet derecesiyle orantılıdır.

### 1.5.2. Hipoksik Hipoksi

Hipoksik hipoksi normal kişilerde büyük yüksekliklerde ortaya çıkan bir sorun olduğu gibi pnömoni ve sık rastlanan birçok hastalığın da bir komplikasyonudur.

### 1. 5. 3. Hipoksik Hipoksinin Nedenleri

1. İnspirasyon havasındaki basıncın azalması (yükseklik, O<sub>2</sub> den fakir gaz karışımlarının solunması)
2. Hipoventilasyon, hava yolu tıkanması (yabancı cisim vb.), solunum kaslarının felci (poliyomyelit), iskeletin biçim bozuklukları (kifoskolyoz), solunum merkezinin depresyonu (morfin,vb.), derin olmayan solunum (plöreziden dolayı inspirasyonda ağrı oluşu), havayolu direncinde artma (astım, amfizem), büyük pnömotoraks.
3. Alveol-kapiler difüzyon bloku. Alveol zarının toplam yüzölçümünde azalma (pnömoni, akciğer konjestiyonu). Alveol ya da kapiller duvarının fibrozu (akciğer fibrozu, berilyoz)
4. Anormal ventilasyon-perfüzyon oranı ventilasyon-perfüzyon dengesizliği, alveollerde normalin üzerinde ventilasyon ve normalin altında perfüzyon yapan alanlar (amfizem). Hiç ventilasyon yapmayan alveollerin perfüzyonu (amfizem, atelettazi). Ven kanının arter dolaşımına akciğerlere uğramadan shunt (kısa devre) yapması. Ör. siyanozlu konjenital kalp hastalıklarında olduğu gibi (Ganong, 1996)

## 2. AMAÇ VE KAPSAM

Memelilerde NEB'lerin sadece akciğer içindeki hava yollarında bulunduğu bildirilmiş; doğum sonrası akciğerlerde küçük hava yollarında NEC ve NEB'lerin birlikte görüldüğü rapor edilmiştir. Sıçan akciğerinde NEC'lerin küçük bronş ve bronşiyollerde sayıca daha fazla oldukları bildirilmiştir (Cutz, 1982). Bununla beraber hemen hemen çoğu omurgalı akciğerleri üzerinde yapılan çalışmaların sonucuna göre, NEB'lerin akciğerler içinde daha çok sayıda oldukları rapor edilmiştir. Lommel ve Lauweryns (1999), tavşan akciğerlerinde bronşiyal ağacın dallanma bölgelerinde bol miktarda NEB'lere rastlamıştır.

Hücre hasarının en yaygın nedenlerinden birinin hipoksi ve serbest radikal hasarı olduğu bilinmekle beraber (Fishback, 1999), akciğerlerin hipoksik hasara karşı beyin ve diğer organlara göre oldukça dayanıklı olduğu da bir gerçektir (Kumar ve ark., 2000). NEC'lerin bronşiyal cevabın nörohormonal düzenlenmesi ve NEB'in intrapulmoner hipoksiye karşı kemoreseptör görevi olduğu bildirilmiştir (Cutz, 1982). Memelilerde yapılan fizyolojik denemeler, NEB'in hipoksiye (Lauweryns ve Van Lommel, 1982) ve oksijene duyarlı kemoreseptörler olduğunu göstermiştir. Tavşanlarda fetal dönemin aksine, erişkin akciğerinde NEC'lerin az olmasından dolayı gösterilmesinin oldukça zor olduğu bildirilmiştir (Gray ve Stahlman, 1984). Yeni doğan insan akciğerinde de parakrin salgı yapan hücreler olduğu açıklanmıştır (Stahlman, Grey, Kasselberg, 1985). Pulmoner NEC ilk olarak tanımlandığından beri bir kemoreseptör fonksiyon gördüğü bilinmektedir. İnnerve olan hücre kümeleri, hipoksi durumunda, azalan oksijen miktarına cevap olarak pulmoner fonksiyonları düzenlerler (Gosney J. R., 1993). Amacımız, deneysel olarak bir saatlik hipoksiye maruz bırakılmış yeni doğan hayvanların akciğerlerinde DNES'e ait pulmoner NEC'leri hipoksiden sonraki farklı zaman aralıklarında (hipoksiden sonra 1-2-3-4-24 saat ve 21.günlerde) histokimyasal tekniklerle, ışık mikroskopunda sayısal olarak incelemekti.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Bölümünde, “Hayvansal Araştırmalar Etik Kurulu”ndan onay alınmıştır.

**3.1. Deney Hayvanları:** Bu çalışmada Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp ve Araştırma Biriminden sağlanan Sprague-Dawley cinsi sıçanlar çalışma grubu (H1s, H2s, H3s, H4s, H24s, H21gün sonrasında)’nda 15 sıçan ve kontrol grubunda 2 sıçan olmak üzere toplam 17 adet yavru sıçan kullanıldı. Kontrol grubu ve hipoksiden 1, 2, 3, 4, 24 saat sonra çalışma grubundaki sıçanların yaşları 1 hafta; hipoksiden 21 gün sonraki grup 4 haftalık idi.

**Grup 1: Kontrol Grubu:** Bu gruptaki (n=2) bir haftalık hayvanlara hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı. Hipoksi grubundaki hayvanlar gibi laboratuvar çalışmaları yapıldı.

**Grup 2: Hipoksi Deney Grubu :** Çalışmada Murasato (1998) ve Yamamoto (2000)’ya dayanan hipoksi modeli uygulandı. Bu modele göre hayvanlar 1 saat süreyle %8 oksijen ve % 92 azot karışımını soluyacakları 400 ml. hacimde cam kaplara konuldu. Bu süre içinde hipotermiye girmeleri önlendi (Murasato ve ark. 1998; Yamamoto ve ark., 2000). Modelin oluşturulmasının ardından 1.saatte, 5 sıçan; 2., 3., 4., 24. saatlerde ve 21. günlerde ikişer sıçan kurbanı edildi ve akciğerleri çıkarıldı, doku takipleri yapıldı.

**3.2. Laboratuvar Çalışmaları:** Hipoksinin deney grubuna uygulamasından sonra, tüm hayvanlar ketamin anestezisi altında uyutularak, akciğerleri çıkarıldı. Çıkarılan akciğer dokuları fiksasyon için % 4 Paraformaldehid solüsyonu içerisine konuldu. Fikse edilen dokular bilinen histolojik doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Leica marka mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. H&E, Solcia’nın maskelenmiş metakromazisi, Tripas (Hotchkiss’in Periodic-Acid-Schiff-Orange-G) ve Grimelius’un gümüşleme yöntemleri ile boyandı (John D. Bancroft. 2002).

### 3.3. Işık Mikroskopik Ölçümler ve Sayımlar:

İncelemeler, seri olarak alınmış akciğer kesitlerinde, Di Fiore (2001)'nin Histoloji Atlası ve Deney Hayvanları (Nuri ve Sibel Yavru, 1996) sıçan akciğer anatomisi kitabı referans alınarak yapıldı. Sayımlar, mikrometrik oküler yardımıyla hesaplanan görüntü alanında ( $0.0255 \text{ mm}^2$ ) semi-kantitatif olarak yapıldı (Kon ve ark., 1998; Manesse ve ark., 1998).

Mikroskopik görüntü alanı:

$S = \pi \cdot r^2$   $r=0.09\text{mm}$ . olarak ölçüldü ve

$S = 3.1416 \cdot (0.09)^2$   $S = 0.0255 \text{ mm}^2$  olarak hesaplandı.

Sayımlar, tüm gruplara ait 17 sıçana ait kesitlerde her iki akciğer lobunda 100X objektif ile mikrometrik oküler yardımıyla hesaplanan bir görüntü alanında ( $0.0255 \text{ mm}^2$ )'de yapıldı. Bir görüntü alanında  $0.0255 \text{ mm}^2$  olmak üzere bronşlarda 11 görüntü alanında toplam  $0.28 \text{ mm}^2$  ve bronşiyollerde 2 görüntü alanında toplam  $0.051 \text{ mm}^2$  lik alanda yapıldı.

### 3.4. İstatistiki Değerlendirmeler:

Pulmoner NEC sayıları ile ilgili olarak “Mann-Whitney-U testi” ile kontrol ve deney grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı hesaplandı ( $p<0,05$ ).

## 4. BULGULAR

**4.1. Kontrol grubu (I.Grup) Bulguları:** Akciğerlerde dıştan içe doğru yapılan mikroskopik incelemelerde, en dışta ince bağ dokusu ve tek katlı yassı mezotel hücrelerinden oluşan "visseral pleura" görüldü. Küçük büyütmele objektifle incelendiğinde, bal peteği görünümünde alveoluslar, bronş ve bronşiyol kesitlerine rastlandı (Şekil 3). Bronş ve büyük bronşiyollerde mukozanın respiratuvar tipte, yani "silli yalancı çok katlı prizmatik epitel" ile döşeli olduğu gözlemlendi. H&E ile boyanan kesitlerde epitelin altında soluk renkli gevşek bağ dokusu lamina propria içerisinde bağ dokusu hücreleri ve kan damarları izlendi (Şekil 4a). Bronş duvarında 1. proprianın altındaki düz kas liflerinin post mortem kontraksiyonları ve fiksasyon sonucu mukoza kıvrımlı bir görünümde izlendi (Şekil 3a). Bronş duvarında sayısı büyükten küçüğe doğru azalan hiyalin kıkırdak plaklar, H&E ile şeffaf mavimtrak renkte ve Solcia metodu ile metakromatik mor renkte boyandı (Şekil 3b). Bronş duvarında onlara eşlik eden adventisya'da pulmoner arter ve pulmoner venlere rastlandı (Şekil 3a). Büyük bronşiyollerde respiratuvar epitelin yüksekliği, bronşlara göre daha alçaktı (Şekil 4a, b). H&E ile silli, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 4a); daha çok soluk sitoplazmalı, iri nükleuslu silli hücreler gözlemlendi; tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olan terminal bronşiyolden respiratuvar bronşiyole geçen boyuna kesitlerde sillerin de kaybolduğu gözlemlendi. Respiratuvar bronşiyol epiteli "tek katlı kübik" idi ve duvarında yer yer alveoller görüldü (Şekil 3). PAS ile goblet hücreleri belirgin şekilde izlendi (Şekil 4b) ve bronşlardan bronşiyollere doğru sayısı azalmıştı. PAS ile klara hücrelerinin apikal sitoplazmasındaki salgı granülleri de (+) reaksiyon verdi; ayrıca epitelin bazalinde yer yer üçgenimsi alanlarda PAS ile boyanma izlendi, bu alanların kapalı tip pulmoner NEC'ler olabileceği düşünüldü. İnterstisyumda (Şekil 4c) ve alveol lümenine geçen (Şekil 4d) hareketli makrofajlara da rastlandı. Bronş, bronşiyol ve alveol duvarında izlenen DNES'e ait pulmoner NEC'ler Solcia'nın maskelenmiş metakromazisi ile zor ayırt edildi. (Şekil 4e); Oysa Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile pulmoner NEC'ler kahverengi-siyah renkte daha kolay ayırt edildi (Şekil 4f, g). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile sayılan, ortalama DNES hücreleri bronşlarda  $1\pm1.15$  ve bronşiyollerde  $1.56\pm0.89$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

## 4.2. Hipoksi Deney Grubu Bulguları

**4. 2. 1. Hipoksiden 1 saat sonra (2.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitel farklı boyalarla normal histolojik görünümde izlendi (Şekil 5a, b, c); H&E ve Tripas yöntemi yöntemi ile klara hücreleri karakteristik şişkin apikal sitoplazmalarıyla ayırt edildi (Şekil 5a, c); goblet hücreleri ise PAS ile kolayca demonstre edildi (Şekil 5b). Solcia yöntemiyle DNES hücreleri koyu mavi-mor renkte maskelenmiş metakromatik reaksiyon verdi (Şekil 5d). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC' ler bronş ve bronşiyollerde kahverengi-siyah renkte demonstre edildi (Şekil 5e, f). DNES, bronş epitelinde soliter NEC şeklinde (Şekil 5e) ve bronşiyol epitelinde daha ziyade NEB şeklinde (Şekil 5f) izlendi. Ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $0.30 \pm 0.93$  ve bronşiyollerde  $2.15 \pm 4.02$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Bu grupta bronş ve bronşiyole ait ortalama DNES hücre sayısı, kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede farklı bulundu; Mann-Whithney U testiyle bu grupta DNES hücre sayısında, kontrol grubuna göre bronşlarda anlamlı olarak düşme ( $p < 0.003$ ) ve bronşiyollerde ise anlamlı şekilde yükselme ( $p < 0.030$ ) olduğu hesaplandı (Şekil 6,7).

**4. 2. 2. Hipoksiden 2 saat sonra (3.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitelin farklı boyalarla normal histolojik görünüme sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 8a, b);

H&E ile silli hücreler, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 8a). PAS ile goblet hücreleri daha belirgin şekilde izlendi (Şekil 8b). Bronşiyol epitelinde azalan goblet hücrelerinin yerine klara hücrelerinin devam ettiği ve apikal sitoplazmalarının PAS (+) reaksiyon verdiği görüldü. DNES'e ait pulmoner NEC'ler Solcia ile maskelenmiş metakromatik koyu mavi-mor renkte reaksiyon verdiği gözlemlendi (Şekil 8c). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC'ler kahverengi-siyah renkte demonstre edildi (Şekil 8d, e); ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $3.00 \pm 4.99$  ve bronşiyollerde  $5.38 \pm 3.86$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Bu grupta bronş ve bronşiyole ait ortalama DNES hücre sayısında, kontrol grubuna göre yükselme gözlemlendi, bununla beraber Mann-Whitney U testiyle bronşlardaki artış ( $p<0.89$ ) istatistiki olarak anlamlı olmayıp bronşiyollerde ise anlamlı derecede artış ( $p<0.00$ ) olduğu bulundu (Şekil 6, 7).

**4. 2. 3. Hipoksiden 3 saat sonra (4.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitelin farklı boyalarla normal histolojik görünümde gözlemlendi (Şekil 9a, b); H&E ile silli hücreler, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 9a). PAS ile goblet hücreleri daha belirgin şekilde izlendi (Şekil 9b). Solcia ile DNES'e ait pulmoner NEC'ler de net bir metakromatik reaksiyon gözlenemedi (Şekil 9c). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC'ler kahverengimsiyah renkte demonstre edildi (Şekil 9d, e); ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $0.88\pm1.14$  ve bronşiyollerde  $2.50\pm3.61$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Bu grupta, bronşiyole ait ortalama DNES hücre sayısında, kontrol grubuna göre bir miktar yükselme gözlemlendi; bununla beraber bronş ( $p<0.78$ ) ve bronşiyole ( $p<0.40$ ) ait ortalama DNES hücre sayısında, Mann-Whitney U testiyle kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 6, 7).

**4. 2. 4. Hipoksiden 4 saat sonra (5.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitelin farklı boyalarla normal histolojik görünümde gözlemlendi (Şekil 10a, b); H&E ile silli hücreler, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 10a). PAS ile goblet hücreleri daha belirgin şekilde izlendi (Şekil 10b). Silli hücreler, soluk sitoplazması ve iri nükleuslarıyla, PAS (+) boyanmış goblet hücreleri arasında kolayca seçiliyordu. Solcia ile DNES'e ait pulmoner NEC'ler de net bir metakromatik reaksiyon gözlenemedi. (Şekil 10c). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC'ler kahverengimsi renkte demonstre edildi (Şekil 10d, e); ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $0.75\pm1.12$  ve bronşiyollerde  $3.44\pm3.89$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Bu grupta, bronşiyole ait ortalama DNES hücre sayısında, kontrol grubuna göre bir miktar yükselme gözlemlendi; bununla beraber bronş ( $p<0.56$ ) ve bronşiyole ( $p<0.89$ ) ait ortalama DNES hücre sayısında, Mann-Whithney U testiyle kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 6, 7)

**4. 2. 5. Hipoksiden 24 saat sonra (6.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitelin farklı boyalarla normal histolojik görünümde gözlemlendi (Şekil 11a, b); H&E ile silli hücreler, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 11a). PAS ile goblet hücreleri ve klara hücrelerinin apikali belirgin şekilde izlendi (Şekil 11b). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC ler kahverengi-siyah renkte demonstre edildi (Şekil 11c, d); DNES bronş epitelinde soliter NEC şeklinde (Şekil 11c) ve bronşiyol epitelinde NEB şeklinde (Şekil 11d) görüldü. Ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $00.00\pm00.00$  ve bronşiyollerde  $2.75\pm1.29$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Bu grupta, kontrol grubuna göre ortalama DNES hücre sayısı bronşlarda bir miktar düşme ( $p<0.015$ ) ve bronşiyolde bir miktar yükselme saptandı ( $p<0.007$ ), bununla beraber Mann-Whithney U testiyle bu farklılık istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 6,7).

**4. 2. 6. Hipoksiden 21 gün sonra (7.grup):** Bronş ve bronşiyole ait respiratuvar epitelin farklı boyalarla normal histolojik görünümde gözlemlendi (Şekil 12a, b); H&E ile silli, goblet ve klara hücreleri kolaylıkla ayırt edildi (Şekil 12a). Silli hücreler soluk renkli sitoplazma ve iri nükleuslarıyla dikkati çekiyordu. Bronşlarda PAS ile goblet hücreleri daha belirgin şekilde izlendi (Şekil 12b). Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile DNES'e ait pulmoner NEC ler kahverengi-siyah renkte demonstre edildi (Şekil 12c, d); DNES, bronş (Şekil 12c) ve bronşiyol (Şekil 12d) epitelinde NEB şeklinde izlendi. Ortalama DNES hücre sayısı, bronşlarda  $0.25\pm1.00$  ve bronşiyollerde  $2.13\pm1.85$  olarak hesaplandı (Çizelge 3).

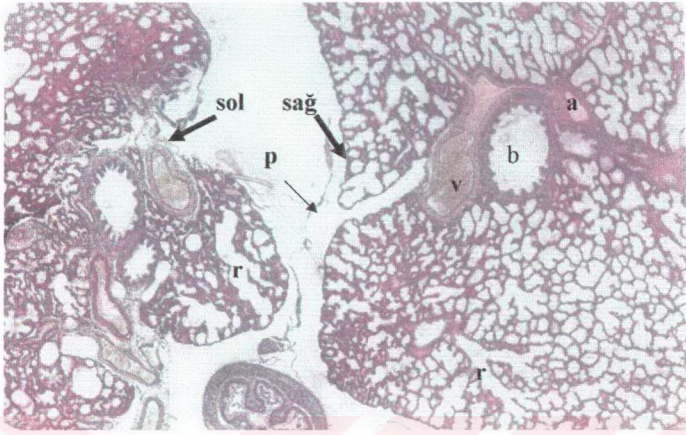
Bu grupta, kontrol grubuna göre ortama DNES hücre sayısında bronşlarda hafifçe düşme ( $p<0.051$ ), bronşiyollerde ise hafifçe yükselme ( $p<0.49$ ) gözlemlendi; bununla beraber Mann-Whithney U testiyle kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 6,7).

**Çizelge 3: Kontrol ve hipoksi gruplarında ortalama DNES hücre sayıları ve standart sapmaları**

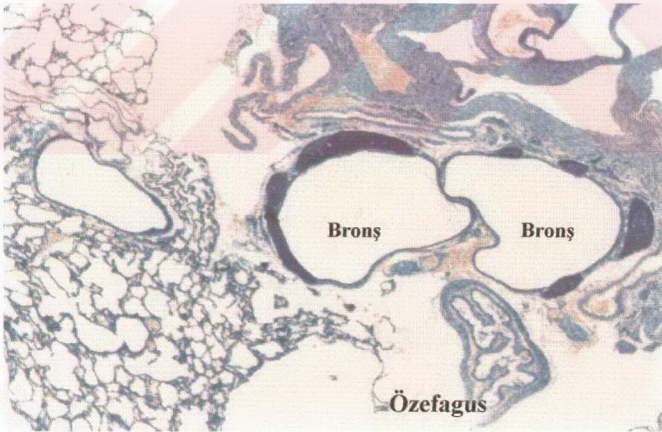
| Gruplar                 | Ortalama DNES Hücre sayısı $\pm$ SD |                     |
|-------------------------|-------------------------------------|---------------------|
|                         | Bronş                               | Bronşiyol           |
| Kontrol (1.grup) (N=16) | $1 \pm 1,155$                       | $1,56 \pm 0,892$    |
| H 1S (2.grup) (N=40)    | $0,30 \pm 0,939 *$                  | $2,15 \pm 4,023 **$ |
| H 2S (3.grup) (N=16)    | $3,00 \pm 4,993$                    | $5,38 \pm 3,862 **$ |
| H 3S (4.grup) (N=16)    | $0,88 \pm 1,147$                    | $2,50 \pm 3,615$    |
| H 4S (5.grup) (N=16)    | $0,75 \pm 1,125$                    | $3,44 \pm 3,898$    |
| H 24S (6.grup) (N=16)   | $0,00 \pm 0,000$                    | $2,75 \pm 1,291$    |
| H 21G (7.grup) (N=16)   | $0,25 \pm 1,000$                    | $2,13 \pm 1,857$    |

\* : Kontrol grubun göre istatiksel olarak anlamlı azalma vardır.

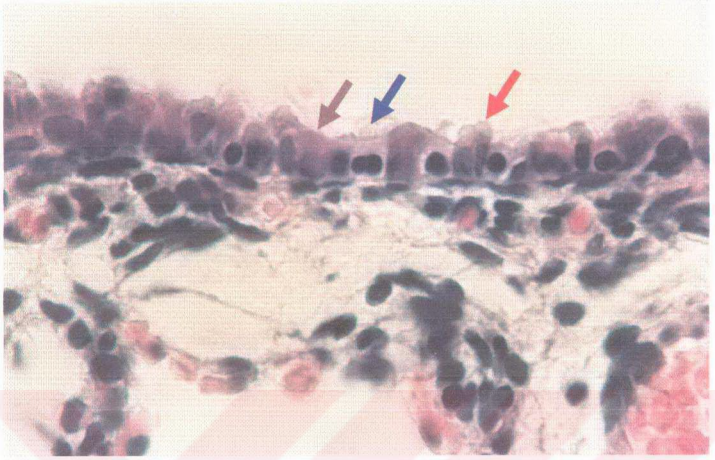
\*\* : Kontrol grubun göre istatiksel olarak anlamlı artış vardır ( $p<0.05$ ).



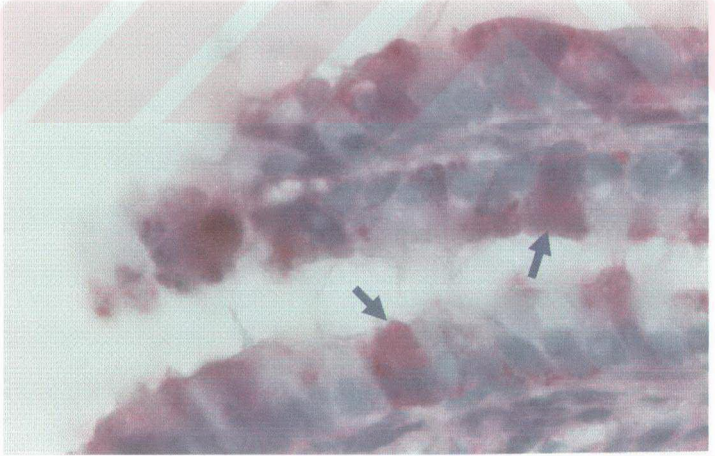
**Şekil 3a:** Yeni doğan (1 h'lık) sıçan akciğerinin genel görünümü. Pulmoner arter (a), pulmoner ven (v),respiratuvar bronşiyol (r), küçük bronş (b), pleura (p). 10X4. H&E.



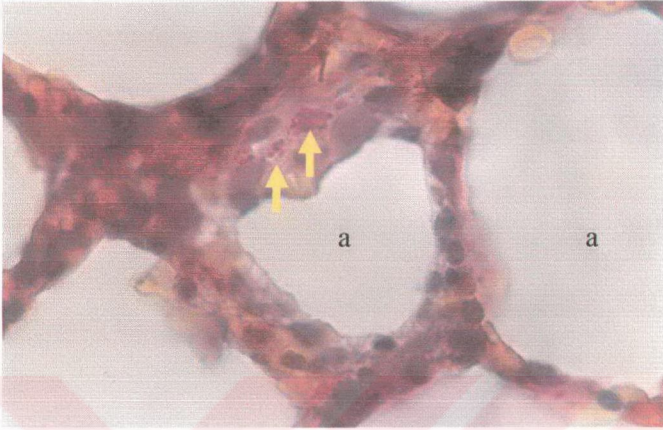
**Şekil 3b:**Yeni doğan (1 h'lık) sıçan akciğerinin genel görünümü. 10X4. Solcia.



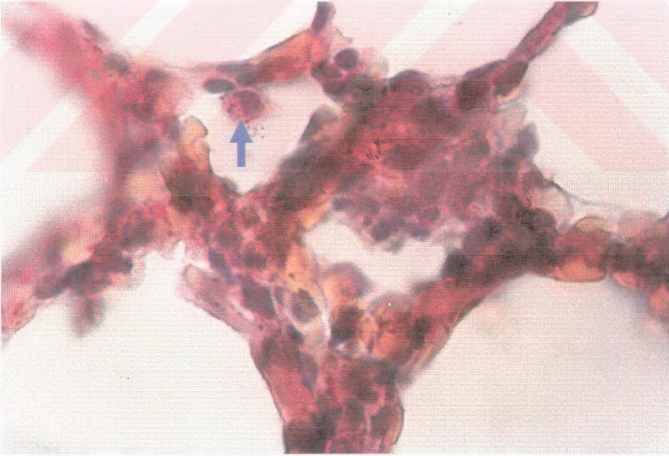
**Şekil 4a:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitelde yer alan silli (mavi ok), goblet (mor ok) ve klara (kırmızı ok) hücreleri görülüyor. 10X100.H&E.



**Şekil 4b:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş duvarında respiratuvar epitelde PAS (+) boyanmış goblet hücreleri (ok)görüüyor. 10X100. PAS.



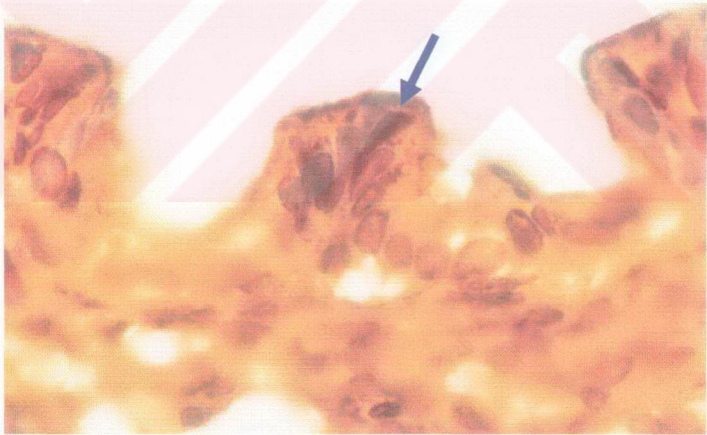
**Şekil 4c:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda alveol duvarında magenta renkli granüllü hücreler (ok) ve alveoller (a) görülüyor. 10X100. Tripas.



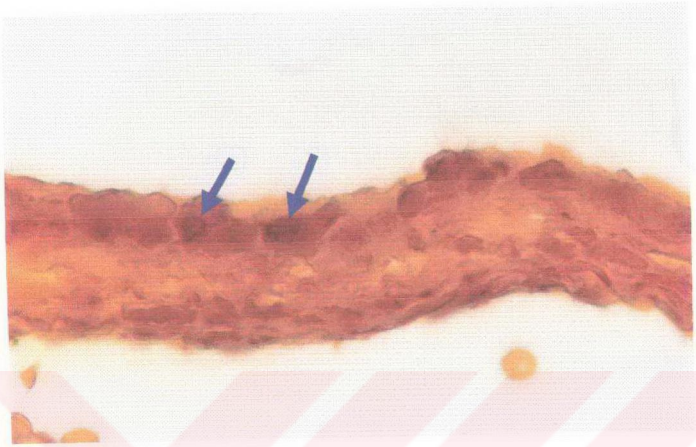
**Şekil 4d:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda alveol lümeninde makrofaj (ok) görülüyor. 10X100. Tripas.



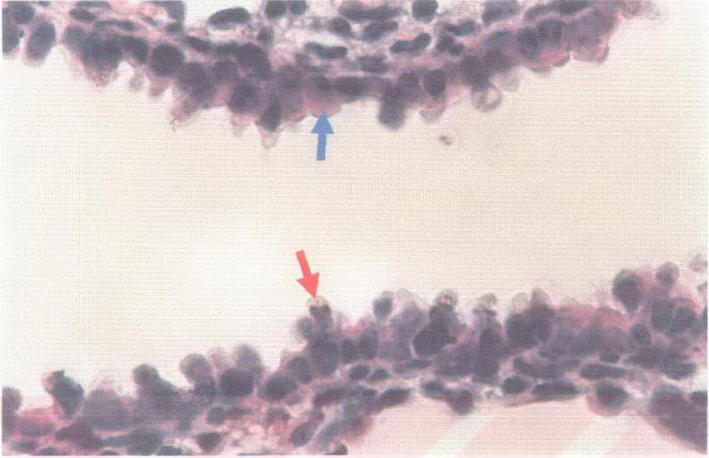
**Şekil 4e:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitelde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Solcia.



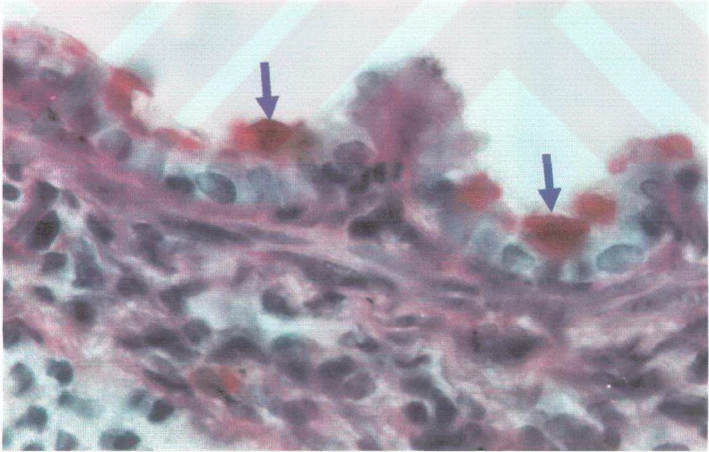
**Şekil 4f:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş duvarında respiratuvar epitelde yer alan DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



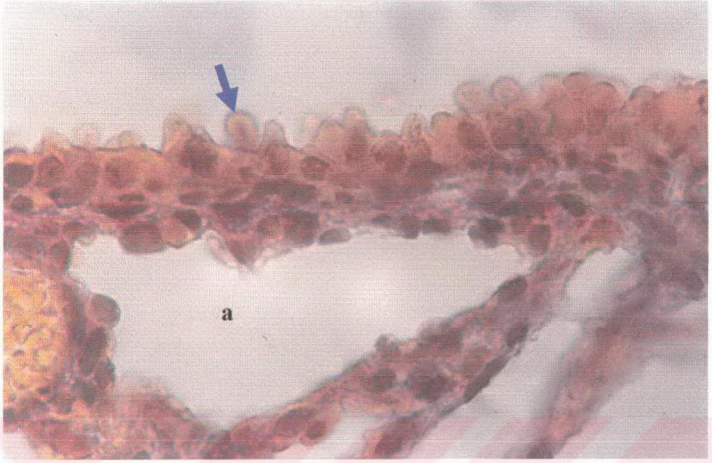
**Şekil 4g:** Kontrol grubu yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitelde yer alan DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



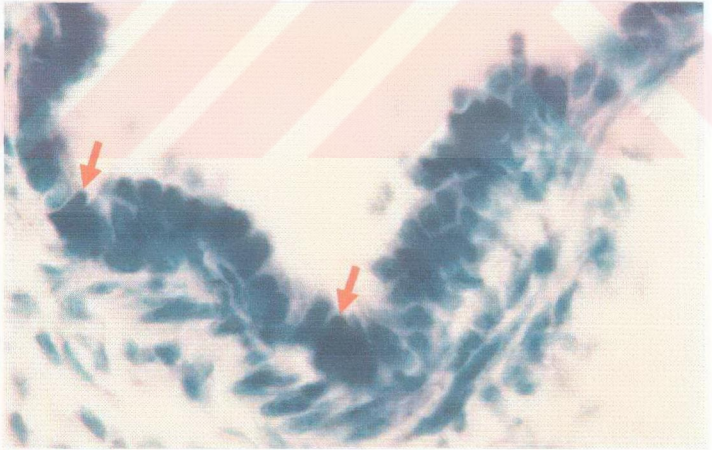
**Şekil 5a:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol duvarında respiratuvar epitelde yer alan goblet (mavi ok) ve klara (kırmızı ok) hücreleri görülüyor. 10X100. H&E.



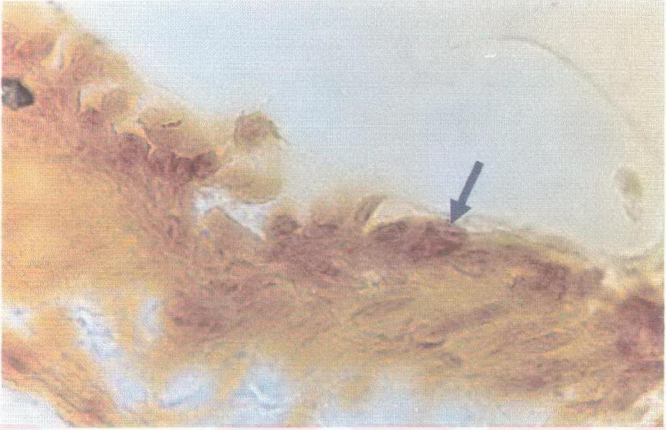
**Şekil 5b:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçan bronş respiratuvar epitelinde yer alan PAS (+) boyanmış goblet hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. PAS.



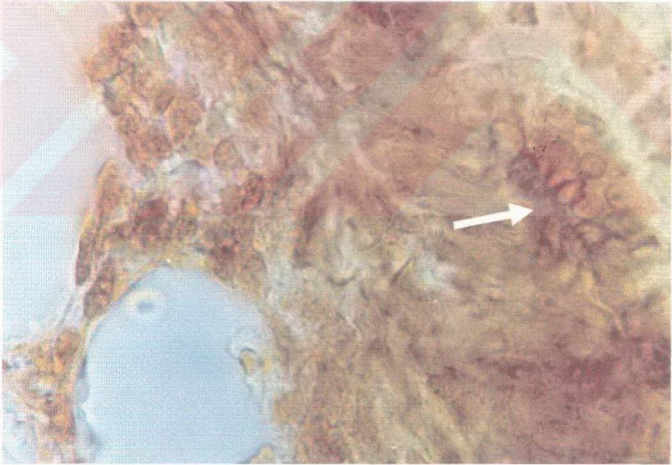
**Şekil 5c:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçan bronşiyol respiratuvar epitelinde klara hücreleri (ok) ve alveoller (a) görülüyor. 10X100. Tripas.



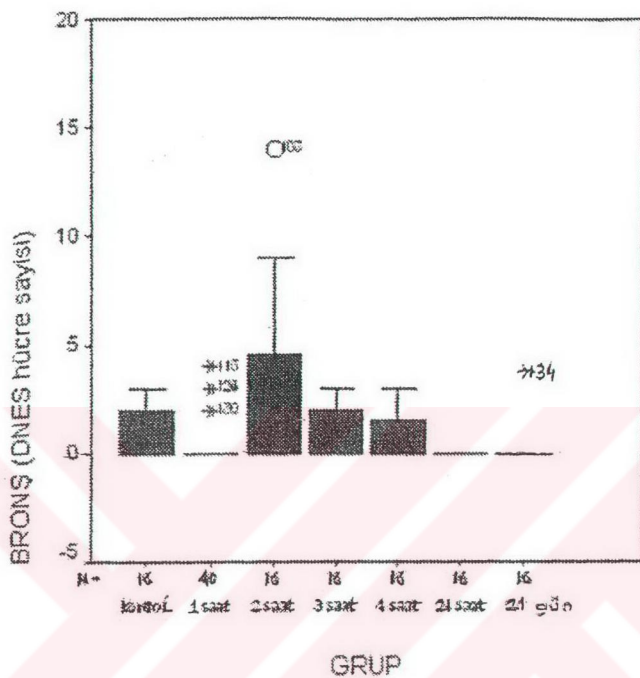
**Şekil 5d:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde yer alan DNES hücreleri (ok)görülyor. 10X100. Solcia.



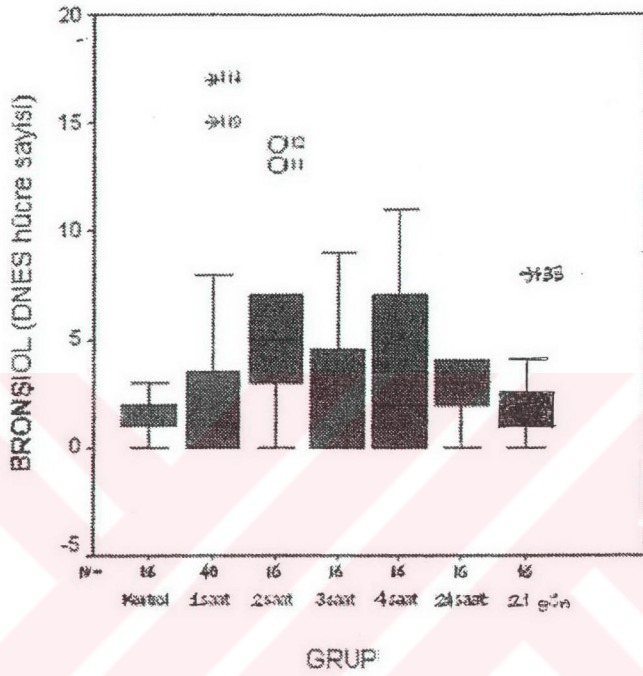
**Şekil 5e:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1h7'lık) sıçan bronş respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



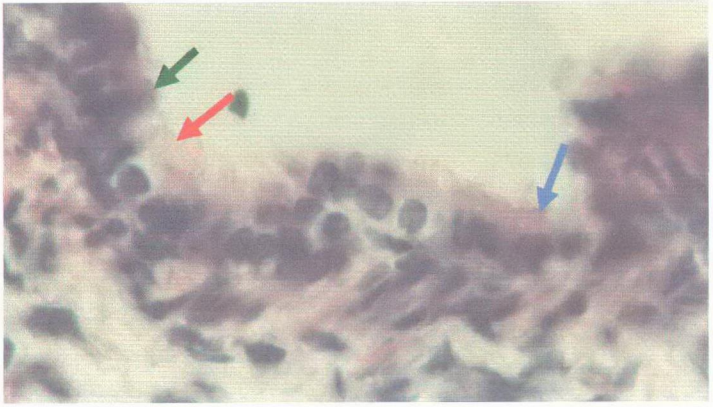
**Şekil 5f:** Hipoksiden 1 saat sonra yeni doğan (1h7'lık) sıçan bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (NEB) görülüyor (ok). 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



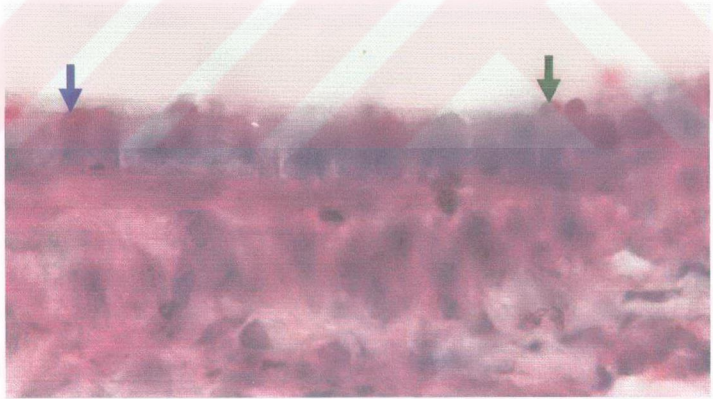
**Şekil 6:** Kontrol ve hipoksi gruplarında bronşda DNES hücre sayısı ve standart sapmaları



**Şekil 7:** Kontrol ve hipoksi gruplarında, bronşiyolde ortalama DNES hücre sayısı ve standart sapmaları



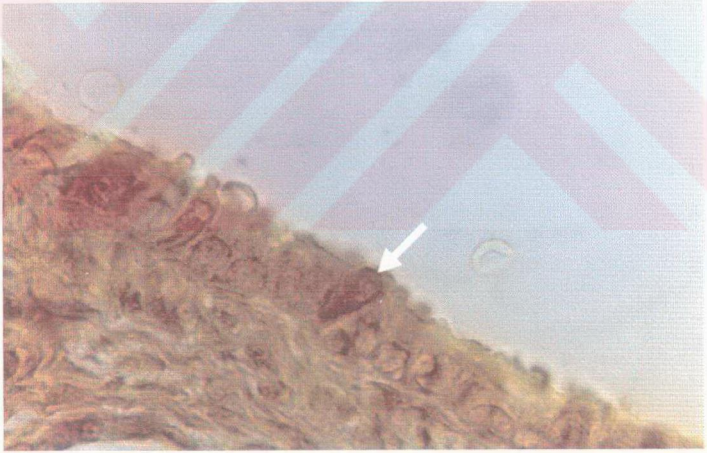
**Şekil 8a:** Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş duvarında respiratuvar epitelde yer alan silli (kırmızı ok), goblet (mavi ok) ve klara (yeşil ok) hücreleri görülüyor. 10X100. H&E.



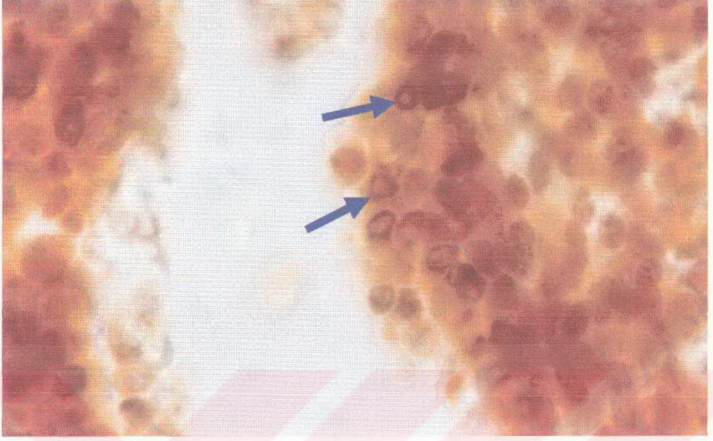
**Şekil 8b:** Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde PAS (+) boyanmış goblet hücreleri (mavi ok) ve klara hücreleri ( yeşil ok) görülüyor. 10X100. PAS.



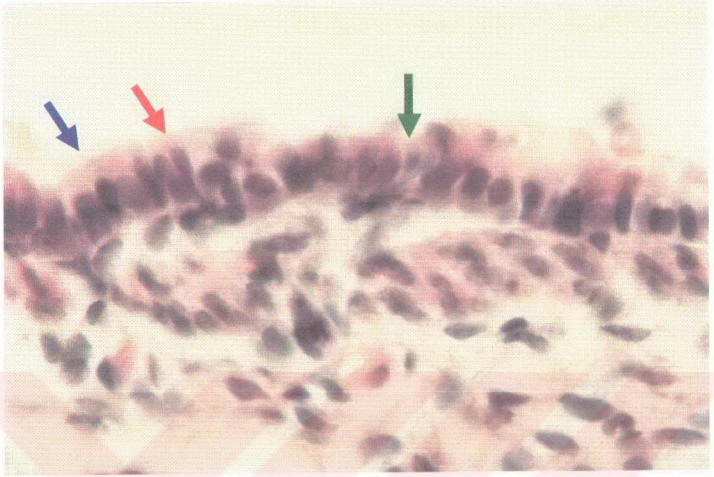
**Şekil 8c:** Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Solcia.



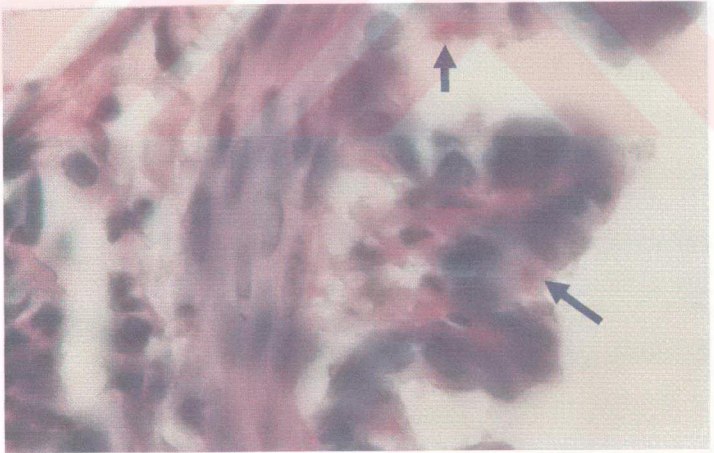
**Şekil 8d:** Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



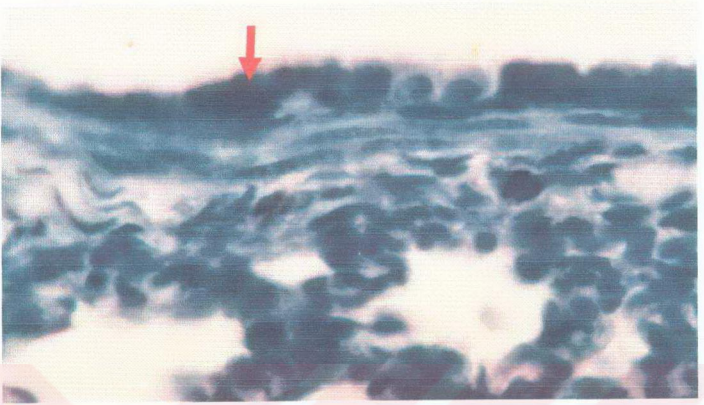
**Şekil 8e:** Hipoksiden 2 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) siçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



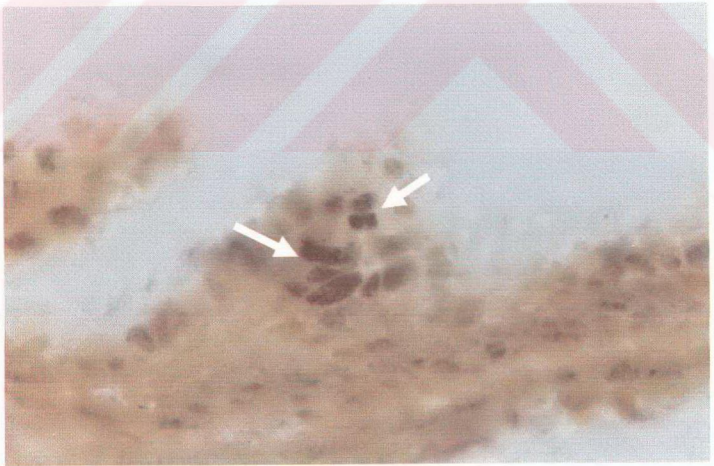
**Şekil 9a:** Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde yer alan silli (mavi ok), goblet (yeşil ok) ve klara (kırmızı ok) hücreleri görülüyor. 10X100.H&E.



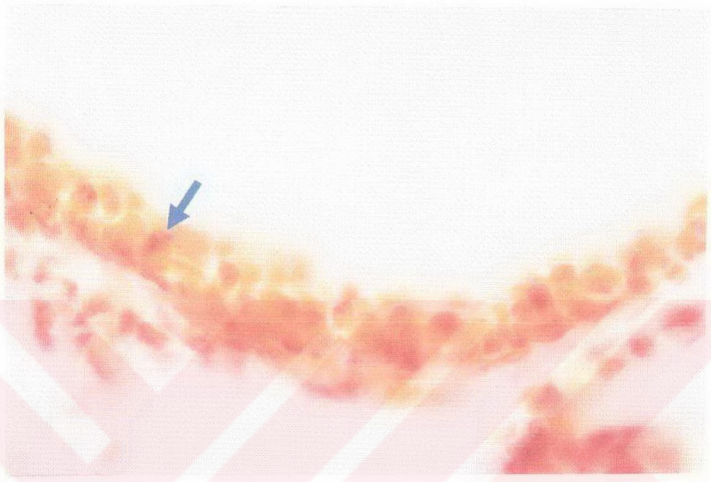
**Şekil 9b:** Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde PAS (+) boyanmış goblet (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. PAS.



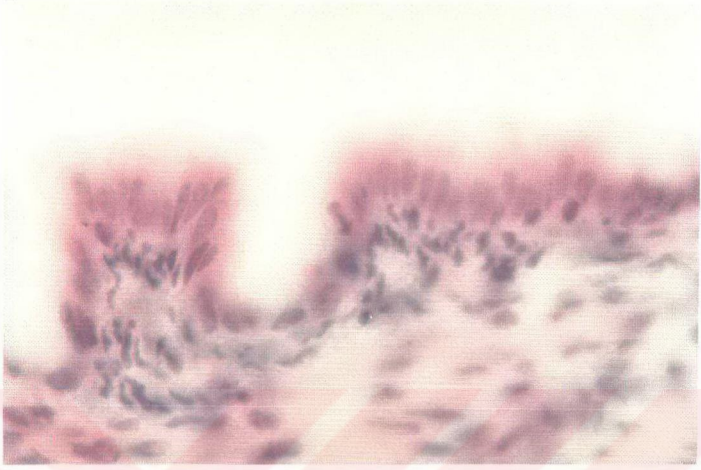
**Şekil 9c:** Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Solcia



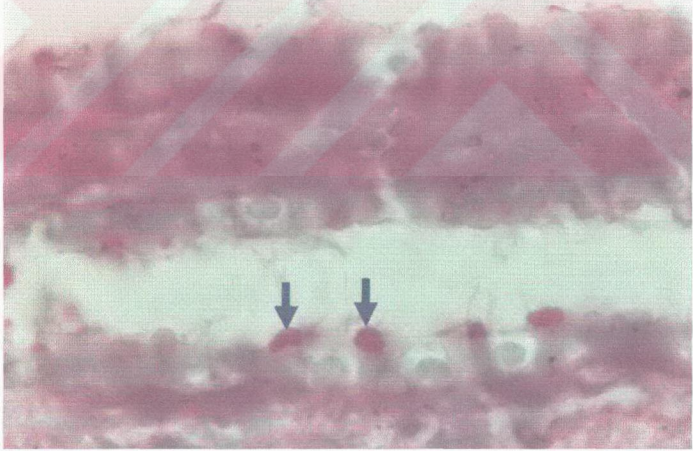
**Şekil 9d:** Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde DNES hücreler NEB (ok) görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



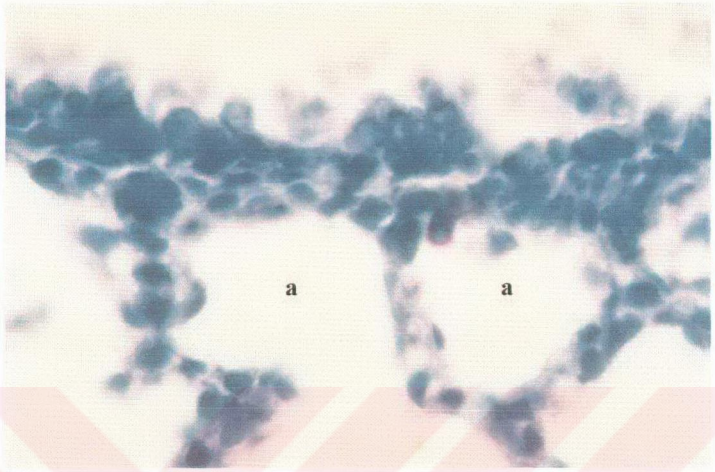
**Şekil 9e:** Hipoksiden 3 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



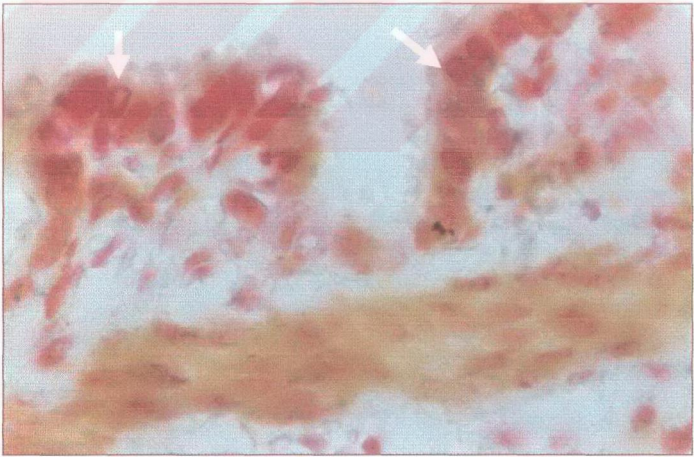
**Şekil 10a:** Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epiteli görülüyor. 10X100.H&E.



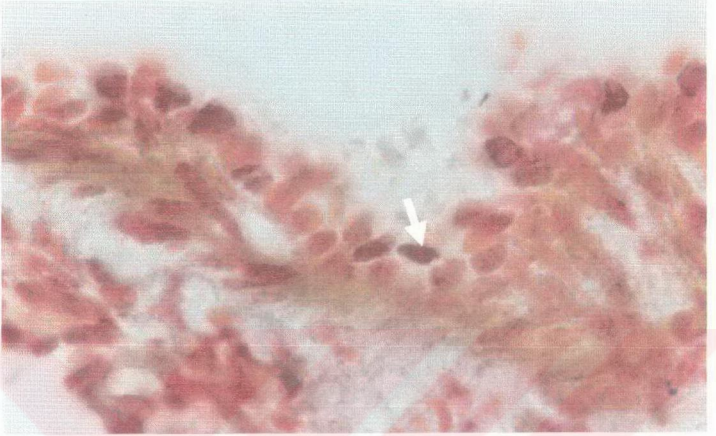
**Şekil 10b:** Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epiteline PAS (+) goblet hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. PAS.



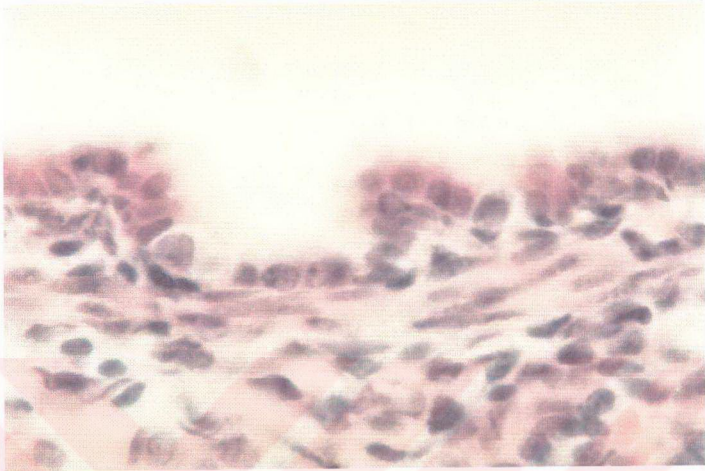
**Şekil 10c:** Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol epiteli ve alveoller (a) görülüyor. 10X100. Solcia



**Şekil 10d:** Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



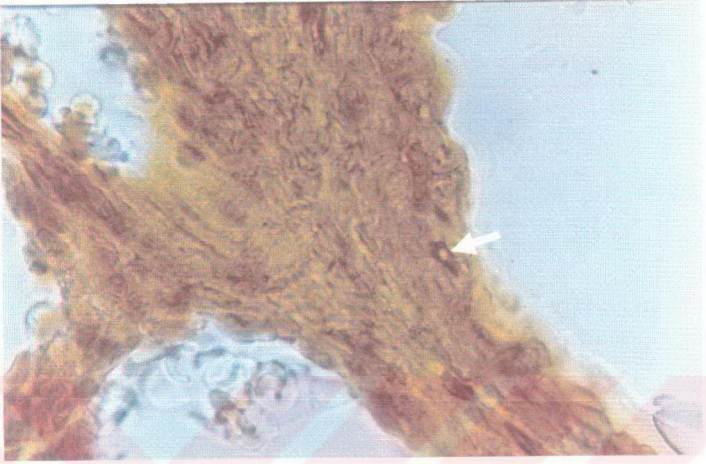
**Şekil 10e:** Hipoksiden 4 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



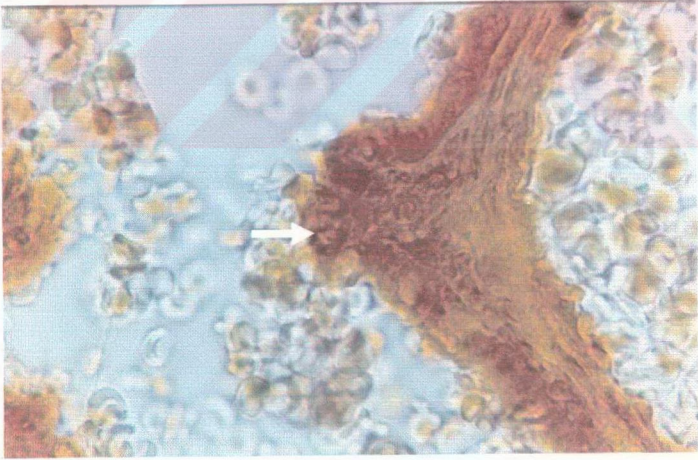
**Şekil 11a:** Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epiteli. 10X100.H&E.



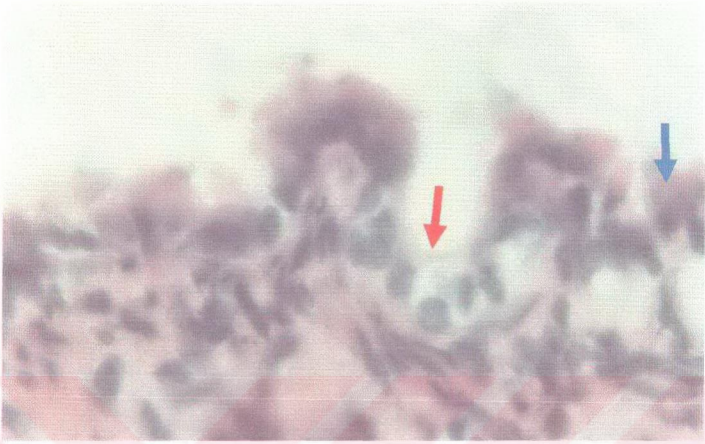
**Şekil 11b:** Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde PAS (+) goblet hücreleri (ok) görülüyor. 10X100. PAS.



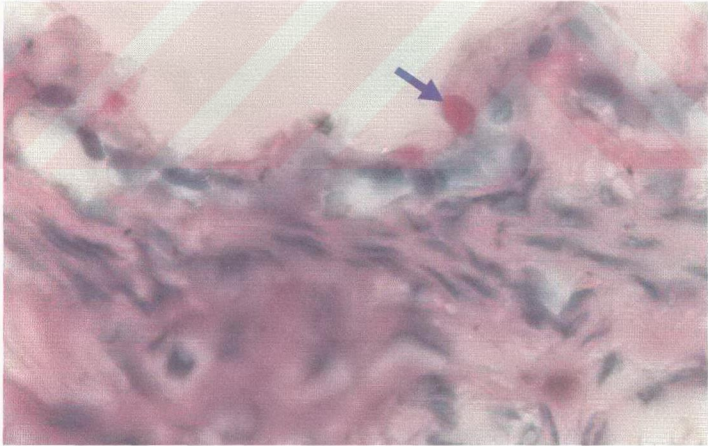
**Şekil 11c:** Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



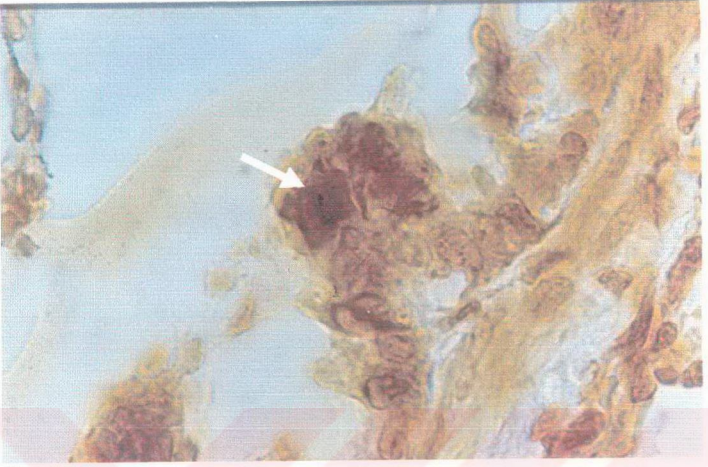
**Şekil 11d:** Hipoksiden 24 saat sonra yeni doğan (1hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



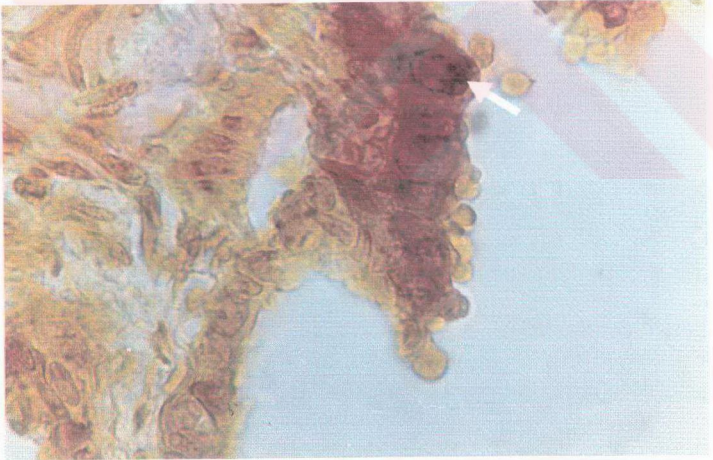
**Şekil 12a:** Hipoksiden 21 gün sonra yeni doğan (8hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde silli (kırmızı ok), goblet (mavi ok) hücreleri görülüyor. 10X100.H&E.



**Şekil 12b:** Hipoksiden 21gün sonra yeni doğan (8hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde PAS (+) boyanmış goblet (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. PAS.



**Şekil 12c:** Hipoksiden 21gün sonra yeni doğan (8hf'lık) sıçanda bronş respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.



**Şekil 12d:** Hipoksiden 21gün sonra yeni doğan (8hf'lık) sıçanda bronşiyol respiratuvar epitelinde DNES (ok) hücreleri görülüyor. 10X100. Grimelius'un gümüşlemesi.

## 5. TARTIŞMA

Akciğerlerin asıl fonksiyonu solunum olmakla beraber endokrin salgıları aracılığı ile metabolik olaylarda rolleri olduğu anlaşılmıştır. Kan basıncının ayarlanmasında görevi olan Anjiyotensin II'nin, akciğer kapiller endotelinden salınan “anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)” ile Anjiyotensin I'den sentezlenmesi en çarpıcı örnektir.

NEC'lerin genel sitokimyasal özellikleriyle ilgili olarak arjirofilik sitoplazma florojenik aminleri içerir, kurşunlu hematoksilin ile (+) boyanır ve maskelenmiş metakromazi görülür. Arjirofilik boyanma reaksiyonu NEC'ler için iyi bir belirleyicidir. Becker ve ark. (1980), çalışmalarında küçük bronş ve bronşiyolde lümenenden uzakta birkaç piramidal şekilde soliter NEC görmüşler ve arjirofilik boyanan görüntülerde ışık mikroskobu ile NEC'leri kolayca teşhis etmişlerdir. Biz de uyguladığımız Grimelius'un gümüşlemesiyle arjirofilik pulmoner NEC ve pulmoner NEB'leri gösterdik; bu hücrelerde Solcia'nın maskelenmiş metakromatik reaksiyonunu gördük. Bu boyamada mast hücrelerinin ve kıkırdak matriksinin metakromatik boyanma özelliği ölçü alındı.

Cutz ve ark. (1975), soliter NEC şeklini piramide benzetmişler ve basit prizmatik epiteldeki arjirofilik hücrelerin lümenle ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Psödostratifiye silli prizmatik epiteldeki, arjirofilik hücreler bazalde lokalizedir. Bazalde lokalize olan hücrelerin bazal sitoplazmalarında daha çok gümüş tanecikler kümelenmiştir. NEB'lerin morfolojileri bir tat tomurcuğuna benzemektedir. NEB'lerin hücreleri içindeki vakuollerde nöropeptidler bulunur. Lümendeki çevresel değişiklikler, diğer bazı hücrelere göre, endokrin veya parakrin fonksiyonları daha çok etkileyebilir.

Dalçık ve arkadaşları (1994) yeni doğan tavşan akciğerinde nöroendokrin hücreleri göstermek için Grimelius'un gümüş nitrat metodu, Azur II ve Metilen mavisi boyalarından yararlanmışlardır.

Psödostratifiye silli prizmatik epitelin bazalinde soliter NEC'ler görülmüş; bu hücrelerin bazal sitoplazmalarında boya birikintilerine sahip olduğu gözlenmiştir. Soliter NEC'lerin ise daha çok arjirofilik boyamaya sahip olduğu gözlenmiştir. NEB apeksi ince, bazalı geniş koniye benzetilmiştir; NEB'leri oluşturan hücrelerin apikal lümen ve bazal membran ile direk ilişki içinde bulunduğu gözlenmiştir. NEC ve NEB'lerin tarif edilen morfolojik özellikleri bizim kesitlerimizdekilerle benzemektedir. Biz de oval, üçgen ve piramidal biçimli pulmoner NEC'leri gözlemledik. Açık ve kapalı tipte arjirofilik boyanmış NEC'leri ayırt ettik. Genellikle oval ve üçgen biçimli olan pulmoner NEC'leri, kapalı tipte ve piramidal biçimli olanları ise açık tipte gözledik.

Fetal pulmoner NEC'leri ayırt etmekte kullanılan diğer bir metod PAS reaksiyonu olup bazı epitelyal hücreler içinde bol bulunan glikojenin pulmoner NEC'de de bulunduğu bildirilmiştir (Sorokin ve ark.,1982). Biz de bronş ve bronşiyol epitelinde goblet hücrelerinin apikal sitoplazmasını, bronşiyollerde klara hücrelerinin apikalindeki salgı granüllerini PAS (+) boyanmış olarak gözledik. Bronşiyollerde bulunan silindirik biçimli klara hücrelerinin apikali yuvarlaktır ve lümene doğru çıkıntı yapar; hücrenin apikal yönünde çok sayıda kısa mikrovilluslar olduğu, apikal sitoplazmada nötral glikoproteinleri içeren sekresyon granülleri ve bazal sitoplazmada organellerin yer aldığı bildirilmiştir. Sekresyon granülleri, guanylin denilen su ve elektrolit transportunun kontrolünü sağlayan bir peptit içermektedir (Fawcett ve Jensh, 2002). Ayrıca bu sekresyon granüllerinin sitokrom p 450 bağımlı hidroksilasyon reaksiyonlarıyla ksenobiyotik mekanizmalarda rol oynadığı bilinmektedir. Klara hücrelerinin görevi, içerdiği enzimler sayesinde solunum yollarına giren yabancı maddelerin detoksifikasyonunu sağlamaktır (İlhan, 1998). Bu hücrelerin sürfaktan oluşumunda katkısı olan bir salgı ürettiği ve rezerv hücreler olarak da işlev gördüğü düşünülmüştür. Yani bölünebilirler, faklılaşabilirler ve hasar gören diğer hücre tiplerinin yerini alabilirler (Young ve Heath, 2000)

Bundan başka solunum epitelinin bazalinde yer yer üçgenimsi PAS (+) boyanmış alanlar izledik; bu alanların kapalı tip pulmoner NEC olduğu düşünüldü.

Syrian golden hamsterlerinin normal erken gelişimleri boyunca fetal akciğerlerinin olgunlaşmış epitelyal hücreleri bol glikojen içerdiği bildirilmiştir (McDowell ve ark., 1985; Sarikas ve ark., 1985; McDowell ve ark., 1990; Ito ve Kanisawa, 1990).

Fetal akciğerlerin gelişiminde glikojenezisin, epitelyal farklılaşma ve olgunlaşma ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (Ito, Noguchi, Udaka, Kitamura, Satoh, 1999).

Hotchkiss (1948)'in Tripas (Periodic acid-schiff orange G) yöntemi hipofizdeki NEC'lerin gösterilmesinde kullanılmaktadır. Bu boyama yöntemiyle bazofil hücreler magenta (effatun) renkli, asidofil hücreler sarı ve kromofoblar soluk mavi-yeşil boyanmaktadır (Bancroft, 2002). Bu boyama yöntemiyle PULMONER NEC'lerin ayırt edilemediği gözlemlendi ancak alveol duvarında magenta renkli granüllü hücreler görüldü. Bu hücrelerin benzerleri alveol lümeninde izlendi ve bu hücrelerin fagositik makrofajlar olduğu anlaşıldı.

Silli hücreler iri nükleuslu ve soluk boyanan sitoplazmaya sahip silindirik hücrelerdir. H&E, PAS, Tripas, ve Solcia yöntemiyle boyanmış kesitlerimizde, apikal sitoplazmadaki siller tüm gruplarda açıkça gözlemlendi. Goblet hücreleri, mukus içeriğine göre daha yoğun boyanma gösterir (Young ve Heath, 2000). H&E, PAS, Tripas, ve Solcia ile goblet hücreleri, silli hücrelerden daha yoğun boyandı ve nükleusları sili hücrelerin nükleuslarından daha küçük ve daha bazalde yerleşimliydi. Xue ve arkadaşları (1996), in vivo çalışmalarda bNOS ve iNOS 'un bronşiyal epitelde eksprese olduğunu ve lokalize olduğunu rapor etmişlerdir. İmmunohistokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmalarla eNOS immunoreaktivitesinin silli epitelde bulunduğu doğrulanmış ve sillerin bazal mikrotübülleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Silsiz hücrelerde eNOS immunoreaktivitesi gözlenmemiştir. Tip 2 pnömositlerde de GER ve serbest ribozomlarda ilişkili olarak eNOS immunoreaktivitesi içermektedir. Bununla beraber akciğerlerde makrofajlar eNOS immunoreaktivitesinden yoksundur.

Araştırmacılar, eNOS'un postnatal sıçanlarda bronşiyal silli epitelin sillerine ait mikrotübüllerin bazal membranındaki lokalizasyonunun sillerin fonksiyonuyla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (Xue, 1996).

Epitelin altında *L. propria*'da yer alan mast hücreleri Solcia metoduyla metakromazi özelliğinden dolayı kolayca eflatun rengiyle ayırt edildi. Mast hücre granüllerinin histamin ve heparin glikoproteini içermektedir. Metakromatik reaksiyondan sorumlu olan heparindeki sülfatlı glikozaminoglikandır.

Omurgalıların akciğerlerinde pulmoner NEC'lerin morfolojisi gibi dağılımının da farklı olduğu anlaşılmıştır. Pulmoner NEC'ler, solunum epitelindeki dağılımına göre türler arasında farklı özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Memelilerde NEB'lerin sadece intra pulmoner hava yolları içinde bulunduğu bildirilmiş; postnatal akciğerler içinde küçük hava yollarında yalnız NEC ve NEB'lerin birlikte görüldüğü rapor edilmiştir. İnsan, maymun, kedi, köpek, kobay ve hamster'lerde NEC'lerin genellikle ekstrapulmoner hava yollarında yer aldığı, intapulmoner hava yollarında ise daha az olduğu bildirilmiştir; NEB'lerin ise özellikle intrapulmoner hava yollarında bulunduğu bildirilmiştir. Sıçan akciğerinde NEC'lerin küçük bronş ve bronşiyollerde sayıca daha fazla oldukları bildirilmiştir (Cutz, 1982). Bununla beraber hemen hemen çoğu omurgalı akciğerleri üzerinde yapılan çalışmaların sonucuna göre, NEB'lerin akciğerler için daha çok sayıda oldukları ve solunum ağacının dallanma bölgelerinde yer aldıkları rapor edilmiştir. Van Lommel ve Lauweryns (1999), tavşan akciğerlerinde bu dallanma bölgelerinde bol miktarda NEB'lere rastlamıştır. Benzer bulgular, at, kedi, köpek, hamster, sıçan ve fare akciğerlerinde de vardır.

Stahlman, Grey, Kasselberg (1985), yeni doğan insan akciğerinde parakrin salgı yapan hücreler olduğunu açıklamıştır. Ergin tavşan akciğerinde, fetal tavşan akciğerinin aksine NEC'lerin az olmasından dolayı gösterilmesinin oldukça zor olduğu bildirilmiştir (Gray ve Stahlman, 1984).

Başka bir kaynakta ise pulmoner NEC'lerin ergin insanda, bronşlarda ve nadiren bronşiyollerde bulunduğu bildirilmiş; spesifik fonksiyonları detaylı bilinmediği için artış veya azalmasıyla ilgili yorum yapılmamıştır (Colby ve ark., 1995; Sternberg, 1997). Diğer bir kaynakta bu hücrelerle az çalışıldığı ve ürünlerinin iyi bilinmediği ifade edilmiştir (Fawcett ve Jensh, 2002).

Yine bu konuyla ilgili olarak diğer bir kaynakta ise, amin ve peptid içeren nörosekretuar granüllere sahip, üçgen şekilli pulmoner NEC (Kulchitsky hücreleri)'nin bazal hücreler gibi kısa boylu olup lümene kadar ulaşamadıkları, bazal membranda yer aldıkları ve erişkin insanda, orta büyüklükteki bronşlarda daha çok görüldüğü bildirilmiştir (İlhan, 1998).

Biz de yeni doğan 1 haftalık ve 4 haftalık sıçanlarda bronş ve bronşiyollerde NEC ve NEB'lere, ama daha çok küçük hava yollarında özellikle bronşiyollerde NEB'lere rastladık. Bizim çalışmamızda, bir saat hipoksi uygulanan yeni doğan sıçanlarda bronşlara ait pulmoner NEC, uygulamadan 1 saat sonraki grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır; 2-3-4-24 saat ve 21 gün sonra istatistiki olarak anlamlı bir sayısal değişiklik göstermemiştir. Buna karşın bir saat hipoksi uygulanan yeni doğan sıçanlarda bronşiyollere ait pulmoner NEC sayısı, uygulamadan 1 ve 2 saat sonraki grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır; 3-4-24 saat ve 21 gün sonra istatistiki olarak anlamlı bir sayısal değişiklik göstermemiştir. Bu durum hipoksi sonrası akut etkilerin gözlenmesi şeklinde yorumlanabilir. Deney grubunda hipoksiden 1 saat sonra pulmoner NEC'ler bronşlarda azalırken, bronşiyollerde artarak hipoksiye karşı akut olarak reaksiyon vermiş olabilir. Yani pulmoner NEC'ler hava yollarında distale doğru sayısını artırmıştır. Ito (1999)'nun makalesinde, çocuklarda kronik hipoksi ve aktif rejenerasyon gibi etkenlerle oluşan bronkopulmoner displazide pulmoner NEC'lerin küçük hava yollarında artış gösterdiği, yine hipoksi nedeniyle oluşan asfiksidede pulmoner NEC'lerde artış olduğu; kronik hipoksi ve annenin sigara içmesi ve gelişme geriliği ile oluşan ani ölüm sendromunda bronşyoalveolar geçişte pulmoner NEC sayısında artış olduğu rapor edilmiştir.

Hücre hasarının en yaygın nedenlerinden birinin hipoksisi ve serbest radikal hasarı olduğu bilinmektedir (Fishback, 1999). Keith ve arkadaşları (1981), çalışmalarında akut ve kronik hipoksi ve normoksik yeni doğan tavşanların akciğerlerinde, arteriyal medial kalınlık ve 5-HT floresans şiddetiyle NEC sayılarını saptamışlardır. Hipoksik yeni doğan tavşanların pulmoner arter kalınlığının ve NEC sayılarının belirgin şekilde yüksek olduğu görülmüştür.

Biz pulmoner arter kalınlığını ölçmedik, fakat hipoksik yeni doğan akciğerinde NEC sayısındaki artış bizim bulgularımız ve incelemelerimizle paralellik göstermektedir.

Hernandez-Vasquez'in çalışmalarında, Feyrter (APUD) hücre sayılarının hipoksik tavşanlarda, normoksik tavşanlara göre anlamlı bir şekilde azaldığı ifade edilmiştir (Hernandez-Vasquez, 1977; Hernandez-Vasquez, 1978). Nitekim bizim çalışmamızda da hipoksiden 1 saat sonra sıçanlarda, büyük hava yollarında pulmoner NEC'ler azalmıştır. Sıçan akciğerinde pulmoner NEC'lerin merkezden çevreye doğru arttığı ifade edilmiştir (Ito, 1999). Bu bulgumuz Ito'nun ifadesiyle uyumludur.

Akut hipoksi, NEB'in intra korpusküler sinir sonlanmalarında epitelyal yoğun veziküllerin ekzositozunu uyarmaktadır. Bu olay, sinir sonlanmalarındaki sinaptik aktivitenin anlamlı olarak artışı sonucu, sinaptik veziküllerin tükenmesi şeklinde gerçekleşir (Lauveryns, 1982)

NEC'lerin fonksiyonları pulmoner vasküler veya bronşiyal cevabın nöro hormonal düzenlenmesi ve NEB'in intra pulmoner hipoksiye karşı kemoreseptör görevi olduğu bildirilmiştir (Cutz, 1982). Memelilerin üzerinde yapılan fizyolojik deneyler NEB'in hipoksiye duyarlı olduğunu (Lauweryns ve Van Lommel, 1986) ve oksijene duyarlı kemoreseptörler olduğunu öne sürmüşlerdir. Pulmoner NEC ilk olarak tanımlandığından beri bir kemoreseptör fonksiyon gördüğü bilinmektedir. İnerve olan hücre kümeleri, hipoksi durumunda, azalan oksijen miktarına cevap olarak pulmoner fonksiyonlarını düzenlerler (Gosney J. R., 1993).

Goniakowska-Witalinska ve arkadaşları (1992), Tiger salamander denilen kurbağa akciğer NEB'lerinin kısa mikrovilluslara ve sillere sahip olduğunu belirlemiştir. Goniakowska-Witalinska ve Cutz (1990), kurbağa akciğerlerindeki sinir sonlanmalarını göstermiştir. NEB ve soliter NEC'lerin rolü tam anlamıyla bilinmemekle beraber, sitoplazmadaki spesifik granülleri, anatomik lokalizasyonu, bu hücrelerin lokal kimyasal değişikliklere karşı duyu reseptörü olduğunu göstermektedir ve merkezi sinir sistemi tarafından idare edildiği bilinmektedir.

Solunum yolları epitelinde, düz kasta ve damarlarda substans P gibi taşıkininleri içeren sinir uçları dağılır. Bu sinir uçlarından salınan taşıkininler bronkokonstriksiyona, aşırı sekresyona ve kapiller gerginliğini artırarak o bölgede ödem oluşumuna yol açarlar. Bunlar nörojenik inflamasyon belirtileridir. Normalde epitel hücrelerinde bulunan nötral endopeptidaz (NEP) ve ACE, salıverilen taşıkininleri parçalayarak koruyucu bir görev üstlenmişlerdir. Epitel harabiyeti durumlarında, viral enfeksiyonlarda, sigara dumanı ve toluen diiosianat gibi kimyasal maddelerle NEP ve ACE aktivitesinin azaltıldığı durumlarda “ nörojenik iltihabi olay” ortaya çıkar.

Bir çok çalışmada, akciğerlerde pulmoner NEC'lerin rolü tam olarak ortaya konulamamıştır. Çoğu araştırmacı (Goniakowska-Witalinska , 1997; Reynold ve ark., 2000), pulmoner NEC'lerin akciğerlerin biyolojisinde parakrin/endokrin yolla önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bununla beraber, pulmoner NEC'lerin biyolojik fonksiyonlarını tanımlamak için gerekli ultrastrüktüel özellikler kadar, fizyolojik özellikleri de araştıran daha fazla deneysel kanıtı ihtiyaç vardır.

Van Lommel ve ark. (1999), araştırmaları sonucunda pulmoner NEC sisteminde oksijene duyarlı kemoreseptörle, lokal ve refleks aracılı düzenleyici fonksiyonlar olduğuna dikkati çekmiştir. Önemlerinden dolayı öne çıkan bulgular arasında hipoksik ve non-hipoksik uyarıların etkisi de yer almıştır. Pulmoner DNES'deki nöral komponentin duyuşal olduğuna dair kanıtlar, hücre farklılaşmasını sağlamasına dair deneysel kanıtlar ve pulmoner NEC'deki membranda spesifik oksijen reseptörünün bulunuşu önemle belirtilmiştir.

Van Lommel'in yaptığı diğer bir çalışmaya göre; fetal ve yeni doğan akciğerinde bulunan pulmoner NEC ve pulmoner NEB'lerin hipoksiye duyarlı kemoreseptör ve havayolu gelişiminin düzenleyicileri olarak en önemli yere sahip oldukları düşünülmektedir (Lommel, 2001). Bilindiği gibi havayollarında pek çok reseptör bulunur. Trakea ve bronşlarda bulunan reseptörlerden bir tanesi de NEB olarak kabul edilmektedir(Widdicombe, 2001). Günümüzde artık pulmoner NEB'lerin kemoreseptör olduğu bilinmektedir (Adriaensen, 2003).

NEC ve NEB'lerin genellikle merkezi bir lümen etrafında yer almış olmaları, iletici yoldan giren ve çıkan havayı en hızlı olarak algılayabilmeleri ve işlevlerini yerine getirebilmeleriyle ilgili olabileceği, yani sensör gibi iş gördükleri söylenebilir (Neuhuber, 2003).

Akciğerler, diğer organlara göre hipoksik zarara karşı oldukça dayanıklı olduklarından (Kumar ve ark., 2000), ışık mikroskopik düzeyde yaptığımız incelemelerde, solunum epitelinde yer alan diğer hücrelerde dikkati çeken önemli bir değişiklik saptanamadı. Bununla beraber pulmoner NEC'lerin hipoksiye karşı da kemoreseptör özellikleri nedeniyle, özellikle bronşiyollerde hipoksi sonrası akut dönemlerde (hipoksi sonrası 1 ve 2. saatlerde), sayısal artış bulundu.

Pulmoner NEC'lerin görevleri, solunum yolu düz kasının tonüsünü düzenlemek, akciğer kan dolaşımını kontrol etmek ve akciğerlerin metabolik fonksiyonlarını gerçekleştirmektir. Epitel hücreleri tarafından sentezlenen NO'nun yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyel ve antiviral etkisi vardır. Mukosiliyer transport mekanizmasının çalışmasında NO'nun rolü olduğu gösterilmiştir.Mukus içerisinde antiproteaz ve elastaz spesifik inhibitör vardır. Mukusun bu aktivitesi, epiteli proteaz salgılayan bakterilere karşı korur. Ayrıca mukus içerisinde defensinler ve baktenesinler gibi antibakteriyel etkili peptidler vardır. Tüm bu maddelerin antimikrobik etkisi ile mukus, solunum yolları enfeksiyonlarına karşı korumaya çalışır (Kumar ve ark., 2000).

Solunum yolu epitelinin diğ er önemli görevi de, l. propriadaki düz kas hücrelerinin salgıladığı endojen maddelerle ge  seterek solunum yollarını açık tutmaktır. Soluk havasıyla içeri giren iritan ve bronkokonstriktör maddelerin solunum yollarını daraltıcı etkilerine epitelden salgılanan bronkodilatör maddelerle karşı koymaya çalışır. Epitel kökenli düz kas ge  setici faktörler, prostaglandin, NO gibi solunum yolları düz kasını ge  seten maddelerin salıverdiği biliniyor. Bu ve bilinen bronkodilatör maddelerin antagonistleri ile yapılan çalışmalar, henüz bilinmeyen epitel kökenli faktörlerin de var olduklarını göstermiştir. Bron iyol astımda girilen bronkokonstriksiyonda öteki etkenler yanında “epitel kökenli düz kas ge  setici faktörler” salınmasındaki azalmanın da rolü olduğu bilinmektedir ( lhan, 1998; Kumar ve ark., 2000).

Pulmoner NEC granüllerinin içerdiği serotonin, bombesin, kalsitonin ve leu-enkefalin gibi peptit hormonlarının bronş, bronşiyol ve kan damarlarının duvarlarındaki düz kasların tonusunu düzenlediği düşünülmektedir (Young ve Heath, 2000). Bu sinyal moleküller, solunum yollarındaki sinir uçları ve onlara kom  u hücreleri etkiler, bu şekilde mukus salgılanması ve sillerin hareketlerini düzenlemeye yardım eder. Hava yolu duvarındaki düz kas hücrelerinin kasılması ve diğ er fonksiyonları etkiler (Alberts ve ark., 2001). Dolayısıyla hipoksi uygulanan sıçanların bron iyollerinde pulmoner NEC hücre sayısının artı ı bu mekanizmaların i letilmesiyle ilgili olduğu söylenebilir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

H&E, PAS ve Tripas boyalarıyla boyanan kesitlerimizde pulmoner NEC'ler ayırt edilememiştir. H&E ile akciğerlerin genel morfolojisi gözlenmiştir. PAS ile bronşlarda goblet hücreleri ve bronşiyollerde klara hücreleri (+) reaksiyon vermiştir. Tripas pulmoner NEC'leri gösterebilir mi düşüncesi ile uygulanmıştır fakat bu boya ile H&E gibi genel morfoloji ayırt edilebilmiştir.

Solcia'nın maskelenmiş metakromazi metoduyla, DNES'e ait pulmoner NEC'lerin koyu mavi-mor renkte reaksiyon verdiği gözlenmiştir; ancak Grimelius'a göre bu metotla pulmoner NEC ve pulmoner NEB'leri ayırt etmek daha zor olmuştur.

Kontrol grubunun ve hipoksi sonrası farklı zamanlarda sakrifiye edilmiş, hipoksi deney grubunun akciğer kesitlerinde, Grimelius'un gümüşleme yöntemiyle soliter ve gruplar pulmoner NEC'ler net bir şekilde gösterilmiştir. Bu yöntemle boyanmış kesitlerde DNES'e ait pulmoner NEC'ler sayıldı, ortalamaları alındı (çizelge 10).

Grimelius'un gümüşleme yöntemi ile yeni doğan 1 haftalık ve 4 haftalık sıçanlarda bronş ve bronşiyollerde NEC ve NEB'lere gözlemledik. Daha çok küçük hava yollarında, özellikle bronşiyollerde NEB'lere rastladık. Bir saat hipoksi uygulanan yeni doğan sıçanlarda bronşlara ait NEC sayısı, hipoksi uygulanmasından 1 saat sonraki deney grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır; kontrol grubuna göre hipoksiden sonra 2-3-4-24 saat ve 21 gün deney gruplarında pulmoner NEC sayısı, istatistiki olarak anlamlı bir sayısal değişiklik göstermemiştir (Şekil 3). Buna karşın bronşiyollere ait NEC sayısı, hipoksiden 1 ve 2 saat sonraki deney grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır; 3-4-24 saat ve 21 gün sonra istatistiki olarak anlamlı bir sayısal değişiklik göstermemiştir (Şekil 4). Bu durum hipoksi sonrası akut etkilerin gözlenmesi şeklinde yorumlanmıştır. Yani hipoksiden 1 saat sonra deney grubunda pulmoner NEC'ler bronşlarda azalırken, bronşiyollerde artarak kemoreseptör fonksiyon göstermiş olduğu düşünülmüştür. Daha sonraki geçen sürelerde pulmoner NEC'lerin sayısı, kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

## KAYNAKLAR

ADRIÆNSEN D., BROUNS I., GENECHTEN V.J. (2003). Functional morphology of pulmonary neuroepithelial bodies: Extremely complex airway receptors. *Anat. Rec. Jan.* ; 270A(1): 25-40.

ALBERTS B., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P. (2001). *Histology: The lives and deaths of cells in tissues. The airways and the gut. Molecular Biology of the cell* (4th ed). Garlandscience, Taylor and Francis Goup p. 1273-74.

ANDREW A., KRAMER B., RAWDON B.B. (1998). The origin of gut and pancreaticneuroendocrin (APUD) cells- the last word? *J. Pathol. Oct.* ; 186(2): 117-8.

ARMAS O.A., WHITE D.A., ARLANDSON R.A., ROSAI J. (1995). Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell proliferation presenting as interstitial lung disease. *Am. J. Surg. Pathol.* ; Aug. ; 19(8): 963-70.

AVADHANAM K.P., PLOPPER C.G., PINKERTON K.E. (1997). Mapping the distribution of neuroepithelial bodies of the rat lung. A whole-mount immunohistochemical approach. *Am. J. Pathol. Mar.* ; 150(3): 851-9.

BANCROFT J.D. (2002). Cytoplasmic granules ,organelles and neuroendocrine granules. Chapter: 17, The Hematoxylin and Eosin. Chapter: 8, Edited by: Bancroft JD and Stevens A: *Theory and Practice of Histological Techniques*. (4th ed). New York: Churchill Livingstone. p. 126, 361, 364.

BAYRAM F. (2004). <http://tip.erciyes.edu.tr/anabil/ichastaliklari/dersler.htm>. Karsinoid sendrom.

BECKER K.L., MONAGHAN K.G., SILVA O.L. (1980). Immunocytochemical localization of calcitonin in Kultchisky cells of human lungs. *Arch. Pathol. Lab. Med.* ;104: 196-198.

BOERS J.DEN BROK J., KOUDSTAAL J., AREDS J., THUNNISSEN F. (1996). Number and proliferation of neuroendocrine cells in normal human airway epithelium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*; 154: 758-763.

BISHOP A.E. (2004). Pulmonary epithelial stem cells. *Cell Prolif.* Feb. ; 37(1): 89-96.

BORGES M., LINOLLA R.I., VAN DE VELDE H. J.K, CHEN H., NELKIN B.D., MARBY M., BAYLIN S.B., BALL D.W. (1997). An achaete-scute homologue essential for neuroendocrine differentiation in the lung. *Nature* (Lond.) 386, 852-855.

BRADBURY P. and RAE KEN. (1996). Connective tissues and stains. Chapter: 7, Edited by: BANCROFT J. D. and STEVENS A.: *Theory and Practice of Histological Techniques*. (4th ed). New York: Churchill Livingstone.; p. 113-138.

CACECI T (2003). VM8054 Veterinary Histology Example: Alveolar Ducts. Copyright 1996-2003 All Rights Reserved Dept. of Biomedical Sciences & Pathobiology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA 24061-0442 With additional drawings by Dr. SAMIR EL-SHAFFEY. Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Egypt. (<http://education.vetmed.vt.edu/Curriculum/VM8054/Labs/labtoc.htm>).

COLLAZOS J., ESTEBAN C., FERNANDEZ A., GENOLLA J. (1994). Measurement of the serum tumor belirteç neuron-specific enolase in patients with benign pulmonary diseases. *Am. J. Respir. Crit. CareMed.* Jul. ; 150 (1): 143-5.

CUTTITA F., CARNEY D. N., MULSHINE J., MOODY T.W., FEDERKO J., FİSCHLER A., MİNNA J.D. (1985). Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. *Nature* Aug 29-Sep 4; 316(6031): 823-6.

CUTZ E., CHAN W., WONG V., CONEN P.E. (1975). Ultrastructure and fluorescence histochemistry of endocrine (APUD-type) cells in tracheal mucosa of human and various animal species. *Cell Tissue Res.* May 20; 158(4): 425-37.

CUTZ E. (1982). Neuroendocrine cells of the lung. An overview of morphologic characteristics and development. *Exp. Lung Res.* Nov. ; 3(3-4): 185-208.

CUTZ E. (1997). Cellular and molecular Biology of airway Chemoreceptors. The Hospital for sick children Toronto Ontario. 18 Tables.

CUTZ E., GİLLAN J.E., BRYAN A.C. (1985). Neuroendocrine cells in the developing human lung: morphologic and functional considerations. *Pediatr Pulmonol.* May-Jun. ; 1(3 Suppl): S21-9.

DALÇIK H. ŞEFTALİOĞLU A., DALÇIK C., et al. (1994). Identification of the solitary neuroendocrine cells and neuroepithelial bodies in the bronchopulmonary tract of the newborn rabbit lung. *Gazi Medical Journal* 5: 61-65.

DAY R., MICHEL S. (2002). The neuroendocrine phenotype, cellular plasticity, and the search for genetic switches: Redefining the diffuse neuroendocrine system *NEL* Oct. -Dec Vol. 23 No.5/6.

DEY R.D., HOFFPAUİR J.M. (1986). Ultrastructural colocalization of the bioactive mediators 5-hydroxytryptamine and bombesin in endocrine cells of human fetal airways. *Cell tissue Res.* ; 246(1): 119-24.

EMURA M., OCHIAI A., GOBERT-BOHLEN A., PANNING B., DUNGWORTH D.L. (1994). Neuroendocrine phenotype differentiation in a hamster lung epithelial cell line under low oxygen pressure or after transformation by diethylnitrosamine. *Toxicol Lett.* Jun. ; 72(1-3): 59-64.

EROSCENKO V.P. (2001). Solunum Sistemi. Chapter: 14, Çeviri Ed. : Ramazan Demir: Di Fiore Histoloji Atlası (9th ed). Ankara. 9. baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık. pp: 180-182.

FAWCETT D.W. and JENSH A. P. (2002). Respiratory System. Chapter: 17, Bloom and Fawcett' s Concise Histology . (2th ed) London: Newyork New Delhi. p. 225-235.

FISHBACK JL. (1999). Cell Injury. University of Kansas School of Medicine. <http://www.fsm.ac.fj/PWS/Resources/Pathology%20850.htm>

GANONG W.F. (1996). Sağlık ve hastalıkta solunumsal ayarlamalar. Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. Tıbbi Fizyoloji (17th ed), Ankara p. 839-849.

GARTNER LP and HIATT J. (2000). Respiratory System. Chapter: 12 Lippincott Williams and Wilkins. Color Atlas of Histology. (3th ed) Amerika p. 233-250.

GOSNEY J.R., SISSONS M.C. (1985). Widespread distribution of bronchopulmonary endocrine cells immunoreactive for calcitonin in the lung of the normal adult rat. *Thorax* Mar. ; 40(3): 194-8.

GONIAKAWSKA-WITALISKA, CUTZ E. (1990). Ultrastructure of neuroendocrine cells in the lungs of three anuran species. *J. Morphol.* 203: 1-9.

GONIAKAWSKA-WITALISKA, LAUWERYNS JM, ZACCCONE G. (1992). Ultrastructure and immunocytochemistry of the neuroepithelial bodies in the lung of the tiger salamander, *ambystoma, trigrinum* (urodela, amphibia). *An. Rec.*; 234: 419-431.

GONIAKAWSKA-WITALISKA (1997). Neuroepithelial bodies and soliter neuroendocrine cells in the lungs of amphibia. *Microscopy Research and Tecniqe*; 37: 13-30.

GOSNEY J. R. (1993). Pulmonary Neuroendocrine Cells in Species at Higy Altitude. *The anatomicalrecord* 236: 105-107.

GRAY T. (1996). Quantitation in histopathology. Chapter: 30, Edited by: Bancroft JD and Stevens A: *Theory and Practice of Histological Techniques*. (4th ed). New York: Churchill Livingstone.; p. 641-671.

GRAY E.M., STAHLMAN T.M. (1984). Ontogeny of neuroendocrine cells in human fetal lung. *Lab Invest*: 51( 4): 449-456.

GÜRSOY E., KOPTAGEL E. (1997). Solunum Sisteminin Gelişimi. Embriyoloji Atlası. (1th ed). İstanbul Esnaf Matbaacılık p.132-133.

HEATH D., SMITH P., GOSNEY J., MULCAHY D., FOX K., YACOUN M., HARRIS P. (1987). The pathology of the early and late stagesof primary pulmonary hypertension. *Br. Heart. J*; 58: 204-213.

HEATH D., WILIAMS D., RIOS-DALENZ J. (1990). Small pulmonary arterial vessels of Aymara Indians from the Bolivian Andes. *Histopathology*. Jun. 16(6): 565-71.

HERNANDEZ-VASQUEZ A., WILL J.A., QUAY W.B. (1977). Quantitative characteristics of the Feyrter (APUD) cells of the yenidoğan rabbit lung in normoxia and chronic hypoxia. *Thorax*. Aug. ; 32(4): 449-56.

HERNANDEZ-VASQUEZ A., WILL J.A., QUAY W.B. (1978). Quantitative characteristics of the Feyrter cells and neuroepithelial bodies of the fetal rabbit lung in normoxia and short term chronic hypoxia. *Cell Tissue Res.* May 18; 189(1): 179-86.

IJSSELSTIJN H., PERRIN D.G., DE JONGSTE J.C., CUTZ E., TIBBOEL D. J. (1995). Pulmonary neuroendocrine cells in yenidoğan rats with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr. Surg.* Mar; 30(3): 413-5.

IJSSELSTIJN H., GAILGARD J.L., DE JONGSTE J.C., TIBBOEL D. J., CUTZ E. (1997) Abnormal expression of pulmonary bombesin-like peptide immunostaining cells in infants with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr. Res.* Nov. ; 42(5): 715-20.

İLHAN M. (1998). KOAH ile ilgili patolojik değişiklikler. *Bilim ve Teknik*. Mart.

ITO T., KANISAWA M. (1990). Endocrine cells and brush cells at the bronchiolo-alveolar junctions of yenidoğan Syrian hamster lungs. *J. Morphol.* Nov. ; 206(2): 217-23.

ITO T., NAKATANİ Y., NAGAHARA N., OGAWA T., SHIBAGAKİ T., KANISAWA M. (1987). Quantitative study of pulmonary endocrine cells in anencephaly. *Lung.* ; 165(5): 297-304.

ITO T., KITAMURA H., INAYAMA Y., NOZAWA A., KANISAWA M. (1992). Uptake and intracellular transport of cationic ferritin in the bronchiolar and alveolar epithelia of the rat. *Cell Tissue Res.* May; 268(2): 335-40.

ITO T., NOGAWA H., UDAKA N., KİTAMURA H., KANİSAWA M. (1997). Development of pulmonary neuroendocrine cells of fetal hamster in explant culture. *Lab. Invest. Nov.* ; 77(5): 449-57.

ITO T. (1999). Differentiation and proliferation of pulmonary neuroendocrine cells. *Prog. Histochem. Cytochem.* ; 34(4): 247-322.

ITO T., UDAKA N., KAWANO N., NOGAWA H., KİTAMURA H. (1999). Ontogeny of pulmonary neuroendocrine cells which express the alpha-subunit of guanine nucleotide-binding protein Go. *Histochem Cell Biol.* Apr.,111(4): 289-95.

ITO T., NOGUCHİ Y., UDAKA N., KİTAMURA H., SATOH S. (1999). Glucose transporter expression in developing fetal lungs and lung neoplasms. *Histol Histopathol.* Jul; 14 (3): 895-904.

ITO T., UDAKA N., OKUDELA K., YAZAWA T., KİTAMURA H. (2003). Mechanisms of neuroendocrine differentiation in pulmonary neuroendocrine cells and small cell carcinoma.. *Endocr. Pathol. Summer*, 14(2): 133-9:289-95.

JUNQUERA L. C and CARNEIRO J. (2003). Basic Histology Text and Atlas. Tenth Ed. Lenge Medical Books Mc Graw-Hill.

KALAYCI ŞERMİN. (1986). Histoloji- Solunum Sistemi pp. 414-435 Uludağ Üniv. Basımevi.

KEITH I. M., WILL J. A. (1982). Dynamics of the neuroendocrine cell--regulatory peptide system in the lung. Specific overview and new results. *Exp. Lung Res.* Nov. ; 3(3-4): 387-402.

KEITH I. M., WILL J. A. (1981). Hypoxia and the yenidoğan rabbit lung: neuroendocrine cell numbers, 5-HT fluorescence intensity, and the relationship to arterial thickness *Thorax* Oct. ; 36(10): 767-73.

KEITH I. M., WILEY L. A., WILL J. A. (1981). Pulmonary neuroendocrine cells: decreased serotonin fluorescence and stable argyrophil-cell numbers in acute hypoxia. *Cell Tissue Res.*; 214(1): 201-5.

KING K., TORDAY J., SUNDAY M. (1995). Bombesin and (Leu<sup>8</sup>) phyllolitorin promote fetal mouse lung branching morphogenesis via a receptor- mediated mechanism. *Develop. Biol.* ; 92: 4357-4361.

KON Y., ENDOH D., YAMASHITA T. (1998). Expression of renin in the rat liver. *Anat. Histologia Embryologia*; 27 (2), 111-118.

KULKE M. H., MAYER R. J. (1999). Carcinoid Tumors. *N. Engl.J. Med.* ; Mar. 18, 340(11): 858-68.

KUMAR V., COTRAN R., ROBİNS S. (2000). Akut ve kronik inflamasyon. Chapter: 2, Çeviri editörü: Uğur Çevikbaş: Basic Pathology. Copyright W.B. Saunders. Temel Patoloji. (6th ed). İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti p.39

LAUWERYNS J. M., LOMMEL A. V. (1982). Morphometric analysis of hypoxia-induced synaptic activity in intrapulmonary neuroepithelial bodies. *Cell Tissue Res.* 226(1): 201-14.

LAUWERYNS J. M., VAN RANST L., VERHOFSTAD A. A. (1986). Ultrastructural localization of serotonin in the intrapulmonary neuroepithelial bodies of neonatal rabbits by use of immunoelectron microscopy. *Cell Tissue Res.* 243(3): 455-9.

LAARHOVEN H., GRATAMA S., WERELDSMA J. C. J. (1991). Neuroendocrine carcinoid tumours of the breast: A variant of carcinoma with neuroendocrin differentiation. *J. Surg. Onco. I*; 46: 125-132.

LİNNOİLA R. I. (1982). Effects of diethylnitrosamine on lung neuroendocrine cells. *Exp. Lung Res.* Nov. ; 3(3-4): 225-36.

LOMMEL A. V., BOLLE T., FANNES W., LAUWERYNS J. M. (1999). The pulmonary neuroendocrine system: the past decade. *Arch. Histol. Cytol.* Mar.; 62(1): 1-16.

LOMMEL A. V. (2001). Pulmonary neuroendocrine cells (PNEC) and Neuroepithelial bodies (NEB): Chemoreceptors and regulators of lung development. *Pediatr. Res. Rev.* Jun; 2(2): 171-6.

MANESSE M., DELVERDIER M., ABELLA-BOURGESS N. (1998). An immunohistochemical study of bovine palatine and pharyngeal tonsils at 21, 60 and 300 days of age. *Anat. Histologia Embryologia*; 27 (3), 179-185.

MEMİŞ L. (2004): Akciğerin nöroendokrin tümörleri. Gazi Tıp Fak. Patoloji A. B. D. Ders notları. <http://www.ankarapatoloji.org.tr/sub/dersnero.asp>

McBRIDE J. T., SPRINGALL DR. ; WINTER R. J. (1990). Quantitative immunocytochemistry shows calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in lung neuroendocrine cells is increased by chronic hypoxia in the rat. *Am J Respir Cell Mol. Biol.* Dec. ; 3(6): 587-93.

MCDOWELL E. M., NEWKIRK C., COLEMAN B. (1985). Development of hamster tracheal epithelium: I. A quantitative morphologic study in the fetus. *Anat. Rec.* Nov. ; 213(3): 429-47.

MCDOWELL E. M., COLEMAN W. P., DE SANTI A. M., NEWKIRK C., STRUM J. M. (1990). Development of the conducting airway epithelium in fetal Syrian golden hamsters during normal and diabetic pregnancies. *Anat. Rec.* May. ; 227(1): 111-23.

MCDOWELL E. M., HOYT R. F. J. R., SOROKIN S. P. (1994). Ontogeny of endocrine cells in the respiratory system of Syrian golden hamsters. II. Intrapulmonary airways and alveoli. *Cell Tissue Res. Jan.* ; 275(1): 157-67.

MODLİN I. M., SANDOR A. (1997). An analysis of 8305 cases of carcinoids of tumours. *Cancer*; 79(4): 813-29.

MOORE, K. L. and PERSAUD, T. V. N. (2002). Bölüm 11: Solunum Sistemi In: *İnsan Embriyolojisi*, 6. baskıdan çeviri, Çeviri Ed.: M. YILDIRIM, İ. OKAR, H. DALÇIK. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. pp: 257-269.

MURASATO Y., HIRAKAWA H., HARADA Y. (1998). Effects of systemic hypoxia on R-R interval and blood pressure variabilities in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 275:H797-H80,

NESLAND J. M., MEMOLI V. A., HOLM R., GOULD V. E., JOHANNESSEN J. V. (1985). Breast carcinomas with neuroendocrine differentiation. *Ultrastruc. Pathol.*; 8: 225-240.

NEUHUBER W. L. (2003). Perspective. Lung sensors. Complex functions require complex structures. *American Journal of Respiratory cell and Molecular Biology*, 28: 265-266.

PEARSALL A. D., HOYT R. F. J. R., SOROKIN S. P. (1985). Three-dimensional reconstruction of a small-granule paracrine cell cluster in an adult hamster bronchus. *Anat. Rec. Jun.* ; 212(2): 132-42, 156-7.

PEARSE A. G., TAKOR T. (1979). Embryology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. *Fed. Proc.* Aug; 38(9): 2288-94.

RISBERG B., SMITH L., ÖRTENWALL P. (1991). Oxygen radicals and lung injury. *Acta Anaesthesiol Scand*, supplementum 95: 106-118.

SARIKAS S. N., HOYT R. F. J. R., SOROKIN S. P. (1985). Ontogeny of small-granule APUD cells in hamster lung: a morphological study. *Anat. Rec.* Nov; 213(3): 396-409.

SELDESLAGH K.A., LUWERYNS J.M. (1997). NCAM expression in the pulmonary neural and diffuse neuroendocrine cell system. *Microsc. Res. Tech. Apr.* 1;37(1):69-76.

SHENBERGER J., SHEW R., JOHNSON D. (1997). Hyperoxia-induced airway remodeling and pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia in the weanling rat. *Pediatr. Res.* ;42: 539-544.

SIDHU G. S. (1979). The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells. Histopathologic evidence and a review of the literature. *Am. J. Pathol.* Jul. ; 96(1): 5-20.

SOROKIN S. P., HOYT R. F. J. R., GRANT M. M. (1982). Development of neuroepithelial bodies in fetal rabbit lungs. I. Appearance and functional maturation as demonstrated by high-resolution light microscopy and formaldehyde-induced fluorescence. *Exp Lung Res.* Nov. ;3(3-4): 237-59.

SPINDEL E. R., SUNDAY M. E., HOFER H., WOLFE H. J., HABENER J. F., CHIN W. W. (1987). Transient elevation of messenger RNA encoding gastrin-releasing peptide, a putative pulmonary growth factor in human fetal lung. *J. Clin. Invest.* Oct. ;80(4): 1172-9

STAHLMAN M., GREY M. E., KASSELBERG A. G. (1985). Immunoreactive bombesin and calcitonin paracrine cells of human fetal and newborn airways. *Pediatr Pulmonol.* May-Jun. ;1(3 Suppl): S6-12.

STAHLMAN M., KASSELBERG A. G., ORTH D. N., GRAY M. E. (1985). Ontogeny of neuroendocrine cells in human fetal lung. II. An immunohistochemical study. *Lab. Invest.* Jan. ;52(1): 52-60.

STERNBERG S. S. (1997). Lungs. Chapter: 18, Endocrine System, Neuroendocrine System, Chapter 49. *Histology for Pathologists.* (2th ed). New York: Lippincott-Raven. p. 435,1133

STEVENS A. and WILSON I. G. (1996). Chapter 6: The haematoxylin and eosin. *Theory and Practice of Histological Techniques.* fourth ed. Ed.: J.D. BANCROFT and A. STEVENS New York: Churchill Livingstone.; p. 99-112.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI AÇS-AP GENEL MÜDÜRLÜĞÜ (2000). Üçüncü bin yıla başlarken anne ve çocukların durumu.

TEXIER P. L., DE KEYZER Y., LACAVE R., VIEAU D., LENNE F., ROJAS-MIRANDA A., VERLEY J. M., LUTON J. P., KAHN A., BERTAGNA X. (1991). Proopiomelanocortin gene expression in normal and tumoral human lung. *J Clin. Endocrinol. Metab.* Aug. ;73(2): 414-20.

WANG Y. Y., CUTZ E. (1993). Localization of cholecystokinin-like peptide in neuroendocrine cells of mammalian lungs: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *Anat. Rec.* May; 236(1): 198-205

WANG D., YEGER H., CUTZ E. (1996). Expression of gastrin-releasing peptide receptor gene in developing lung. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* May; 14(5): 409-16.

WILL J. A. (1982). Neuroendocrine and metabolic factors in pulmonary circulatory control. *Adv. Shock. Res.*; 8: 13-20.

WIDDICOMBE J. (2001). Airway receptors. *Respir. physiol.* Mar; 125(1-2): 3-15.

WILL J. A. (1982). Neuroendocrine and metabolic factors in pulmonary circulatory control. *Adv. Shock. Res.* ; 8: 13-20.

WILSON O. G. and CHALK B. T.. (1996). The neuroendocrin system. Chapter: 13, Edited by: Bancroft JD and Stevens A: *Theory and Practice of Histological Techniques*. (4th ed). New York: Churchill Livingstone.; p.269-289.

XUE C, BOTKIN S. J., JOHNS R. A. (1996). Localization of endothelial NOS at the basal microtubule membrane in ciliated epithelium of rat lung. *J. Histochem. Cytochem.* May; 44(5): 463-71.

YAMAMOTO Y., KUSEKABE T., HAYASHIDA Y. (2000). Laryngeal endocrine cells: topographic distribution and adaptation to chronic hypercapnic hypoxia. *Histochemistry and cell Biology*. Vol.114(4): 277-282.

YAVRU N. ve YAVRU S. (1996). Deney Hayvanları. Selçuk Üniversitesi, Veteriner fakültesi Yayın Ünitesi, Konya. ISBN: 975-448-116-4

YOUNGSON C., NURSE C., YEGER H., CUTZ E. (1993). Oxygen sensing in airway chemoreceptors. *Nature*; 365: 153-155

YOUNG B. and HEATH J. W. (2000). Respiratory System. Chapter: 12, Weather' s Functional Histology A Text and Colour Atlas. (4th ed). Churchill Livingstone Edinburg London New York Philadelphia St Louis Sydney Toronto. p. 222-236

ZACCONE G., GONIAKOWSKA-WITALINSKA L., LAUWERYNS J. M., FASULO S., TAGLIAFIERRO G. (1989). Fine structure and serotonin immunohistochemistry of the neuroendocrine cells in the lungs of the bichirs *Polypertus delhezi* and *P. ornatipinnis*. *Basic Appl. Histochem.* ;33(4): 277-87.

## ÖZGEÇMİŞ

PELİN COŞTUR, 1977 yılında Ankara’ da doğdu. İlk, orta, lise tahsilini İzmit’te tamamladı.

1995-1999 yılları arasında Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimini tamamladı.

2001 yılında Kocaeli Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı.

Halen bu anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.