

## Deneysel Araştırma

# Ratlarda Alfa-Naftiltiyöre ile Oluşturulmuş Pulmoner Toksikite Üzerine Ellajik Asidin Protaktif Etkisinin Araştırılması

Mehmet DEMİR<sup>1,a</sup>, Ümit YILMAZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, Ellajik asit (EA)'nın alfa-naftiltiyöre (ANTU) kaynaklı pulmoner toksisite üzerine muhtemel koruyucu etkilerini belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Kontrol grubuna 9 gün boyunca serum fizyolojik, sham grubuna ise 9. gün tek doz intraperitoneal (i.p.) ANTU çözücüsü (zeytin yağı) verildi. ANTU grubuna çalışmanın 9. günü ANTU (10 mg/kg-i.p.) tek doz enjekte edildi. ANTU+EA grubuna çalışmanın ilk gününden itibaren 9 gün boyunca EA (10 mg/kg-i.p.) uygulandı. Tüm gruplardaki sıçanların efüzyon sıvı seviyeleri, akciğer ve vücut ağırlıkları, zorunlu yüzdürme testi skorları kaydedildi.

**Bulgular:** ANTU grubu ile ANTU uygulanmayan gruplar karşılaştırıldığında Plevral Efüzyon (PE), Akciğer ağırlığı (AA), AA/Vücut Ağırlığı (AA/VA) ve PE/VA bakımından anlamlı farklar ( $p < 0,001$ ) bulunmuştur. EA (ANTU+EA) verilen ratların PE, AA, PE/VA ve AA/VA değerlerinde ANTU grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $p < 0,001$ ) olduğu gözlemlendi. Ayrıca ANTU grubundaki ratların zorunlu yüzdürme test sürelerinde kontrol ve sham grubundaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $p < 0,001$ ) bulundu. Ayrıca ANTU+EA grubundaki ratların zorunlu yüzdürme testi puanlarında ANTU grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ( $p < 0,001$ ) olduğu kanıtlandı.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlar EA takviyesinin ANTU toksisitesi sonucu gelişen ödem ve efüzyonu baskılayarak azalan akciğer ventilasyon kapasitesini arttırdığını göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Pulmoner Toksikite, Plevral Efüzyon, Alfa-Naftiltiyöre, Ellajik Asit, Sıçan.

### ABSTRACT

#### Investigation of the Protective Effect of Ellagic Acid on Alpha-Naphthylthiourea-Induced Pulmonary Toxicity in Rats

**Objective:** The aim of this study was to determine the possible protective effects of Ellagic acid (EA) on alpha-naphthylthiourea (ANTU)-induced pulmonary toxicity.

**Material and Method:** The control group was given normal saline for 9 days, and the sham group was given a single intraperitoneal (i.p.) ANTU solvent (olive oil) on the 9th day. The ANTU group was injected with a single dose of ANTU (10 mg/kg-i.p.) on the 9th day of the study. The ANTU+EA group was injected with EA (10 mg/kg-i.p.) for 9 days. The volume of effusion fluid, lung and body weights, and forced swimming test scores of rats in all groups were recorded.

**Results:** When the ANTU group was compared with the groups without ANTU, significant differences ( $p < 0,001$ ) were found in terms of Pleural Effusion (PE), Lung weight (AA), AA/Body Weight (AA/VA) and PE/VA.

It was observed that a statistically significant decrease ( $p < 0,001$ ) was found in the PE, AA, PE/VA, and AA/VA values of rats supplemented with EA (ANTU+EA) compared to the ANTU group. Also, a statistically significant decrease ( $p < 0,001$ ) was found in the forced swimming test times of the rats in the ANTU group compared to the rats in the control and sham groups. Moreover, it was evidenced that a statistically significant increase ( $p < 0,001$ ) was observed in the forced swimming test scores of the rats in the ANTU+EA group compared to those in the ANTU group.

**Conclusion:** Data show that EA supplementation increases lung ventilation capacity by suppressing edema and effusion resulting from ANTU toxicity.

**Keywords:** Pulmonary Toxicity, Pleural Effusion, Alpha-Naphthylthiourea, Ellagic Acid, Rat.

**Bu makale atıfta nasıl kullanılır:** Demir M, Yılmaz Ü. Ratlarda Alfa-Naftiltiyöre ile Oluşturulmuş Pulmoner Toksikite Üzerine Ellajik Asidin Protaktif Etkisinin Araştırılması. Firat Tıp Dergisi 2023; 28(3): 164-169.

**How to cite this article:** Demir M, Yılmaz U. Investigation of the Protective Effect of Ellagic Acid on Alpha-Naphthylthiourea-Induced Pulmonary Toxicity in Rats. Firat Med J 2023; 28(3): 164-169.

**ORCID IDs:** M.D. 0000-0001-6990-3337, Ü.Y. 0000-0003-0248-3483.

**P**ulmoner ödem, pulmoner dolaşım ve akciğer inters-tisyumu boyunca hidrostatik ve onkotik basınç gradyanlarındaki değişiklik veya artan akciğer geçirgenliği ile karakterize bir durumdur (1). Çoğunlukla akut solunum yetmezliğine yol açan pulmoner ödem, kardiyojenik veya kardiyojenik olmayan olarak sınıflandırılabilir. Pulmoner kapiller hidrostatik basınç, plazma onkotik basıncını aştığında kardiyojenik pulmoner ödem

oluşmaktadır (2). Kan ozmotik basıncının azalması, bazal membranın geçirgenliğinin artması ve bozulmuş lenfatik drenaj ise kardiyojenik olmayan pulmoner ödemi işaret etmektedir (3). Pulmoner ödem, plevral efüzyon miktarı ile yakından ilişkilidir (4).

Plevral efüzyonlar, artan geçirgenlik, aksamış lenfatik drenaj ve değişen hidrostatik veya kolloid ozmotik basınçtan kaynaklanmaktadır (5). Pulmoner ödem

<sup>a</sup>Yazışma Adresi: Mehmet DEMİR, Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

Tel: 0542 188 7844

Geliş Tarihi/Received: 05.01.2023

e-mail: mehmetdemir@karabuk.edu.tr

Kabul Tarihi/Accepted: 20.07.2023

sırasında plevral efüzyon oluşumu, alveolar taşkınımın çözülmesinde önemli bir fizyolojik mekanizmadır (6). Plevral efüzyon, öncelikli olarak pulmoner kökenli bir patolojik sürecin göstergesi olmakla birlikte (7, 8) konjestif kalp yetmezliği, enfeksiyon veya kanser gibi ilgisiz nedenlerden kaynaklı olarak da ortaya çıkabilir. Akciğer hasarı mekanizmalarını araştırmak için deneysel akciğer hasarı çalışmalarında farklı hayvan modelleri kullanılmaktadır (9).

Alfa-naftiltiyöre (ANTU), sıçanlarda doza bağlı olarak pulmoner ödem ve plevral efüzyona neden olan pnömotoksik bir maddedir (10). ANTU kaynaklı pnömotoksiste özellikle kapiller endotel hücreleri hedef alarak ve pulmoner vasküler geçirgenlik artışına yol açarak kendisini göstermektedir (11). Sıçanlara uygun dozlarda ANTU verilmesi sonucunda 4 saat içinde akciğerlerde ciddi düzeyde sıvı birikimi ile akciğer hacim ve ağırlık değerlerinde ciddi artışlar gözlemlenmektedir (12). ANTU uygulaması sonrasında sıçanların kalıcı akciğer hasarına uğramadan 1-2 gün içerisinde tamamen iyileştikleri veya bu durumu tolere edemeyip öldükleri gözlenmektedir (13). Çok kısa süre içerisinde gözlemlenen bu bulgular ANTU'yu sıçanlarda deneysel akciğer ödemi ve akciğer perfüzyonu oluşturmak için tercih edilen bir model haline getirmiştir.

Ellajik asit (EA) ahududu, çilek ve nar gibi üzüksü taze meyveler ile ceviz, kestane, fındık gibi kabuklu meyvelerin yapısında bulunan antioksidan özellikte bir fitokimyasal polifenol bileşiktir (14). EA'nın antioksidan, antimutajenik, antikanser ve anti-apoptotik etkileri üzerinde yoğun olarak araştırma yapılmaktadır. Serumda kansere sebep olan kimyasalları temizlediği, kanserojenlerin DNA'ya bağlanmasını önlediği, antioksidan görevi gördüğü, karbon tetraklorür toksisitesini sınırladığı, immün sistemi uyardığı ve kanser hücrelerini yok ettiği belirlenmiştir (15). Hücre kültürü araştırmaları ve yapılan hayvan deneylerinde EA'nın kanserojenlerin neden olduğu bazı tümörlerin gelişmelerini yavaşlattığı görülmüştür (16).

EA'nın akciğer üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmalarda; intestinal iskemi-reperfüzyon sonrası gelişen akciğer hasarına karşı koruduğu bleomisin ile indüklenmiş akciğer fibrozunu hafiflettiği elastaz ile oluşturulmuş amfizem modelinde akciğer inflamasyonunu ve oksidatif hasarı azalttığı, akut akciğer hasarında anti-inflamatuar etkiler gösterdiği belirlenmiştir (17). Ayrıca EA alerjik hava yolu iltihabının çözülmesini hızlandıran potansiyel bir terapötik ajan olarak tanımlanmıştır (18).

Bu çalışmanın amacı, EA'nın ANTU kaynaklı pulmoner toksisite üzerine muhtemel etkilerini gözlemlemektir. Bunun için ANTU ile pulmoner toksisite oluşturulmuş ve oluşturulmamış gruplardaki sıçanların göğüs efüzyon sıvı miktarları, akciğer ağırlık değerleri karşılaştırıldı. Ayrıca EA'nın bu patolojideki muhtemel protektif etkisi çalışma sonlandırılmadan önceki yapılan zorunlu yüzdürme testi skorları ile değerlendirildi.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hayvan bakımı

Çalışmamız için etik kurul onayı Karabük Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmış olup (04/10/2022 tarih ve 2022/09/14 Nolu Kararı), Karabük Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Çalışmada kırk adet Wistar albino cinsi erkek sıçan (250-300 gr, 8-10 haftalık), her biri on adet sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı (n =10). Tüm sıçanlar kontrollü çevre koşullarında (12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü, sıcaklık 23°C, nem oranı %55, havalandırma, ad libitum yiyecek ve su) barındırıldı. Hayvanların bakımı ve tüm uygulamalar Karabük Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

### Deneysel prosedür

Çalışmadaki hayvan grupları ve yapılan işlemler aşağıda belirtilmiştir.

**1- Kontrol Grubu:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden itibaren 9 gün boyunca EA çözücüsü (normal salin; % 0.9 NaCl) intraperitoneal (i.p.) olarak EA hacminde verildi.

**2- Sham kontrol:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 9. günü tek doz i.p. ANTU çözücüsü (zeytinyağı), ANTU dozu hacminde verildi.

**3- ANTU Grubu:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden itibaren 9 gün boyunca serum fizyolojik (EA çözücüsü) uygulandı. Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 9. günü zeytinyağında (4 mg/ml) süspanse edilmiş 10 mg/kg dozda ANTU i.p. olarak tek doz enjekte edildi (19).

**4- ANTU+EA Grubu:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden itibaren 9 gün boyunca serum fizyolojik içinde çözülmüş EA (10 mg/kg-i.p.) uygulandı (20). Yine bu gruptaki sıçanlara çalışmanın 9. günü ANTU enjeksiyonu yapıldı.

### Deneysel Pulmoner Toksikite Oluşturulması

ANTU enjeksiyonu yapılan sıçanlarda 4 saat içinde ciddi düzeyde pulmoner toksisite ve akciğer hasarı gözlemlenmektedir (19). Bu hasar neticesinde Plevral Efüzyon (PE) oluşumu, Akciğer Ağırlığı/Vücut Ağırlığı (AA/VA) ve Plevral Efüzyon (PE)/Vücut Ağırlığı (PE/VA) oranlarında ciddi artışlar saptanmaktadır (21). ANTU enjeksiyonundan 4 saat sonra sıçanlara yüzdürme egzersizleri yaptırıldı. Yüzdürme egzersizleri yaptırdıktan sonra anestezi (intraperitoneal (i.p.) ketamin/ksilazin (100 mg/kg ve 5 mg/kg)), altına alınan sıçanların abdominal aortasın kanatıldı (22). Çevre dokularında kanama olmayacak şekilde göğüs boşluğu hassas bir şekilde açıldı. Efüzyon sıvısına kan karışmamasına dikkat edilerek plevral aralıkta birikmiş olan efüzyon sıvısı enjektörle çekildi. Daha sonra çevre dokulardan temizlenmiş ve izole edilmiş akciğerlerin ağırlıkları tartılarak kaydedildi (23). PE sıvısının miktarı, AA/VA ve PE/VA oranları hesaplandı ve akciğer

hasarı göstergeleri olarak değerlendirildi (21). Oransal değer kıyaslama kolaylığı için  $10^4$  ile çarpılmıştır.

### Zorunlu Yüzme Testi

Zorunlu yüzme testi, hayvan deneylerinde yorgunluk davranışını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (24). Deneysel olarak oluşturduğumuz pulmoner ödem ve efüzyon, sıçanların akciğerlerinin oksijenasyon kapasitesinde ve akciğer kompliyansında azalma sonucu yorgunluğa ve solunum yetersizliğine yol açmaktadır. Sıçanlar üzerinde uygulayacağımız zorunlu yüzme testi, oluşturduğumuz patoloji ve bu patoloji üzerinde muhtemel olumlu etkisi olduğunu düşündüğümüz EA'nın etkisini değerlendirme imkanı sağlayacaktır.

Deney gününden 1 gün önce sıçanlar havuza alışmaları için 15 dk. serbest yüzmeye bırakıldı, kurutulup kafeslerine geri koyuldu (25). Deneyin 9. günü (ANTU enjeksiyonundan 4 saat sonra) sıçanlar anestezi altına alınıp dekapite edilmeden önce oda sıcaklığında su ile doldurulmuş akrilik plastik bir havuzda (90cm×45 cm×45 cm) zorunlu yüzme testi yapıldı. Suyun derinliğinin hayvanların kuyruklarıyla zeminin dibine temas etmelerini engelleyecek kadar olması yeterliydi (26). Yüzme periyodu, suda yüzen sıçanların gücünü tüketene kadar mücadele ederek ve gerekli hareketleri yaparak geçirdikleri süre olarak kabul edildi. Yoruca yüzme süresinin sonlandırılma noktası, sıçanların burnunun 10 saniye boyunca su yüzeyinin altında kaldığı nokta olarak değerlendirildi (27). Belirgin bir yorgunluk belirtileri ortaya çıktığında, hayvanlar sudan çıkarılarak, kurutulup kafeslerine geri bırakıldı.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar ortalama ve standart sapma değerleri ile verilmiştir. Normal dağılımı uygun olmayan bağımsız grupların istatistiksel analizinde Mann Whitney-U ve Kruskal Wallis testinden, Normal dağılıma uygun olan bağımsız gruplarda ise Bağımsız Gruplarda T testi ve ANOVA testleri kullanılmıştır. Örneklemelerin normal dağılıma uygunluğunda kolmogronov-smirnov testi yapılmıştır. Verilerin analizinde SPSS 22.0 paket programı kullanılmıştır, verilerin analizinde 0,05 anlamlılık değeri ve altı değerleri anlamlı kabul edilmiştir. Power analizi yapılmış olup %95 güven aralığı, %80 güç değerini veren minimum örneklem büyüklüğü 8 olarak hesaplanmıştır. Power analizi PASS 11 paket programı ile hesaplanmıştır.

## BULGULAR

### Efüzyon sıvısının miktarı (PE, ml) ve akciğer ağırlığına (AA) ait bulgular

Kontrol ve sham gruplarında doğal olarak plevral efüzyon gelişmedi ve bu gruplarda akciğer ağırlıkları normal sınırlardaydı. ANTU öncesinde 9 gün süreyle EA takviyesi yapılan ratlarda (ANTU+EA) PE ve AA seviyelerinin ANTU grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p < 0,001$ ) tespit edilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** EA uygulaması ve ANTU kaynaklı pulmoner toksisiteden kaynaklanan plevral efüzyon hacmindeki ve akciğer ağırlıklarındaki değişiklikler.

Gruplar	Plevral Efüzyon (PE ml)	Akciğer ağırlığı (AA gr)
Kontrol	-	1,85 ± 0,13*
Sham	-	1,84 ± 0,10*
ANTU	3,93 ± 0,18	3,95 ± 0,18
ANTU+EA	1,94 ± 0,15*	1,97 ± 0,14*

Veriler ortalama ± ortalamının standart hatası olarak gösterilmiştir. Her sütündeki değerler birbiri ile karşılaştırılmıştır. \*: ANTU grubuna göre,  $p < 0,001$ .

### Akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (AA/VA) ve plevral efüzyon/vücut ağırlığı (PE/VA) oranlarına ait bulgular

Kontrol ve sham gruplarında doğal olarak plevral efüzyon gelişmedi, bu gruplarda akciğer ağırlığı/vücut ağırlığı (AA/VA) oranları normal sınırlardaydı. ANTU verilen grup ile ANTU verilmeyen gruplar (kontrol, sham) kıyaslandığında AA/VA bakımından anlamlı fark ( $p < 0,001$ ) gözlemlenmiştir. ANTU öncesinde 9 gün süreyle EA takviyesi yapılan ratlarda (ANTU+EA) PE/VA ve AA/VA oranlarının ANTU grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (PE/VA;  $p < 0,001$  AA/VA;  $p < 0,001$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** EA uygulaması ve ANTU kaynaklı pulmoner toksisiteden kaynaklanan plevral efüzyon hacim ve akciğer ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranlarındaki değişiklikler.

Gruplar	Plevral Efüzyon/Vücut ağırlığı PE/VA ( $\times 10^4$ )	Akciğer ağırlığı/ Vücut ağırlığı AA/VA ( $\times 10^4$ )
Kontrol		65,77 ± 4,74*
Sham		65,23 ± 3,54*
ANTU	141,16 ± 8,02	141,84 ± 6,43
ANTU+EA	69,45 ± 6,02*	70,56 ± 5,96*

Veriler ortalama ± ortalamının standart hatası olarak gösterilmiştir. Her sütündeki değerler birbiri ile karşılaştırılmıştır. \*: ANTU grubuna göre,  $p < 0,001$ .

### Zorlayıcı yüzme testine ait bulgular

Kontrol ve sham gruplarındaki sıçanların zorlayıcı yüzme testi skorları normal sınırlardaydı. Bu gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. ANTU grubundaki sıçanların zorlayıcı yüzme testi sürelerinin kontrol ve sham gruplarındaki sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı ( $p < 0,001$ ) belirlenmiştir. 9 gün boyunca EA takviyesi sonrası ANTU verilen sıçanların (ANTU+EA) zorlayıcı yüzme testi skorlarının sadece ANTU enjeksiyonu yapılan sıçanlara (ANTU grup) göre anlamlı ölçüde arttığı ( $p < 0,001$ ) tespit edilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** EA uygulaması ve ANTU kaynaklı pulmoner toksisite sonrası deney gruplarındaki sıçanlara uygulanan zorlayıcı yüzme testi sürelerindeki değişiklikler.

Gruplar	Zorlayıcı yüzme testi süresi (dakika)
Kontrol	57,20 ± 7,97*. <sup>Ω</sup>
Sham	57,89 ± 7,57*. <sup>Ω</sup>
ANTU	12,13 ± 1,90
ANTU+EA	40,79 ± 3,56*

Veriler ortalama ± ortalamının standart hatası olarak gösterilmiştir. \*: ANTU grubuna göre,  $p < 0,001$ , <sup>Ω</sup>: ANTU+EA grubuna göre,  $p < 0,001$ .

## TARTIŞMA

Bu çalışma ile ANTU verilerek pulmoner toksisite oluşturulmuş sıçanlarda EA'nın protektif etkisi ilk kez araştırılmıştır. Çalışmamız neticesinde ilk kez EA'nın, ANTU kaynaklı pulmoner toksisiteyi hafiflettiği ve akciğer fonksiyonunu iyileştirdiği PE, AA/VA ve PE/VA ölçümleri ve zorlayıcı yüzme testi skorları karşılaştırılarak rapor edilmiştir.

Pulmoner mikrosirkülasyondaki sıvı filtrasyonu, endotel boyunca hidrostatik ve onkotik basınç gradyanlarına ve endotel bariyerinin seçici geçirgenliğine bağlıdır (28). ANTU ile oluşturulan toksisite modelinde interstiyel akciğer boşluğu sıvı kapasitesini aştığında akciğer interstiyel sıvısının plevral boşluğa sızması kaçınılmaz bir sonuçtur (13). Pulmoner dolaşımdaki mekanik bozukluklar veya alveolar-kapiller bariyerin inflamatuvar veya toksik hasarı, vasküler geçirgenliği artırarak pulmoner ödemin oluşmasını tetikleyebilir (29). Sıçanlara i.p. ANTU verilmesi sonrasında 4 saat içinde akciğer ödemi ve plevral efüzyonu en üst seviyesine çıkmaktadır. Oluşan akciğer ödemi ve plevral efüzyon 1-2 gün içerisinde tamamen iyileşebileceği gibi durum daha da ciddi bir hal alarak ölümlü sonuçlanabilmektedir (13).

Çalışmamızda uygun dozlarda ANTU verdiğimiz model gruplarımızda 3-4 saat gibi çok kısa sürede ciddi pulmoner toksisite gelişerek plevral vasküler geçirgenlikteki oluşan bozukluk sonucunda PE oluşumu, AA/VA ve PE/VA oranlarında artma saptanmıştır. Sıçanlarda ANTU'nun neden olduğu akut akciğer hasarında deksmedetomidin'in ve endotelin reseptör antagonisti tezosentan'ın etkilerinin araştırıldığı iki ayrı çalışmada ANTU gruplarındaki PE, AA/VA ve PE/VA ölçümleri, kontrol ve tedavi gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (30). Yine sıçanlarda lipopolisakkarid kaynaklı akut akciğer hasarı üzerinde eksojen kükürt dioksitin iyileştirici etkilerinin ve metilprednizolon'un ise karşı etkisinin araştırıldığı çalışmalarda AA/VA oranlarında artış tespit edilmiştir (31). Bizim çalışmamızda ANTU grubundaki ortalama PE, AA/VA ve PE/VA ölçümleri, kontrol ve sham gruplarından önemli ölçüde daha yüksekti.

Çeşitli meyvelerde ve şifalı bitkilerde bulunan bir bileşik olan EA, ilaç ve kimyasalların toksisitesine karşı umut verici koruyucu etkilere sahiptir (32). Yapılan bir çalışmada EA'nın farelerde Bleomycin'in neden olduğu pulmoner fibrozisi hafiflettiği ve akciğer fonksiyonunu iyileştirdiği belirlenmiştir. İn vitro deneyler ise EA'nın fibroblast aktivasyonunu ve ekstraselüler matris üretimini engelleyebileceğini ve miyofibroblast

otofajisini ve apoptozu teşvik edebileceğini ortaya koymaktadır (33). Pulmoner arteriyel hipertansiyon ve elastazın neden olduğu akciğer ve kalp yaralanmalarında EA'nın koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise EA'nın, elastazın neden olduğu akciğer ve kalp yaralanmalarına karşı antiinflamatuvar ve antioksidan etki göstererek koruyucu bir faktör olabileceği rapor edilmiştir (34). EA'nın karbon tetraklorür (CCl4) kaynaklı akciğer hasarı üzerine olan etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada EA'nın akciğer hasarındaki koruyucu rolünü, biyokimyasal sistemlerin spesifik iltihaplanmasından ve/veya bozulmasından sorumlu genleri baskılayarak, hücresel kurtarma yollarını ve apoptozu indükleyen aktiviteyi aktive ederek gösterdiği tespit edilmiştir (35). Ayrıca EA'nın anti-oksidatif özelliğini sayesinde sıçanlarda NLRP3 enflamatuvar sinyal yolunu inhibe ederek monokrotalin kaynaklı pulmoner arter hipertansiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (36). Çalışmamızda ANTU grubuna kıyasla EA injeksiyonu yapılan ANTU+EA (10 mg/kg) grubunda ortalama PE, AA/VA ve PE/VA değerlerinde de önemli düşüşler vardı. Bu sonuçlar EA'nın pulmoner ödem ve plevral efüzyona neden olan ve pnömotoksik bir madde olan ANTU'nun pulmoner toksisitesini hafiflettiğini ve akciğer fonksiyonunu iyileştirdiği göstermektedir.

Deneysel olarak oluşturduğumuz pulmoner ödem ve efüzyon, sıçanların akciğerlerinin oksijenasyon kapasitesinde ve akciğer kompliyansında azalma sonucu yorgunluğa ve solunum yetersizliğine yol açmıştır. Çalışmamızda sıçanların PE, AA/VA ve PE/VA değerleri ile zorlayıcı yüzme testi skorları pulmoner toksisiteyi doğrular nitelikteydi. ANTU toksisitesi neticesinde ödem ve efüzyon oluşmuş sıçanların akciğer kapasitelerinin düşmesi sıçanların yüzme sürelerini olumsuz etkilemiştir. ANTU enjeksiyonu yapılmamış kontrol ve sham gruplarındaki oksijenasyon ve kapasite normal olup bu durum zorlayıcı yüzme testi skorlarında izlenmiştir. ANTU grubundaki sıçanların zorlayıcı yüzme testi sürelerinin ise ciddi şekilde azaldığı bunun nedeninin sıçanlar öldürüldükten sonra akciğerler tartılırken tespit edilen ödem ve efüzyon olduğu belirlenmiştir. Ancak 9 gün boyunca EA takviyesi sonrası ANTU verilen sıçanların (ANTU+EA) zorlayıcı yüzme testi skorlarının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak EA takviyesinin, ANTU toksisitesi sonucu gelişen ödem ve efüzyonu baskılayarak sıçanların azalan akciğer ventilasyon kapasitesini arttırdığını düşünmekteyiz. Bu etkilerin tüm mekanizmalarının açıklanması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**KAYNAKLAR**

1. Shearer D, Mahon R. Brain natriuretic peptide levels in six basic underwater demolitions/SEAL recruits presenting with swimming induced pulmonary edema (SIPE). *J Spec Oper Med* 2009; 9: 44-50.
2. Berger G, Klorin G, Ismael-Badarneh R, Guetta J, Azzam ZS. The cellular mechanisms of lung edema clearance: does the alveolar epithelium play a role? *Harefuah* 2017; 156: 663-5.
3. Sakai F. Plain X-ray diagnosis of noncardiogenic edema. *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1999; 59: 367-70.
4. Wiener-Kronish JP, Broaddus V. Interrelationship of pleural and pulmonary interstitial liquid. *Annu. Rev. Physiol* 1993; 55: 209-26.
5. Ahmad Z, Krishnadas R, Froeschle P. Pleural effusion: diagnosis and management. *J. Perioper. Pract* 2009; 19: 242-7.
6. Zarogiannis SG, Filippidis AS, Hatzoglou C, Molyvdas PA, Gourgoulisian K. Salbutamol modulation of ion transport in sheep parietal pleura is protein dependent. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 1874-6.
7. Kennedy L, Sahn S. Noninvasive evaluation of the patient with a pleural effusion. *Chest Surg Clin N Am* 1994; 4: 451-65.
8. Prakash UB. Malignant pleural effusions. *Postgrad Med* 1986; 80: 201-9.
9. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379-99.
10. Gibbs LS, Jian-Xing F, Traiger GJ. The involvement of serotonin in the pneumotoxicity induced by N-methylthiobenzamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 93: 165-74.
11. Vivet P, Brun-Pascaud M, Mansour H, Pocidallo J. Non-hypoxaemic pulmonary oedema induced by alpha-naphthyl thiourea in the rat. *Br J Exp Pathol* 1983; 64: 361.
12. van den Brenk H, Kelly H, Holland K. Effect of toxic thioureas on resistance of rats to growth in the lungs of intravenously and intratracheally seeded tumour cells. *Br J Cancer* 1978; 37: 92-104.
13. Cunningham A, Hurley J. Alpha-naphthyl-thiourea-induced pulmonary oedema in the rat: a topographical and electron-microscope study. *J Pathol* 1972; 106: 25-35.
14. Vekiari SA, Gordon MH, Garcia-Macias P, Labriena H. Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chem* 2008; 110: 1007-11.
15. Ramadan DT, Ali MAM, Yahya SM, El-Sayed WM. Correlation between Antioxidant/Antimutagenic and Antiproliferative Activity of Some Phytochemicals. *Anticancer Agents Med Chem* 2019; 19: 1481-90.
16. Kaur H, Ghosh S, Kumar P, Basu B, Nagpal K. Ellagic acid-loaded, tween 80-coated, chitosan nanoparticles as a promising therapeutic approach against breast cancer: In-vitro and in-vivo study. *Life Sci* 2021; 284: 119927.
17. Boyuk A, et al. Ellagic acid ameliorates lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Pharmacogn Mag* 2011; 7: 224-8.
18. Alves Cde F, Angeli GN, Favarin DC et al. The effects of proresolution of ellagic acid in an experimental model of allergic airway inflammation. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 863198.
19. Grantham C, Bakhle Y. Effect of acute lung injury on metabolism of adenine nucleotides in rat perfused lung. *Br J Pharmacol* 1988; 94: 1029.
20. Karakurt S, Semiz A, Celik G, Gencler-Ozkan AM, Sen A, Adali O. Contribution of ellagic acid on the antioxidant potential of medicinal plant *Epiobium hirsutum*. *Nutr Cancer* 2016; 68: 173-83.
21. Erdem MK, Yurdakan G, Yilmaz-Sipahi E. The effects of ketamine, midazolam and ketamine/xylazine on acute lung injury induced by  $\alpha$ -naphthylthiourea in rats. *Adv Clin Exp Med* 2014; 23: 343-51.
22. Wanek J, Felder AE, Blair NP, Shahidi M. Inner Retinal Oxygen Delivery and Metabolism in Diabetic Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 4412.
23. Atalay F, Yurdakan G, Yilmaz-Sipahi E. Effect of the endothelin receptor antagonist tezosentan on alpha-naphthylthiourea-induced lung injury in rats. *Kaohsiung J Med Sci* 2012; 28: 72-8.
24. Liu Y, Zhang HG, Li XH. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang, improves chronic fatigue syndrome induced by food restriction and forced swimming in rats. *Phytother Res* 2011; 25: 1825-32.
25. Hritcu L, Noumedem JA, Cioanca O, Hancianu M, Postu P, Mihasan M. Anxiolytic and antidepressant profile of the methanolic extract of *Piper nigrum* fruits in beta-amyloid (1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Funct* 2015; 11: 1-13.
26. Lin-Na S, Yong-Xiu S. Effects of polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.), Makino on physical fatigue. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2014; 11: 112-7.
27. Yi T, Qi L, Li J et al. Moxibustion upregulates hippocampal progranulin expression. *Neural Regen Res* 2016; 11: 610-6.
28. Rowan SC, Rochfort KD, Piuzeau L, Cummins PM, O'Rourke M, McLoughlin P. Pulmonary endothelial permeability and tissue fluid balance depend on the viscosity of the perfusion solution. *Am J Physiol-Lung Cell Mol* 2018; 315: L476-84.
29. Rassler B. The role of catecholamines in formation and resolution of pulmonary oedema. *Cardiovasc Hematol Disord* 2007; 7: 27-35.

30. Hancı V, Yurdakan G, Yurtlu S, Turan İÖ, Sipahi EY. Protective effect of dexmedetomidine in a rat model of  $\alpha$ -naphthylthiourea-induced acute lung injury. *J Surg Res* 2012; 178: 424-30.
31. Huang X-L, Zhou J-L, Zhou X-H, Xian X-H, Ding C-H. Ameliorative effects of exogenous sulfur dioxide on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Sheng Li Xue Bao* 2009; 61: 499-503.
32. Khan S, Parvez S, Chaudhari B, Ahmad F, Anjum S, Raisuddin S. Ellagic acid attenuates bleomycin and cyclophosphamide-induced pulmonary toxicity in Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2013; 58: 210-9.
33. Li X Huang K, Liu X, Ruan H et al. Ellagic Acid Attenuates BLM-Induced Pulmonary Fibrosis via Inhibiting Wnt Signaling Pathway. *Front Pharmacol* 2021; 12: 639574.
34. Mansouri Z, Dianat M, Radan M, Badavi M. Ellagic acid ameliorates lung inflammation and heart oxidative stress in elastase-induced emphysema model in rat. *Inflamm* 2020; 43: 1143-56.
35. Aslan A, Hussein YT, Gok O, Beyaz S, Erman O, Baspinar S. Ellagic acid ameliorates lung damage in rats via modulating antioxidant activities, inhibitory effects on inflammatory mediators and apoptosis-inducing activities. *Environ Sci Pollut Res* 2020; 27: 7526-37.
36. Tang B, Chen G-x, Liang M-y, Yao J-p, Wu Z-k. Ellagic acid prevents monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension via inhibiting NLRP3 inflammasome activation in rats. *Int J Cardiol* 2015; 180: 134-41.