

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

**YAĞ ASİDİ AMİD HİDROLAZ (FAAH) VE MONOAÇİL  
GLİSEROL LİPAZ (MAGL) İNHİBİTÖRLERİNİN FAREDE  
DENEYSEL SOLUNUM YOLU İNFLAMASYONU ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİ**

**RESHED ABOHALAKA**

**Farmakoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA**

**2019**



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

**YAĞ ASİDİ AMİD HİDROLAZ (FAAH) VE MONOAÇİL  
GLİSEROL LİPAZ (MAGL) İNHİBİTÖRLERİNİN FAREDE  
DENEYSEL SOLUNUM YOLU İNFLAMASYONU ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİ**

**Reshed ABOHALAKA**

**Farmakoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
DOÇ.DR. T. Emrah BOZKURT**

**ANKARA**

**2019**

## ONAY SAYFASI

### YAĞ ASİDİ AMİD HİDROLAZ (FAAH) VE MONOAÇİL GLİSEROL LİPAZ (MAGL) İNHİBİTÖRLERİNİN FAREDE DENEYSEL SOLUNUM YOLU İNFLAMASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Öğrenci: Reshed ABOHALAKA

Danışman: DOÇ.DR. Turgut Emrah BOZKURT

Bu tez çalışması 09/01/2019 tarihinde jürimiz tarafından "Farmakoloji Programı"nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:**

*Prof. Dr. İnci Şahin-Erdemli*  
(Hacettepe Üniversitesi)



**Tez Danışmanı:**

*Doç. Dr. Turgut Emrah Bozkurt*  
(Hacettepe Üniversitesi)




**Üye:**

*Prof. Dr. Orhan Uludağ*  
(Gazi Üniversitesi)



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

14 Ocak 2019

  
*Prof. Dr. Diclehan Orhan*  
Enstitü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayımlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>



09/01/2019

Reshed ABOHALAKA

<sup>1</sup>"*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*"

(1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*

(2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkânı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*

(3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.*

*Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir*

\* *Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.*

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Turgut Emrah Bozkurt danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Reshed ABOHALAKA



## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Doç. Dr. Turgut Emrah Bozkurt'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Teşekkürlerin az kalacağı diğer bölüm hocalarımdan da bana 3 yıllık yüksek lisans hayatım boyunca kazandırdıkları her şey için ve beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donattıkları için hepsine teker teker teşekkürlerimi sunuyorum.

Reshed ABOHALAKA

## ÖZET

**Abohalaka R., Yağ Asidi Amid Hidrolaz (FAAH) ve Monoaçil Gliserol Lipaz (MAGL) İnhibitörlerinin Farede Deneysel Solunum Yolu İnflamasyonu Üzerindeki Etkileri, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2019.** Endokannabinoid sistem, solunum yollarını da içeren bir çok biyolojik sistemde fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu çalışmada, endokannabinoid metabolizmasından sorumlu olan FAAH ve MAGL enzimlerinin inhibitörleri ile tedavinin farelerde deneysel solunum yolu inflamasyonu ve trakeal hiperreaktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Solunum yolu inflamasyonu farelere intranasal (i.n.) lipopolisakkarit (LPS) (60 µl, 0,1 mg/ml) uygulanarak gerçekleştirilmiştir. FAAH inhibitörü URB597 [0,3 mg/kg (i.n./i.p.)] ve MAGL inhibitörü JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.)] tedavileri alt gruplara LPS uygulamasından bir saat önce verilmiştir. LPS uygulamasından kırk sekiz saat sonra trakea ve akciğerler izole edilmiştir. LPS uygulaması izole trakea halka preparatlarında karbakol kasılmalarını değiştirmezken 5-hidroksitriptamin (5-HT) kasılmalarında artışa neden olmuştur. Hem URB597 hem de JZL184 tedavileri artmış olan 5-HT kasılmalarını önlemiştir. İ.p. URB597, i.p ve i.n. JZL184 tedavileri LPS gruplarında periferik ve parankimal inflamasyonu azaltırken, bu tedavilerden yalnızca i.p. URB597 uygulaması nötrofil artışını engelleyebilmiştir. Bu sonuçlar FAAH ve MAGL inhibisyonunun solunum yolu hiperreaktivitesinde koruyucu etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ancak, bu inhibitörlerin inflamasyon üzerindeki değişken etkileri FAAH ve MAGL inhibitörleri ile tedavinin özellikle kronik inflamatuvar solunum yolu hastalıklarında kullanılabilmesi ile ilgili olarak daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğunu düşündürmektedir.

### **Anahtar kelimeler:**

Yağ Asidi Amid Hidrolaz (FAAH), Monoaçilgliserol Lipaz (MAGL), Solunum yolu hiperreaktivitesi, solunum yolu inflamasyonu, kannabinoid

Bu çalışma HUBAP tarafından desteklendi. Proje No: THD-2017-16101



## ABSTRACT

**Abohalaka R., The Effect of Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) and Monoacylglycerol Lipase (MAGL) Inhibitors on Experimental Airway Inflammation in Mice, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Master of Science in Pharmacology, Ankara 2019.**

The endocannabinoid system is a modulator of physiological functions in various biological systems including the airways. In the present study the effects of treatment with the inhibitors of endocannabinoid degrading enzymes FAAH and MAGL were examined in experimental airway inflammation and tracheal hyperreactivity in mice. Airway inflammation was induced by intranasal (i.n.) lipopolysaccharide (LPS) (60 µl;0,1 mg/ml) application to mice. FAAH inhibitor URB597 [0.3 mg/kg (i.n./i.p.)] and MAGL inhibitor JZL184 [1 mg/kg (i.n.)/5 mg/kg (i.p.)] treatments were given to subgroups one hour before LPS application. Fourty-eight hours after LPS/vehicle application, tracheas and lungs were isolated. LPS application lead to an increase in 5-hydroxytryptamine (5-HT) contractions in isolated tracheal rings while carbachol contractions remained unchanged. The increased 5-HT contractions were prevented by both URB597 and JZL184 treatments. I.p. treatment with URB597 and JZL184, and i.n. treatment with JZL184 reduced peribronchial and paranchymal inflammation in LPS group. However only i.p. URB597 treatment prevented the increase in neutrophil count. These results indicate that FAAH and MAGL inhibition may have a protective effect in airway inflammation and airway hyperreactivity. However, due to the variable effects of these inhibitors on inflammation, the therapeutic value of FAAH and MAGL inhibitors on chronic inflammatory airway diseases should be further investigated.

### **Key words:**

Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH), Monoacylglycerol Lipase (MAGL), Airway hyperreactivity, Airway inflammation, cannabinoid.

This study is supported by HUBAP. Project No: THD-2017-16101

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Solunum Sistemi	2
2.2. Trakea ve Bronşlar	2
2.3. Solunum Yolu İnflamasyonu	3
2.4. Solunum Yolu Hiperreaktivitesi	4
2.5. 5-Hidroksitriptamin (5-HT) ve Solunum Yolu Hiperreaktivitesindeki Rolü	5
2.6. Kannabinoidler	5
2.7. Endokannabinoidler	6
2.8. Kannabinoidlerin Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri	7
2.9. Kannabinoidlerin Solunum Yolu İnflamasyonundaki Rolü	8
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>10</b>
3.1. Deneysel Solunum Yolu İnflamasyonu	10
3.2. FAAH ve MAGL İnhibitörleri ile Tedavi	10
3.3. Solunum Yolu Reaktivitesinin Değerlendirilmesi	11
3.4. Solunum Yolu İnflamasyonunun Değerlendirilmesi	11
3.4.1. Histopatolojik Değerlendirme	11

3.4.2. Bronkoalveolar Lavaj (BAL) Sıvısında İnflamatuvar Hücre Sayımı	11
3.5. Verilerin Analizi	12
<b>4.BULGULAR</b>	13
4.1. Solunum Yolu Reaktivitesi	13
4.2. FAAH ve MAGL İnhibitörü Tedavilerinin Solunum Yolu İnflamasyonu Üzerindeki Etkileri	18
4.3. FAAH ve MAGL İnhibitörü Tedavilerinin BAL Sıvısındaki Nötrofil Sayıları Üzerindeki Etkileri	24
<b>5.TARTIŞMA</b>	26
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	29
<b>7. KAYNAKLAR</b>	30
<b>8. EKLER</b>	40
Ek-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri	40
EK-2: Dijital Makbuz	41
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	42

## SİMGELER ve KISALTMALAR

2-AG	2-araşidonil gliserol
5-HT	5-hidroksitriptamin
AbD	Anabilim Dalı
Abh4	$\alpha/\beta$ -hidrolaz 4
AEA	N-araşidoniletanolamin (anandamid)
BAL	Bronkoalveolar lavaj
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum klorür
CB <sub>1</sub>	Kanabinoid reseptörü-1
CB <sub>2</sub>	Kanabinoid reseptörü-2
CO <sub>2</sub>	Karbon dioksit
Dak	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
E <sub>maks</sub>	Maksimum etki
FAAH	Yağ asidi amid hidrolaz
GABA	$\gamma$ -aminobütirik asit
GPR119	G proteini-kenetli reseptör-119
GPR55	G proteini-kenetli reseptör-55
HUBAP	Hacettepe Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
IL-13	İnterlökin 13
IL-1 $\beta$	İnterlökin 1 beta
IL-2	İnterlökin 2
IL-4	İnterlökin 4
IL-5	İnterlökin 5
IL-6	İnterlökin 6
İ.n.	İntranazal
İ.p.	İntraperitonal
KCl	Potasyum klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen fosfat
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi
LPS	Lipopolisakkarid

MAGL	Monoaçilgliserol lipaz
MAPK	Mitojen ile aktive protein kinaz
MeOH	Metanol
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum sülfat
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum hidrojen karbonat
NAPE	N-araşidonoil-fosfotidiletanolamin
NAPE-PLD	N-açil fosfotidiletanolamin fosfolipaz D
NFAT	T hücrelerini aktive eden nükleer faktör
O <sub>2</sub>	Oksijen
PBS	Fosfatla Tamponlanmış Tuz Çözeltisi
PLC	Fosfolipaz C
PPARs	Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör
Th1	T-helper-1
Th2	T-helper-2
THC	Tetrahidrokannabinol
TNF $\alpha$	Tümör nekroz faktörü-alfa
TRPV1	Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı alt ailesi V1

## ŞEKİLLER

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
<b>4.1</b> Kontrol ve LPS grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında karbakol ve 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları.	14
<b>4.2</b> Kontrol, LPS ve URB597 ile i.p. veya i.n. tedavi edilen LPS grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları.	15
<b>4.3</b> Kontrol, LPS ve JZL184 ile i.p. veya i.n. tedavi edilen LPS grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları.	16
<b>4.4</b> Kontrol farelere URB597 veya JZL184'ün i.p. veya i.n. uygulanmasının bu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi.	17
<b>4.5</b> Kontrol ve LPS grubu farelere i.p. ya da i.n. çözücü uygulanmasının farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi.	18
<b>4.6</b> URB597 ve JZL184 tedavilerinin LPS uygulanan farelere i.p. veya i.n. olarak verilmesinin akciğer inflamasyonu üzerine etkileri.	20
<b>4.7</b> URB597 ve JZL184 tedavilerinin ve bu ilaçlar için kullanılan çözücülerin kontrol farelere i.p. veya i.n. olarak verilmesinin akciğer inflamasyonu üzerine etkileri.	21
<b>4.8</b> Kontrol (A) ve LPS (B) grubu farelere i.p. ya da i.n. çözücü uygulanmasının akciğer inflamasyonu üzerine etkileri	22
<b>4.9</b> Histopatolojik örneklerle ait fotoğraflar	23
<b>4.10</b> LPS ve kontrol grubu farelerden izole edilen BAL sıvılarındaki hücre sayılarının oranları.	24
<b>4.11</b> URB597 ve JZL184 tedavilerinin farelere i.n. veya i.p. olarak verilmesinin BAL'daki nötrofil sayısı üzerindeki etkileri.	25

**TABLÖLAR**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
3.1	Deney Grubları	10
4.1	Deney gruplarında solunum yolu inflamasyon skorları	23
4.2	LPS ve kontrol grubu farelerden izole edilen BAL sıvılarındaki hücre sayılarının oranları	24

## 1.GİRİŞ

Solunum yolu inflamasyonu ve hiperreaktivitesi astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi inflamatuvar solunum hastalıklarının önemli bir parçası olup bu hastalıklarda gözlenen semptomların da kaynağını oluşturmaktadır (1). Bu nedenle de tedavide kullanılan stratejiler solunum yolu inflamasyonunun baskılanması ve bronkodilasyonun sağlanmasıdır. Ancak bunlar palyatif tedaviler olup hastalığı ortadan kaldırmamaktadır. Ayrıca bazı hastalarda semptomlar bu amaçla kullanılan kortikosteroidler, lökotrien antagonistleri, beta-2-agonistler gibi mevcut ilaçlar ile de kontrol altına alınmamaktadır. Bu nedenle inflamatuvar solunum yolu hastalıklarının tedavisinde yeni yaklaşımlara ve ajanlara ihtiyaç vardır.

Kannabinoidler “cannabis sativa” bitkisinde bulunan ve ayrıca endojen olarak da sentezlenen biyolojik olarak aktif bileşiklerdir. Endojen kannabinoidler endokannabinoidler olarak adlandırılırlar ve reseptörleri ve metabolik yolları ile birlikte “Endokannabinoid Sistem”i oluştururlar (2, 3). Kannabinoidlerin birçok sistemde önemli fizyolojik ve farmakolojik etkileri vardır. 1973-1975 yılları arasında insanlarda yapılan çalışmalarda kannabinoidlerin hem sağlıklı gönüllülerde hem de astım hastalarında bronkodilasyon yapabildiği gösterilmiştir (4-6). Daha sonraki çalışmalarda ise bu bileşiklerin immün sistem üzerindeki etkileri ile özellikle inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan kritik T hücresi sitokinlerinin ekspresyonunu inhibe ederek solunum yollarında anti-inflamatuvar etkili olabilecekleri belirtilmiştir (7-12). Ayrıca deney hayvanlarında kolinerjik sinirlerden asetilkolin salverilmesini azalttığı ve trakeada sinir-aracılı kasılmaları inhibe edebildiği de gösterilmiştir (13).

Kannabinoidlerin solunum yolu üzerinde yukarıda belirtilen etkileri endokannabinoidlerin metabolizmasının hedef alınarak doku düzeylerinin artırılmasının inflamatuvar solunum yolu hastalıkları için önemli bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu tez çalışmasının amacı endokannabinoid metabolizmasında birincil rol oynayan yağ asidi amid hidrolaz (FAAH) ve monoasil gliserol lipaz (MAGL) enzimlerinin inhibitörlerinin farelerde LPS ile oluşturulan deneysel solunum yolu inflamasyonu ve hiperreaktivitesi üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Solunum Sistemi:

Solunum sistemi üst ve alt solunum yolları olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir. Üst solunum yolları göğüs kafesinin dışında olan burun, farinks, larinks ve trakeanın üst kısmından, alt solunum yolları ise göğüs kafesinin içinde olan trakeanın bir kısmı, bronşlar, bronşioller, alveoller ve akciğerlerden oluşmaktadır (14). Bu dokular birlikte çalışarak solunum fonksiyonunun gerçekleştirilmesinden sorumludur. Solunum süreci iki aşamalıdır. Bunlardan ilki akciğerler içinde oksijen ve karbondioksitin değişimi ile gerçekleşen dış solunum, ikincisi ise hücre düzeyinde oksijen ve karbondioksit gazlarının değişimiyle gerçekleşen iç solunumdur (15).

Solunum sisteminin gaz değişimi dışında da önemli fonksiyonları vardır. Solunum yolu hücreleri vücudu burun yoluyla gelen patojen mikroorganizma ve zararlı nesnelere korur. Solunum sistemi dış çevreyle sürekli temas halinde olduğundan, bu hücrelerin bağışıklık sisteminde de önemli rolleri vardır. Solunum yollarındaki epitel hücreleri patojen bakteriler üzerinde etkili olan çeşitli enzimler, peptidler, antikorlar ve antioksidan moleküller salgıyarak. Ayrıca bazı epitel hücreleri büyük toz parçacıkları tutabilen mukus salgılar (15). Bunların yanı sıra solunum sistemi, öksürmek ve hapşırma gibi diğer savunma mekanizmaları ile de mukusta yapışan bakteri ve virüslerin uzaklaştırılmasını sağlayarak (16) enfeksiyon vb. zararlı uyaranlara karşı bir koruma oluşturur.

### 2.2. Trakea ve bronşlar:

Trakea "C" harfi şeklinde 15-20 adet kartilaj içeren bir yapıdır. Bu kartilajlar hem trakeada solunum yolunun açık kalmasını sağlar, hem de trakeanın tam arkasında yer alan özofagusta yemek geçişine yardımcı olurlar. Trakea göğüs kafesine girdikten sonra sağ ve sol bronşlara ayrılır. Bu bronşlar ikincil bronşlar olup sağ ve sol akciğere girip akciğerdeki bronş ağacını oluşturur (daha küçük çaplı ikinci ve üçüncül bronşlar ve bronşioller) (17). Bronşiollerin çapı bir millimetreden daha küçük olduğunda bunlar terminal bronşioller olarak adlandırılırlar. Bu terminal bronşioller daha sonra vaskülarize alveollere açılır. Bronşlar dallanmaya başladığı zaman iç yapıları değişir. Kartilajlar büyük hava yollarında yaygın iken, küçük hava yollarında

bulunmamaktadır. Küçük havayollarında bazal membranda tek bir epitel tabaka mevcuttur. Hem bronşlar hem de bronşioler dinlenme zamanında kasılan ve egzersiz sırasında gevşeyen düz kaslara sahiptir (18). Trakea kartilaj halkaların iki tarafından bağlanan posterior membran düz kasları içerir. Bu sayede bu kaslar kasıldığında kartilajın iki ucu arasındaki mesafe kısalarak trakeanın çapını daralır.

### 2.3. Solunum Yolu İnflamasyonu:

Solunum yolu inflamasyonu astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi inflamatuvar solunum hastalıklarının önemli bir parçasıdır. Orta ya da hafif derecedeki astım hastalarında bile bronş biyopsilerinde inflamasyon olduğu görülmektedir (1). Bu hastalarda hava yolu epiteli hasarı, bazal membranın altında artan kollajen birikimi ve lamina propriada eozinofil bulunması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi değişiklikler gözlenmektedir (1). Özellikle alerjik astımda gözlenen antijen inhalasyonu sonrası akut alerjik solunum yolu reaksiyonu pulmoner mast hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salıverilmesini sağlar. Akut reaksiyona katılan mast hücresi kaynaklı mediatörlerden en önemlileri histamin ve sülfidopeptit lökotrienler (LT) C4, D4, E4'tür (19). Histaminle birlikte LTC4, LTD4 ve LTE4, hava yolu düz kası üzerindeki kasıcı etkilerinden dolayı akut bronkospazm yanıtında rol oynamaktadır (20). Akut reaksiyon 30-60 dakika içinde oluşarak sona erer. Ancak, 4-6 saat sonra, bronkokonstriksiyon tekrar ortaya çıkabilir. Bunun nedeni nötrofiller, makrofajlar, lenfositler, eozinofiller, monositler ve bazofiller dâhil olmak üzere inflamatuvar hücrelerin hava yoluna infiltrasyonudur (21). Mast hücreleri ve eozinofillerin yanı sıra, astımda sitokin ve adezyon moleküllerinin de önemli rolü vardır. Adezyon molekülleri, dokuya hücre göçünde önemli olan moleküllerdir. Ayrıca, astım hastalarda bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında IL-1 $\beta$ , IL-6 ve GM-eSF düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir (22).

Solunum yolu düz kası birçok tedavi için önemli bir hedefdir. Kortikosteroidler gibi anti-inflammatuar ilaçlara ve  $\beta_2$ -adrenoreseptör agonistleri gibi bronkodilatörler ilaçlara hem *in vivo* hem *in vitro* yanıt verir (23). Solunum yolu düz kası hücrelerinin pek çok sitokin, kemokin ve prostanoit üretme özelliği vardır (24). Bu üretim çoğu zaman IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflammatuar olan sitokinlere karşı yanıt olarak gerçekleşir (25).

#### 2.4. Solunum Yolu Hiperreaktivitesi:

Solunum yolu reaktivitesi, hava yollarının, konstriktör ajanlara maruz kaldığında kasılma eğiliminin bir göstergesidir. Solunum yolu hiperreaktivitesi ise solunum yollarının kasıcı uyaranlara karşı aşırı cevap vermesi olarak tanımlanabilir. Solunum yolu hiperreaktivitesi astımın karakteristik bir özelliğidir ve solunum yollarının inhale edilen bir konstriktör ajana normalden fazla tepki vermesi durumudur. Solunum yolu aşırı duyarlılığı ve hiperreaktivitesi ölçümü özellikle astımla uyumlu semptomları olan ancak hava yolu obstrüksiyonu olduğuna dair kanıt bulunmayan hastalarda astım tanısı için önemli bir parametredir (26). Solunum yolu aşırı duyarlılığı sadece astım hastalarında değil, aynı zamanda KOAH nedeniyle hava akımı obstrüksiyonu olan hastalarda da bulunmaktadır. Bu aşırı duyarlılık inflamasyona bağlı olarak oluşabilir (27). Örneğin astımda solunum yollarındaki artmış eozinofil sayısının, epitel hasarı, bazal membranın kalınlaşması, düz kas kasılmasına neden olan mediyatörlerin salıverilmesi ve solunum yolu duvarının kalınlaşması gibi hastalıkta görülen değişikliklerinin çoğunun önemli bir nedeni olduğu düşünülmektedir (26). Bununla birlikte astım hastalarında solunum yollarındaki kalınlaşmanın, plazma eksüdasyonu, ödem oluşumu ve epitel kaybının solunum yolu aşırı duyarlılığının sebepleri arasında olduğu bilinmektedir (28-30). Epitel hasarı ya da kaybı, diğer taraftan solunum yolu düz kasına daha fazla miktarda bronkokonstriktör mediyatörün ulaşabilmesine neden olurken, aynı zamanda epitelden salıverilen bronkodilatör maddelerin azalmasına ve buna bağlı olarak da bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olabilir (26).

Tedaviye yanıt veren solunum yolu hiperreaktivitesi doğal olarak geçici olup pro-inflammatuar mediatörlere reaksiyon olarak oluşmaktadır (31). Tedaviye yanıt vermeyen solunum yolu hiperreaktivitesi ise kronik ve uzun süren solunum yolu inflamasyonu nedeniyle oluşmaktadır (32).

## **2.5. 5-Hidroksitriptamin (5-HT) ve Solunum Yolu Hiperreaktivitesindeki Rolü:**

5-HT santral sinir sisteminde sentezlenen ve birçok fizyolojik fonksiyona sahip olan bir nörotransmitterdir (33). Aynı zamanda 5-HT periferik dokularda enterokromafin hücrelerde üretilir, depolanır ve salıverilir (34). 5-HT etkilerini genel olarak G-proteinleri ile kenetli 5-HT reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (35).

5-HT solunum sisteminde trombositlerden ve solunum yolu epitelindeki nöroendokrin hücrelerden salıverilmektedir (36). Ayrıca 5-HT, rodentlerin solunum yolunda mast hücrelerinde bulunur ve alerjik reaksiyonlarda antijen ile indüklenen kasılmalardan sorumlu ana mediyatördür (37). 5-HT solunum yolunda direkt etki ile düz kastaki 5-HT reseptörleri üzerinden ve dolaylı etki ile sinir hücrelerindeki 5-HT reseptörleri ile kolinerjik sinir ucundan asetilkolin salıverilmesine neden olarak bronkokonstriksiyon oluşturur (38, 39). Bu etki insan ve kobay solunum yolunda 5-HT<sub>3</sub>, fare solunum yolunda ise 5-HT<sub>2A</sub> reseptörleri aracılığıyla oluşmaktadır (38, 40, 41).

Solunum sisteminde 5-HT'nin kronik inflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (42). Örneğin KOAH'ta plazma 5-HT seviyelerinin arttığı ve 5-HT'ye karşı hiperreaktivite geliştiği gösterilmiştir (43, 44). Ancak solunum yolundaki inflamatuvar durumlarda gelişen 5-HT hiperreaktivitesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir.

## **2.6. Kannabinoidler:**

Kannabinoidler "cannabis sativa" bitkisinde bulunan ve ayrıca endojen olarak da sentezlenen biyolojik olarak aktif bileşiklerdir. Kannabinoidler etkilerini G(i/o) ailesine ait olan (45) CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> isimli iki adet G-proteini kenetli reseptör aracılığı ile gösterirler. Bu reseptörler adenilat siklaz ile negatif kenetlidirler ve/veya mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK)'ı aktive ederler (46). CB<sub>1</sub> reseptörleri daha çok santral ve periferik sinir sisteminde ve sinir uçlarında bulunurken (47), CB<sub>2</sub> reseptörleri asıl olarak periferik dokularda özellikle de immün hücrelerde, immün sistemle ilişkili organlarda bulunmaktadır (47-50). Bu reseptörler beyin, omurilik, osteoblast, osteosit ve osteoklastlarda da eksprese olmaktadır (50-52).

Kannabinoidlerin kendi reseptörleri dışındaki bazı reseptörleri (TRPV1, GPR55, GPR119, PPARs) de aktive edebildikleri gösterilmiştir (49).

## 2.7. Endokannabinoidler:

Endojen kannabinoidler endokannabinoidler olarak adlandırılırlar. reseptörleri ve metabolik yolları ile birlikte memeliler ve diğer birçok türde önemli bir düzenleyici sistem olan “Endokannabinoid sistem”i oluştururlar (2, 3). Endokannabinoidler araşidonik asitin etanolamin ve gliserol ile konjuge olan türevleridir. N-araşidoniletanolamin (anandamid) (AEA) ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) üzerinde en fazla araştırma yapılmış olan iki önemli endokannabinoiddir. Bunların yanı sıra noladin eter, virodamin, oleoil etanolamin gibi birçok farklı üye de tanımlanmıştır (53, 54). Diğer lipid mediyatörler gibi, endokannabinoidler de hücre membranında bulunan lipid prekürsörlerinden intraselüler kalsiyum artışına bağlı olarak hızlı bir şekilde sentez edilirler (55, 56). Benzer şekilde inflamatuvar stimulus da immün sistem hücrelerinden salıverilmelerine neden olabilir (9).

AEA ve 2-AG'nin sentezi ve salıverilmesine bir çok yolak aracılık etmektedir. AEA bir fosfolipid prekürsör olan N-araşidonil-fosfotidiletanolamin (NAPE)'in N-açil fosfotidiletanolamin fosfolipaz D (NAPE-PLD) enzimi ile kesilmesi sonucu oluşur (57). Ancak AEA biyosentezinden sorumlu olan  $\alpha/\beta$ -hidrolaz 4 (Abh4) (58) ve NAPE'nin fosfolipaz C (PLC) ile kesilerek fosfoanandamid oluşumunu takiben fosfotazlar tarafından defosforile edilmesi gibi farklı enzimler ve yolların da katkısı vardır (59). 2-AG'nin sentezi ve salıverilmesi bu molekülün bir monogliserit olmasından dolayı AEA'den farklıdır. 2-AG fosfolipid prekürsörlerden PLC ve diaçilgliserol lipaz aracılığı ile sentezlenir (60). Endokannabinoidlerin yıkımı FAAH (61), MAGL (62) ve “N-açiletanolaminhidrolize edici asit amidaz” isimli üç farklı enzim tarafından yapılmaktadır (63). FAAH serin-hidrolaz ailesine (57) ait olan bir membran enzimi olup AEA'in katabolizmasında rol oynayan ana enzimdir (64). FAAH AEA'i araşidonik asit ve etanolamine degrade eder (64). MAGL ise ağırlıklı olarak 2-AG'nin yıkımından sorumlu olan enzimdir (62, 63). 2-AG bu enzimle AEA ve gliserole hidrolize edilir (56).

## 2.8. Kannabinoidlerin Fizyolojik ve Farmakolojik Etkileri:

Kannabinoidlerle ilgili araştırmaların büyük kısmı santral sinir sistemi ve immün sisteme odaklanmış olsa da kannabinoidler hemen tüm organ sistemleri üzerinde etkilidirler. Kannabinoidler hem doğal bağışıklık hem de humoral ve hücreyel immün yanıtlar üzerine etkili olduklarından inflamatuvar süreç üzerinde önemli etkileri vardır (65).

İnsanlarda *cannabis sativa* bitkisinin ya da bu bitkideki aktif madde olan tetrahidrokannabinol (THC)'ün etkisi genellikle keyif verici ve öforik bir deneyim olarak tarif edilir. Sosyal ortamlarda kullanıldığında, gülme ve fazla konuşma gibi davranışlar gözlenebilir. Ancak bazen endişe ya da panik gibi etkilere de neden olabilir. Akut THC zehirlenmesi öğrenmeyi ve hafızayı bozar (66, 67), psikomotor ve bilişsel performansı olumsuz etkiler (68).

Kannabinoidler bir çok nörotransmitter ve nöromodülatör ile etkileşir (69). Bunların arasında asetilkolin, dopamin,  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA), histamin, serotonin, glutamat, norepinefrin, prostaglandinler ve opioid peptitler sayılabilir (70). Farmakolojik etkilerinin bir kısmı bu etkileşimlere bağılı olarak gelişmektedir. Örneğin, hiposalivasyona bağılı ağız kuruluğu, taşikardi, THC'nin asetilkolin salıverilmesi üzerindeki etkileri nedeni ile oluşmaktadır (68). Kannabinoidlerin antiemetik etkilerine ise 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerinin aktivasyonunu inhibe etmesinin aracılık ettiği düşünölmektedir (71). Hareket ve spastik bozukluklardaki terapötik etkilerinin GABAerjik, glutamerjik ve dopaminerjik sistemler ile etkileşimlere bağılı olduğu ileri sürölmektedir (68).

THC, kardiyovasköler sistemde taşikardi oluşturur ve kalp debisini artırır (72). Bu etki THC'nin vagal inhibisyon yapması ile açıklanmaktadır (73). Endokannabinoid sistem, kan basıncının kontrolünde de önemli rol oynamaktadır. Kannabinoidler kan basıncını düşürür ve periferik vazodilatasyona bağılı olarak ortostatik hipotansiyon oluşturabilir (74). Hipotansiyon primer olarak CB<sub>1</sub> reseptörlerinin aktivasyonu ile sempatik merkezin inhibisyonuna bağılı olarak gelişmektedir (75). Koronerler ve serebral damarlardaki rezistans ise esas olarak vasköler kannabinoid CB<sub>1</sub> reseptörlerinin direkt aktivasyonu ile azalır (76). Endokannabinoidler ayrıca vasköler endotel, dolaşımdaki makrofajlar ve trombositler tarafından da üretilir (77).

Kannabinodlerin T-lenfositlere bağlı immün yanıtı da modüle ettiği gösterilmiştir (78). THC T-hücrelerinin proliferasyonunu baskılar ve T-helper-1 (Th1) ve T-helper-2 (Th2) sitokinleri arasındaki dengeyi değiştirir. Pro-inflamatuar Th1 reaksiyonunu (örneğin interferon-gamma üretimi) azaltır ve Th2 reaksiyonunu arttırır (68).

Endokannabinoidler santral sinir sisteminde nöroprotektif etkilidirler. Parkinson, Alzheimer hastalığı ve multipl skleroz gibi kronik nörodejeneratif hastalıklarda yapılan çalışmalarda kannabinoidlerin aşırı glutamat üretimini inhibe ettiği, hücrelere kalsiyum girişini engellediği, oksijen radikallerinin neden olduğu hasarı azalttığı ve vasküler tonusu modüle ettiği gösterilmiştir (68, 79).

## **2.9 Kannabinoidlerin Solunum Yolu İnflamasyonundaki Rolü:**

Kannabinoidler solunum yollarında anti-inflamatuar etki göstermektedirler (7). Bu etkilerini sitokin salıverilmesini modüle ederek (8, 9) ve sitokin gen ekspresyonlarını negatif yönde düzenleyerek yaptıkları ileri sürülmektedir (10-12). Ayrıca IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi alerjik astımda görülen inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan kritik T hücresi sitokinlerinin de ekspresyonunu inhibe ederler ve T hücrelerini aktive eden nükleer faktör (NFAT)'ün DNA ya bağlanmasını engellerler (12).

Kannabinoidler solunum yolu aşırı duyarlılığı üzerine de etkilidirler. Kobay trakeasında kannabinoid agonistlerinin kalsiyum ve potasyum kanallarını etkileyerek kolinerjik sinirlerden asetilkolin salıverilmesini azalttığı gösterilmiştir (13). AEA ve diğer bir kannabinoid agonisti olan WIN 55,212-2, sıçan trakea halkasında elektriksel alan aracılı kasılmaları inhibe etmiştir (80). Ayrıca yapılan çalışmalarda inflamasyonla indüklenen trakea hiperreaktivitesini CB<sub>1</sub> reseptörleri üzerinden engellediği gösterilmiştir (81, 82).

İnsanlar üzerinde daha önce yapılmış çalışmalarda marihuana inhalasyonu veya THC'nin oral olarak alınmasının astım hastalarında bronkodilatasyon oluşturduğu gösterilmiştir (5, 83). Bu bronkodilatör etki hem astım hastaları hem de sağlıklı gönüllülerde görülebilmektedir (6). Bronkodilatör etkinin oluştuğu konsantrasyonlarda THC'nin santral etkilerinin görülmemesi de önemli bir bulgudur (4). Alerjik astım hastalarında yapılan bir çalışmada ise alerjen maruziyeti sonucunda

bu hastaların BAL sıvılarında AEA miktarının arttığı gösterilmiştir (84). Bu bulgular hem kannabinoidlerin hem de endokannabinoidlerin solunum yollarının inflamatuvar hastalıklarında önemli olduğunu düşündürmektedir.

Kannabinoidlerin solunum yolu inflamasyonu ve hiperreaktivitesi üzerindeki etkileri endokannabinoidlerin metabolizmalarının hedef alınarak doku düzeylerinin artırılmasının önemli bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın amacı endokannabinoidlerin yıkımından sorumlu iki önemli enzim olan FAAH ve MAGL inhibitörlerinin solunum yolu inflamasyonu ve aşırı duyarlılığı üzerindeki etkilerini incelemektir.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel Solunum Yolu İnflamasyonu:

Çalışmada 98 adet erkek CD1 fare kullanıldı. Solunum yolu inflamasyonu oluşturmak için farelere intranazal (i.n.) olarak LPS (60 µl; 0,1 mg/ml PBS içinde) verildi. Kontrol grubuna ise aynı yoldan 60 µl PBS uygulandı. PBS veya LPS uygulamasından 48 saat sonra, fareler servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek trakeaları ve akciğerleri izole edildi.

#### 3.2. FAAH ve MAGL İnhibitörleri ile Tedavi:

FAAH ve MAGL inhibitörleri tedavileri kontrol ve LPS gruplarına PBS veya LPS uygulamasından 1 saat önce intranazal (i.n.) ya da intraperitoneal (i.p.) olarak yapıldı. Bu amaçla FAAH inhibitörü URB597 ve MAGL inhibitörü JZL184 Serum fizyolojik:Etanol:DMSO:Kromofor (17:1:1:1) karışımından oluşan bir çözücü içerisinde çözülmüştür. Tedaviler URB597 için 0,3 mg/kg (i.n./i.p.), JZL184 için 1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.) dozunda verilmiştir. İ.n. uygulamalar için her iki ilaç da 50 µl hacminde uygulanmıştır.

**Tablo 3.1:** Deney grupları

Kontrol	LPS
Kontrol + URB597 i.n.	LPS + URB597 i.n.
Kontrol + URB597 i.p.	LPS + URB597 i.p.
Kontrol + JZL184 i.n.	LPS + JZL184 i.n.
Kontrol + JZL184 i.p.	LPS + JZL184 i.p.
Kontrol + Çözücü i.n.	LPS + Çözücü i.n.
Kontrol + Çözücü i.p.	LPS + Çözücü i.p.

### 3.3. Solunum Yolu Reaktivitesinin Değerlendirilmesi:

Solunum yolu reaktivitesi farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında değerlendirildi. Bu amaçla ötanazi sonrası farelerin göğüs kafesi açılarak akciğerler trakea ile birlikte izole edildi. Daha sonra trakea çevre bağ dokudan dikkatlice temizlenerek her biri 4-5 kıkırdaktan oluşan trakea halka preparatları hazırlandı. Bu preparatlar %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> ile gazlandırılan Krebs-Heinseleit solüsyonu (NaCl (118 mM), KCl (4,7 mM), MgSO<sub>4</sub> (1,2 mM), CaCl<sub>2</sub> (2,5 mM), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.2 mM), NaHCO<sub>3</sub> (25,0 mM), glukoz (11,6 mM), 37°C, pH 7,4) içeren organ banyolarına yerleştirilerek gerim değişiklikleri bir izometrik kuvvet transdüseri aracılığı ile kaydedildi (MP150-Biopac data acquisition system ve Acknowledge 4,2 software). Bu preparatlarda karbakol ve 5-hidroksitriptamin (5-HT) ile indüklenen kasılma yanıtları incelendi.

### 3.4. Solunum Yolu İnflamasyonunun Değerlendirilmesi:

#### 3.4.1. Histopatolojik Değerlendirme

Solunum yolu inflamasyonu farelerden izole edilen akciğer preparatlarının histopatolojik olarak skorlanması ve farelerden izole edilen BAL sıvılarında inflamatuvar hücre sayımı yapılarak değerlendirildi. Bu değerlendirmeler H.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji AbD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sevgen Önder ile birlikte yapıldı. Bu amaçla LPS ve PBS uygulamalarından 48 saat sonra ötanazi edilen farelerin akciğerleri izole edilerek %10'luk formaldehit ile fikse edildi. Daha sonra bu dokulardan hazırlanan kesitler hematoksilin-eozin ile boyanarak histopatolojik olarak incelendi. Histopatolojik incelemede peribronşiyal ve parankimal inflamasyon değerlendirildi ve bu parametreler 0-4 arasında kör olarak skorlanarak her preparatın bu iki parametreden aldığı skorların toplamı alındı.

#### 3.4.2. Bronkoalveolar Lavaj (BAL) Sıvısında İnflamatuvar Hücre Sayımı

BAL izolasyonu için LPS ve PBS uygulamalarından 48 saat sonra fareler yüksek doz ketamin/ksilazin (100/10 mg/kg) ile anesteziye edildiler. Daha sonra trakeostomi ile trakeaları kanüle edildi ve bu kanül yardımı ile 0,8 ml PBS yavaşça akciğerlere gönderilip geri çekildi. Bu işlem her fare için üç kez tekrarlandı. Bu şekilde izole edilen BAL sıvısı örnekleri falkon tüplere alınarak, +4C'de 1200 rpm'de 10 dk

santrifüjlendi. Süpernatantlar lizis tamponu ile 2 dk inkübe edildikten sonra PBS ile yıkanarak kırmızı kan hücreleri uzaklaştırıldı. Daha sonra PAP ile boyanarak, cam yüzeye püskürtülmüş hücreler kör olarak her preparatta rastgele yaklaşık ikiyüz hücre sayıldı. Bu hücreler morfolojilerine göre lenfosit, makrofaj, nötrofil ve eozinofil olarak sayıldı ve toplam hücre içerisindeki yüzdeleri hesaplandı.

### **3.5. Verilerin Analizi:**

Solunum yolu reaktivitesi için yapılacak olan deneylerde karbakol yanıtları mg kasılma olarak, 5-HT yanıtları ise maksimum karbakol yanıtının %'si olarak ifade edilmiştir.

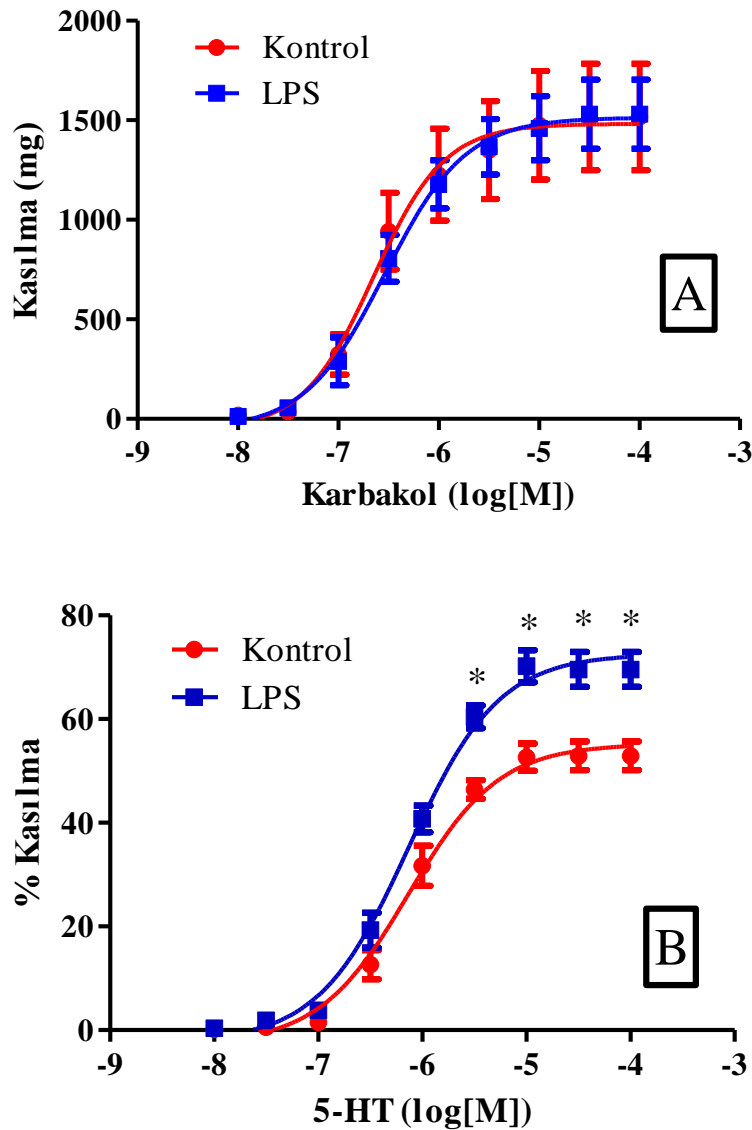
Histopatolojik inceleme semi-kantitatif ve kör olarak yapılmış ve inflamasyon ile ilgili parametrelerin şiddeti 0-4 arasında değerlendirilmiştir. Bu değerler her preparat için hem peribronşiyal inflamasyon hem de parankima inflamasyonu açısından ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, bu iki değer toplamı o preparat için nihai skor olarak alınmıştır. BAL sıvısındaki inflamatuvar hücre sayısı toplam hücre sayısının %'si olarak ifade edilmiştir.

Deneylerden elde edilen veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz ANOVA/Tukey ve Student's *t*-test kullanılarak yapılmış,  $P<0,05$  ise ortalamalar arası fark anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin analizinde Graph Pad Prism, version 5,01 (GraphPad Software Inc.) programı kullanılmıştır.

## 4.BULGULAR

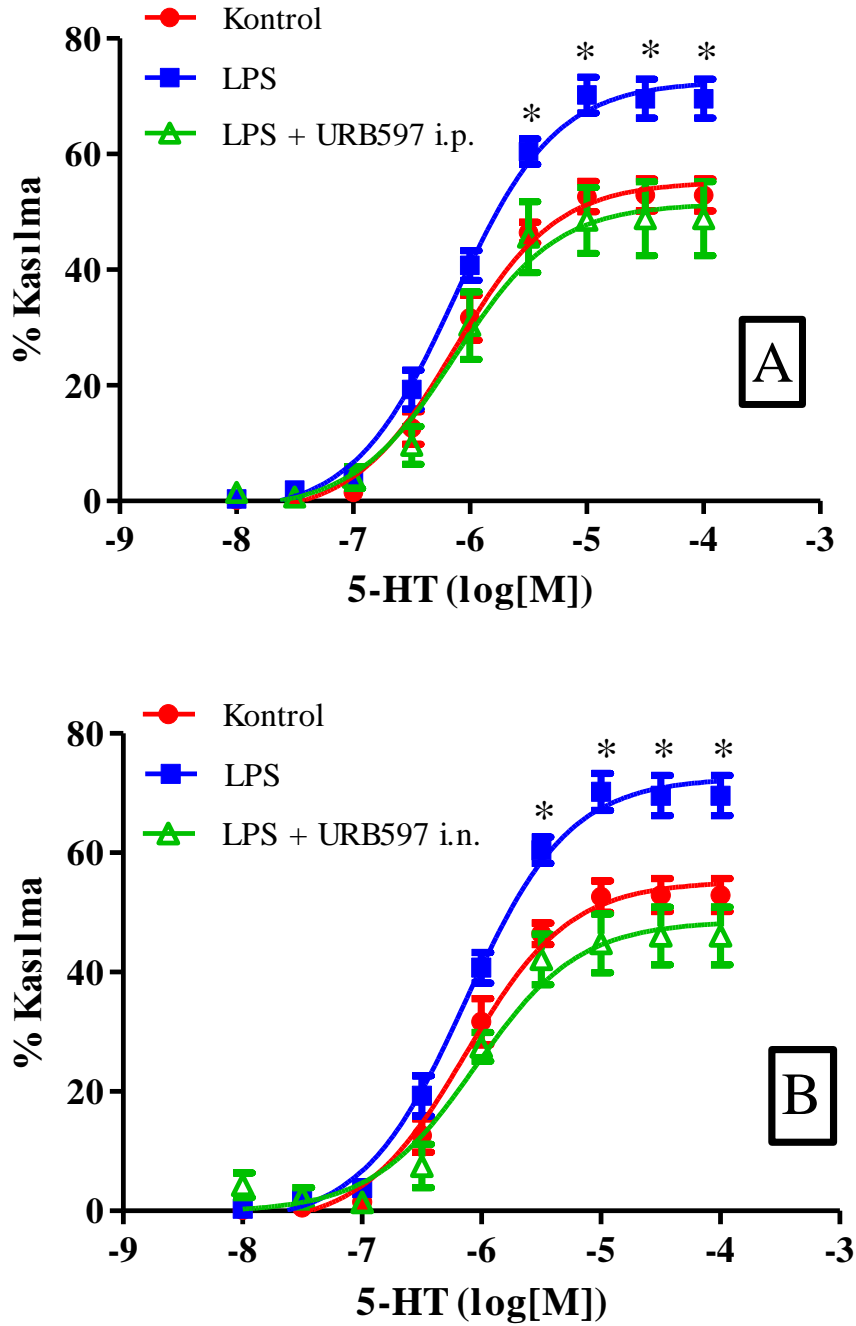
### 4.1. Solunum Yolu Reaktivitesi:

İntranazal LPS uygulaması izole fare trakealarında karbakol kasılma yanıtını değiştirmemiştir (Şekil.4.1A). Ancak 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları LPS grubunda anlamlı olarak artmıştır [ $E_{maks}$  LPS (60  $\mu$ l; 0,1 mg/ml PBS içinde):  $69,6 \pm 3,39$ ,  $n=6$ ;  $E_{maks}$  kontrol:  $52,92 \pm 2,75$ ,  $n=6$  (ortalama $\pm$ standart hata);  $P < 0,05$ ] (Şekil.4.1B).



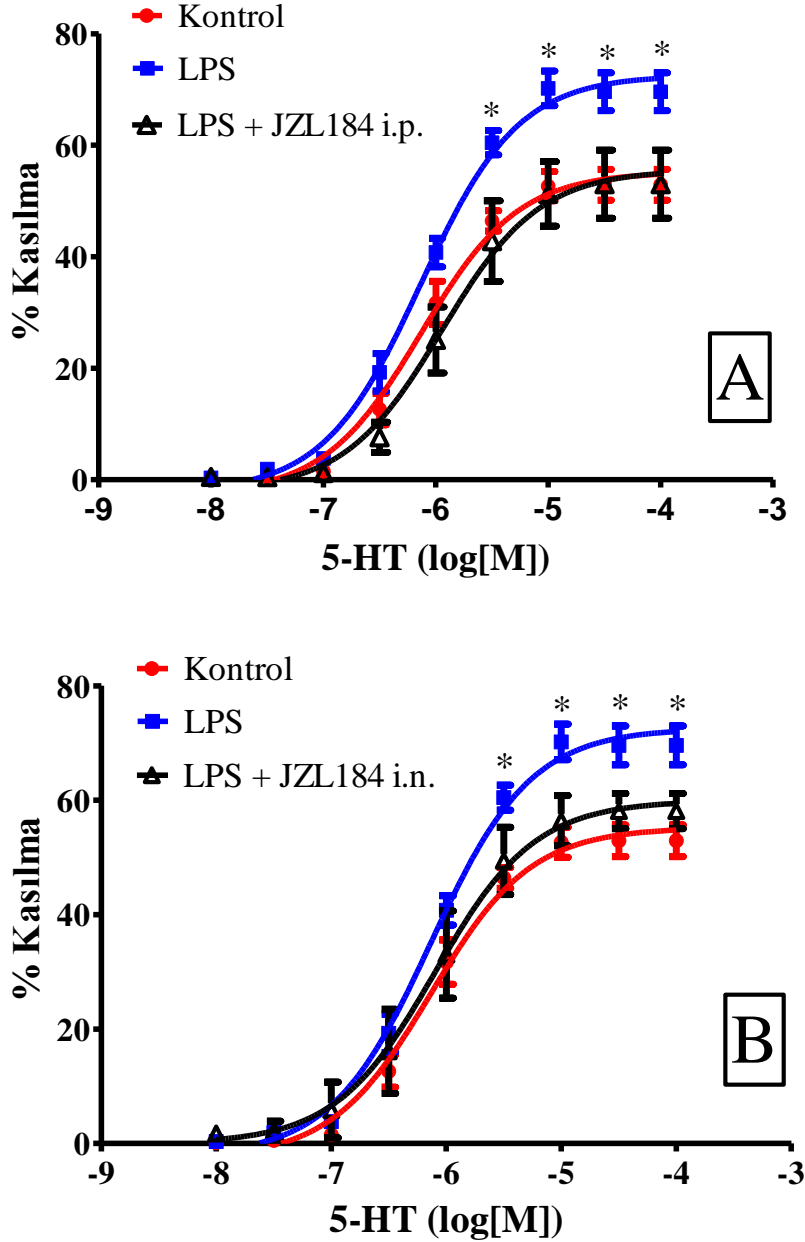
**Şekil.4.1:** Kontrol ( $n=6$ ) ve LPS (60  $\mu$ l; 0,1 mg/ml PBS içinde,  $n=6$ ) grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında karbakol (A) ve 5-HT (B) ile indüklenen kasılma yanıtları. (\*  $P < 0,05$ ; Kontrolden istatistiksel olarak farklı).

FAAH inhibitörü URB597 (0,3 mg/kg) ile farelerin sistemik (i.p.) ya da lokal olarak (i.n) tedavi edilmesi LPS grubunda gözlenen 5-HT yanıtındaki artışı engellemiştir ( $E_{maks}$  i.p.:  $48,83 \pm 6,42$ ,  $n=6$ ; i.n.:  $46,08 \pm 4,83$ ,  $n=5$ ) (Şekil.4.2A, 4.2B).



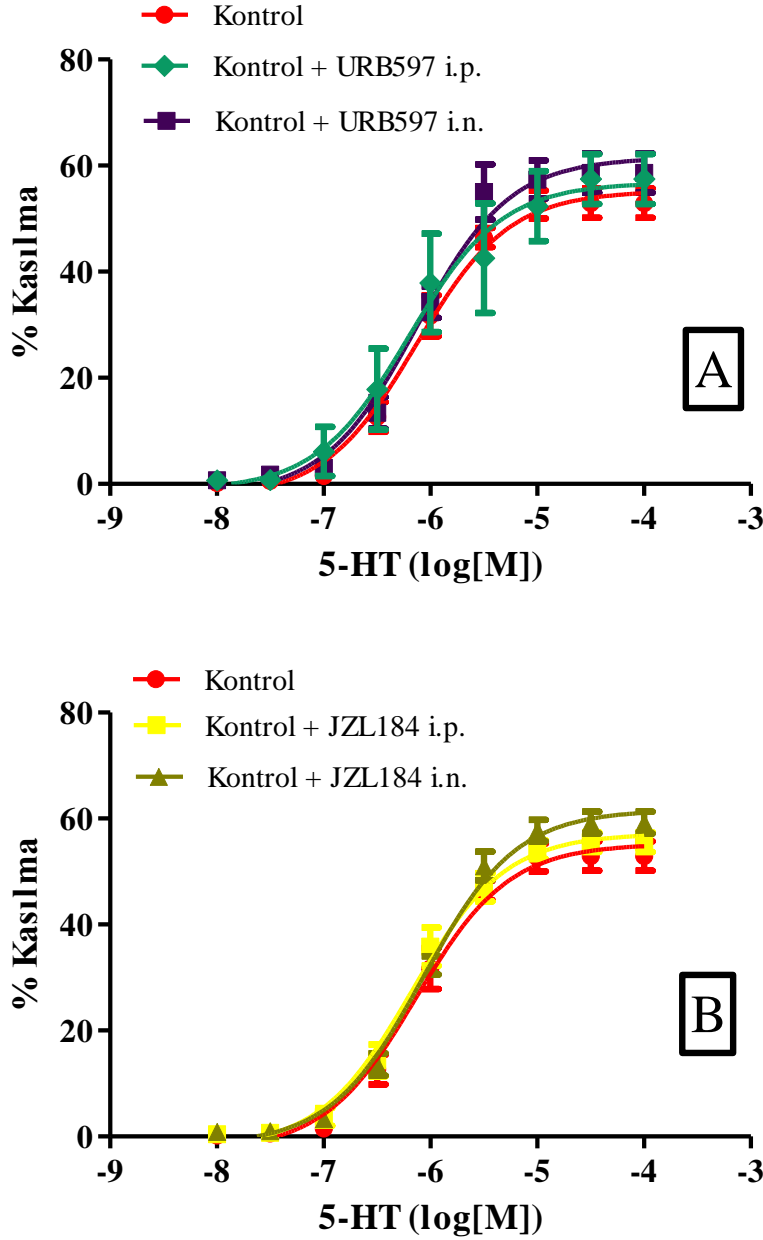
**Şekil.4.2:** Kontrol, LPS ve URB597 (0,3 mg/kg) ile i.p. ( $n=6$ ), (A) veya i.n. ( $n=5$ ), (B) tedavi edilen LPS grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları. (\*  $P < 0,05$ ; Kontrolten istatistiksel olarak farklı).

FAAH tedavisi ile benzer şekilde MAGL inhibitörü JZL184 tedavisi de gerek i.p. (5 mg/kg) gerek i.n. (1 mg/kg) uygulama sonrasında 5-HT yanıtlarında görülen artışı engellemiştir ( $E_{maks}$  i.p.:  $53,02 \pm 6,11$ ,  $n=6$ ; i.n.:  $58,1 \pm 3,08$ ,  $n=5$ ), ( $P < 0,05$ ) (Şekil.4.3A, 4.3B).



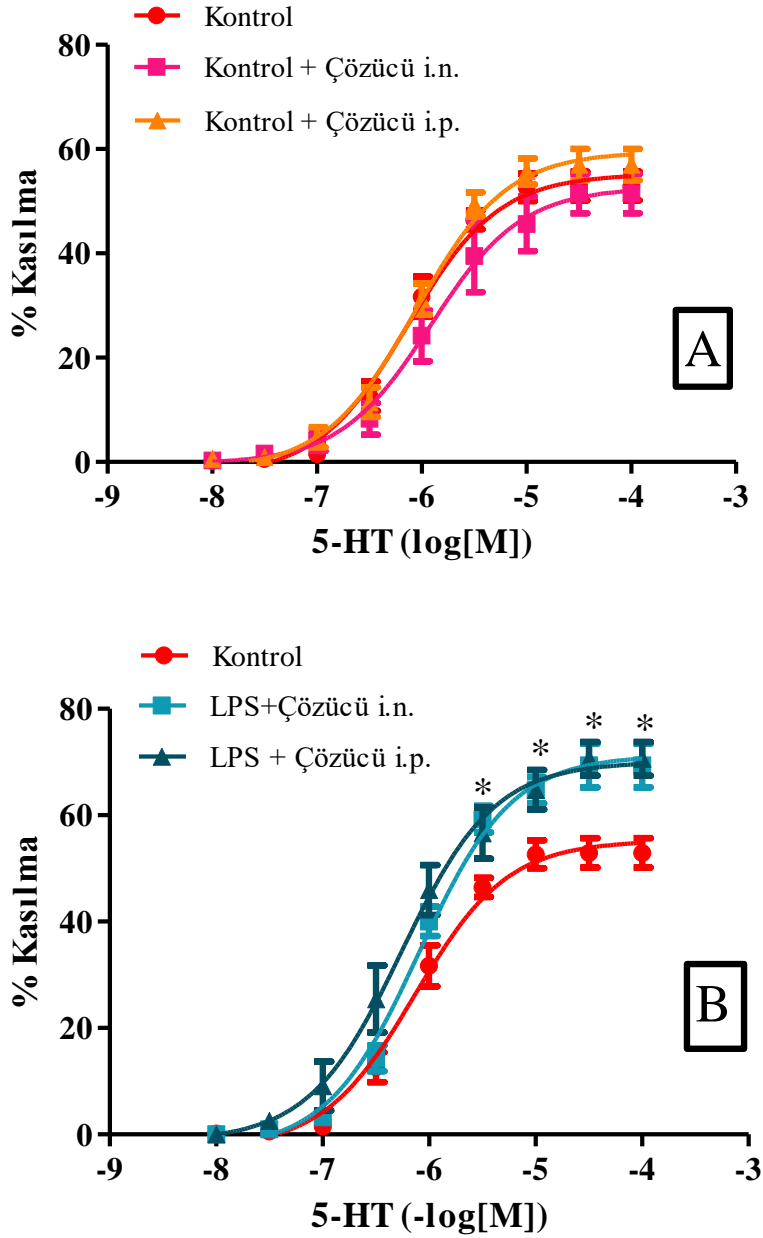
**Şekil.4.3:** Kontrol, LPS ve JZL184 ile i.p. (5 mg/kg,  $n=6$ ), (A) veya i.n. (1 mg/kg,  $n=5$ ), (B) tedavi edilen LPS grubu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları. (\*  $P < 0,05$ ; Kontrolten istatistiksel olarak farklı).

FAAH inhibitörü URB597'ün (0,3 mg/kg, n=5) ve MAGL inhibitörü JZL184'ün [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.), n=5] kontrol gruplarına gerek i.p. gerek i.n. uygulanması bu farelerin trakealarında 5-HT'ye verilen kasılma yanıtını değiştirmemiştir (Şekil.4.4. A, B).



**Şekil.4.4:** Kontrol farelere URB597 [(0,3 mg/kg) (i.p./i.n.)] (A) veya JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.)], (B) uygulamasının bu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi (n=5-6).

URB597 ve JZL184'ün çözücüsünün kontrol ve LPS gruplarına i.p. ya da i.n. uygulanması bu farelerin trakealarında 5-HT'ye verilen kasılma yanıtını değiştirmemiştir (Şekil.4.5. A, B).

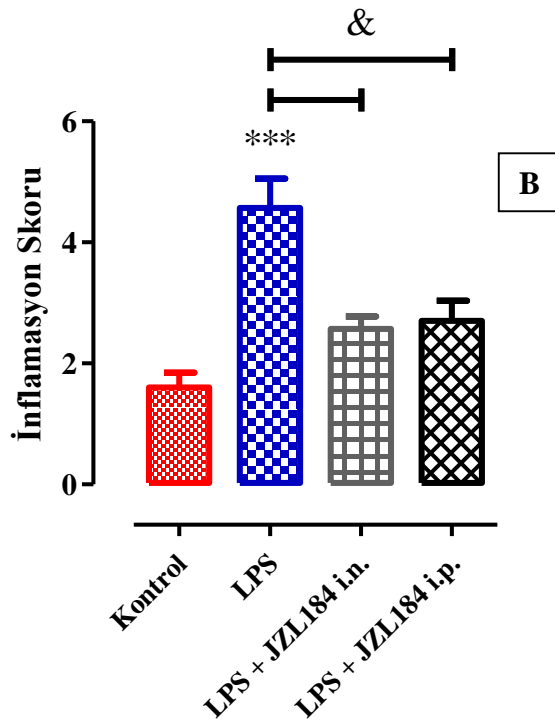
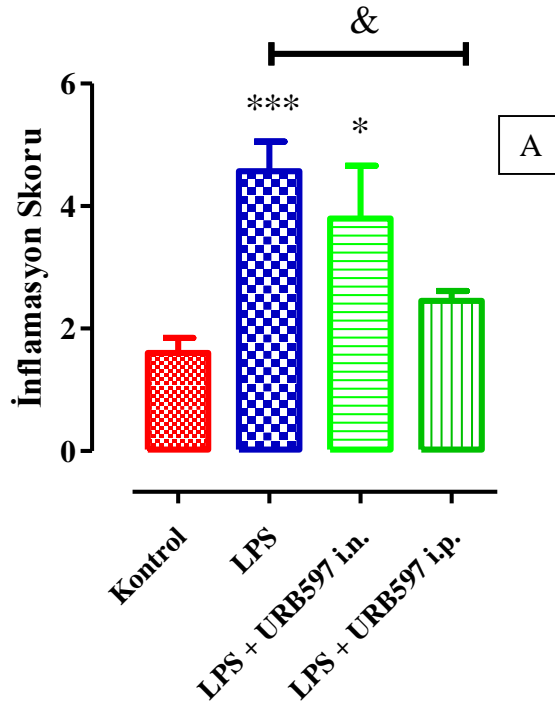


**Şekil.4.5:** Kontrol, (A) ve LPS (B) grubu farelere i.p. ya da i.n. çözücü uygulanmasının farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtları üzerine etkisi (\*  $P < 0,05$ ; Kontrolten istatistiksel olarak farklı) (n=5-6).

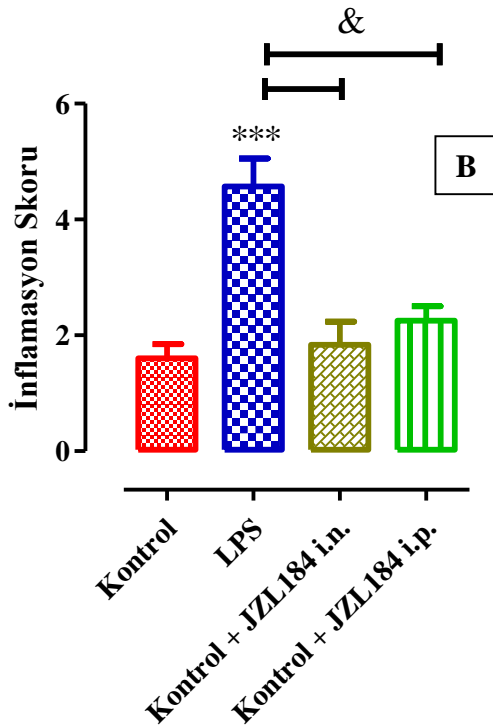
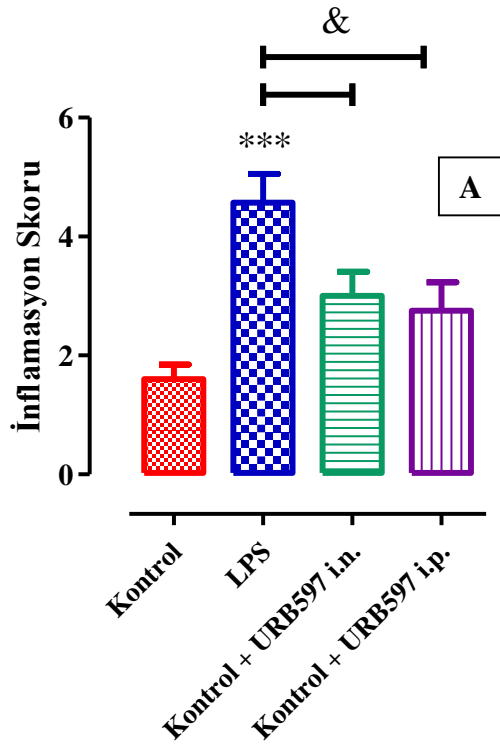


#### **4.2. FAAH ve MAGL İnhibitörü Tedavilerinin Solunum Yolu İnflamasyonu Üzerindeki Etkileri:**

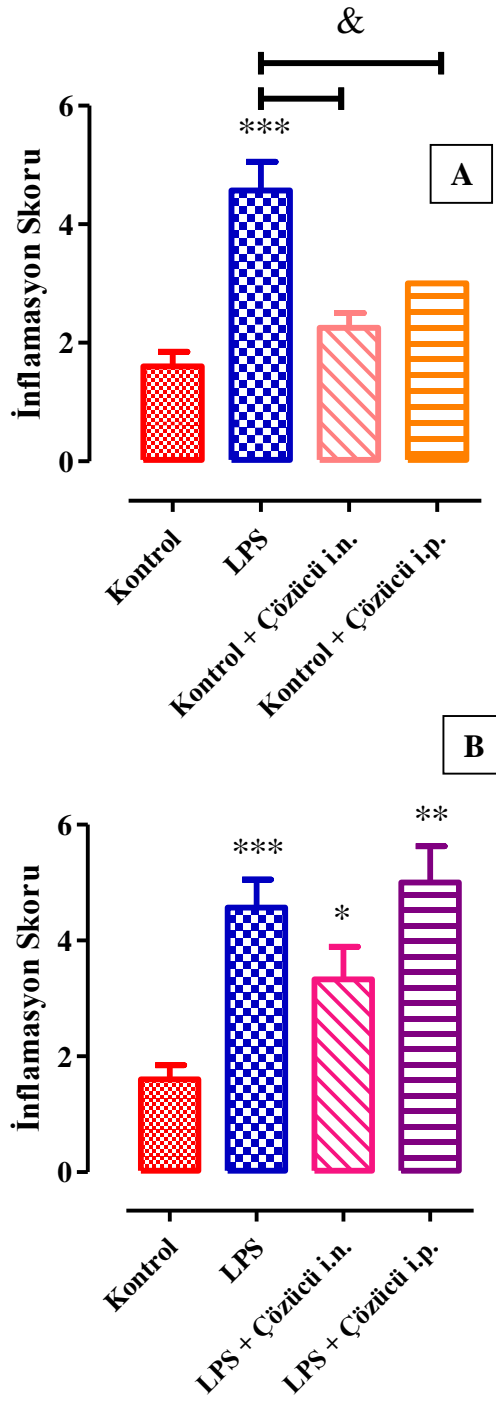
İ.n. LPS (60 µl; 0,1 mg/ml PBS içinde, n=6) uygulaması akciğerlerde parankima ve peribronşiyal bölgede inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterize inflamasyona neden olmuştur (Şekil.4.6 ve 4.8 B, G, H). Bu inflamasyon FAAH inhibitörü URB597 (0,3 mg/kg, n= 6) ile sistemik tedavi ile engellenirken, lokal i.n. tedavi ile önlenememiştir (Şekil.4.6A ve 4.9 E, F). MAGL inhibitörü JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.), n=6] tedavisi ise hem sistemik hem de lokal olarak uygulandığında inflamasyonu engellemiştir (Şekil.4.6B ve 4.9 C, D). Bu iki molekülün kontrol farelere aynı yollarla uygulanması inflamatuvar bir yanıt oluşturmamıştır (Şekil.4.9 A, B). URB597 ve JZL184 için kullanılan çözücünün de kontrol ve LPS grubu farelere i.p. ya da i.n. verilmesi herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil.4.8 ve 4.9 I, J).



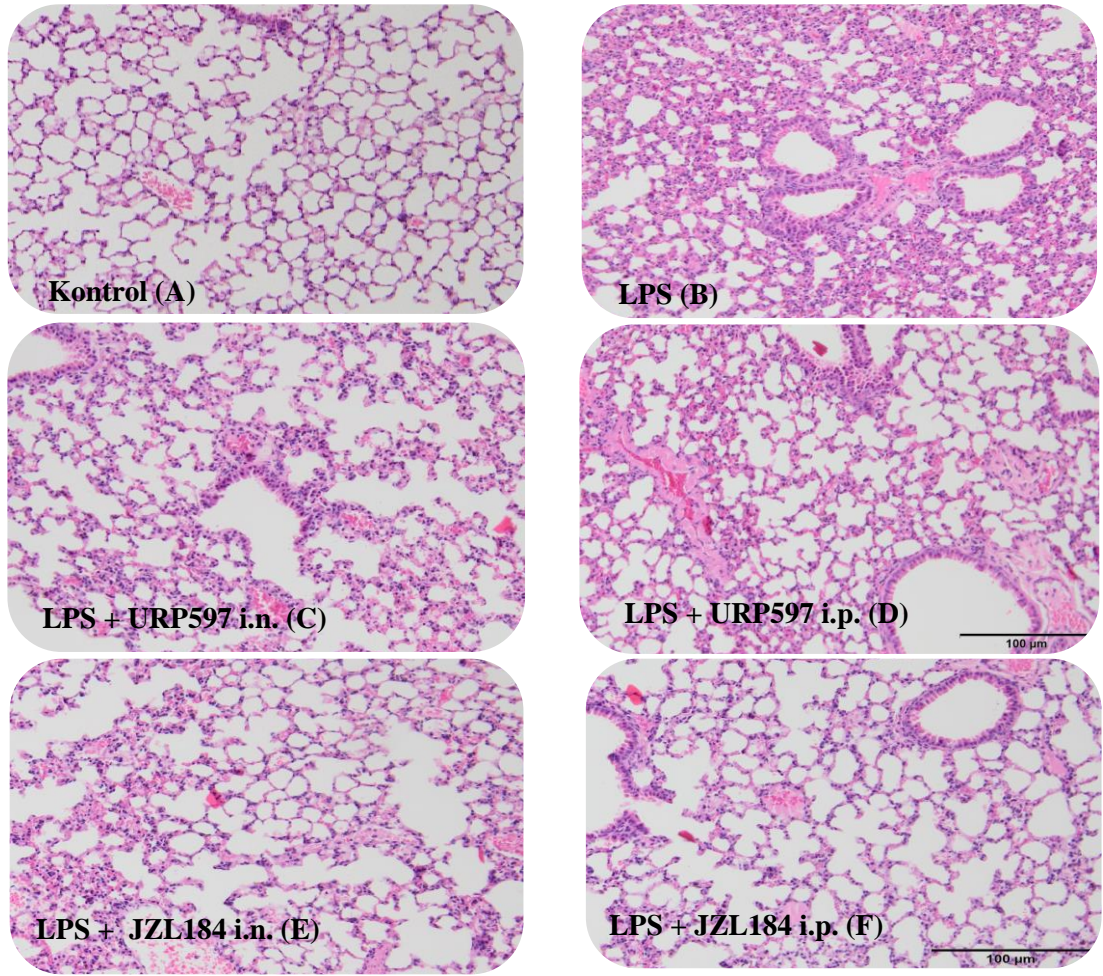
**Şekil.4.6:** URB597 (0,3 mg/kg, n= 6), (A) ve JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.), n=6], (B) tedavilerinin LPS (60 µl; 0,1 mg/ml PBS içinde, n=6) uygulanan farelere i.p. veya i.n. olarak verilmesinin akciğer inflamasyonu üzerine etkileri. (\*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,001$ ; Kontrolden istatistiksel olarak farklı) (&  $P < 0,05$ , LPS grubundan istatistiksel olarak farklı).



**Şekil.4.7:** URB597 (0.3 mg/kg, n= 6), (A) ve JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.), n=6], (B) tedavilerinin kontrol farelere i.p. veya i.n. olarak verilmesinin akciğer inflamasyonu üzerine etkileri. (\*\*\*)  $P < 0,001$ ; Kontrolden istatistiksel olarak farklı). (&  $P < 0,05$ , LPS grubundan istatistiksel olarak farklı).



**Şekil.4.8:** Kontrol (n=6), (A) ve LPS (n=6), (B) grubu farelere i.p. ya da i.n. çözücü uygulanmasının akciğer inflamasyonu üzerine etkileri (\*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ ; Kontrolten istatistiksel olarak farklı). (&  $P < 0,05$ , LPS grubundan istatistiksel olarak farklı).



**Şekil.4.9:** Kontrol (A), LPS (B), LPS + URB597 i.n. (C), LPS + URB597 i.p. (D), LPS + JZL184 i.n. (E), LPS + JZL184 i.p. (F) gruplarından hazırlanmış olan H&E ile boyanmış histopatolojik örneklere ait fotoğraflar.

**Tablo 4.1:** Deney gruplarında solunum yolu inflamasyon skorları

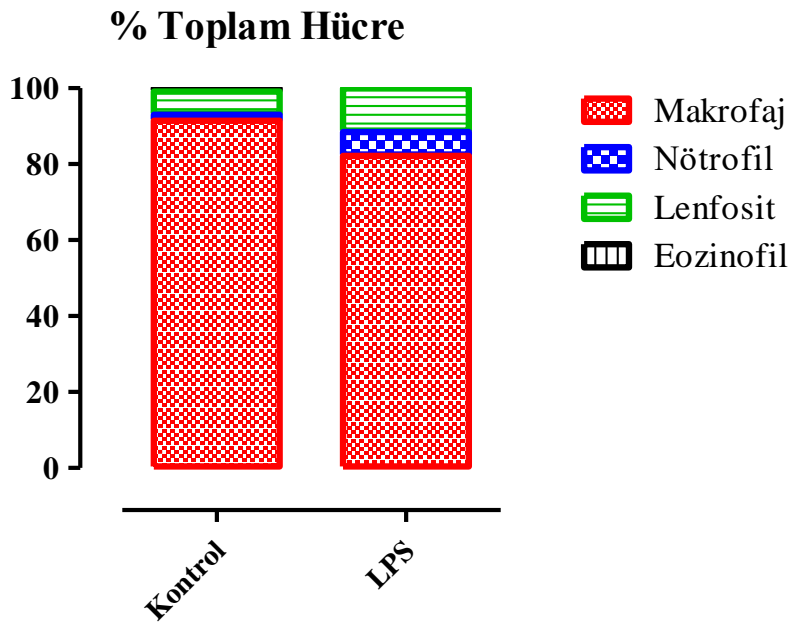
<b>Grup</b>	<b>Ortalama <math>\pm</math> SEM</b>
Kontrol	1,6 $\pm$ 0,245
LPS	4,57 $\pm$ 0,481
LPS + URB597 i.n.	3,8 $\pm$ 0,86
LPS + URB597 i.p.	2,455 $\pm$ 0,158
LPS + JZL184 i.n.	2,57 $\pm$ 0,2
LPS + JZL184 i.p.	2,7 $\pm$ 0,335
LPS + Çözücü i.n.	3,33 $\pm$ 0,558
LPS + Çözücü i.p.	5,0 $\pm$ 0,63
Kontrol + URB597 i.n.	3,0 $\pm$ 0,20
Kontrol + URB597 i.p.	2,75 $\pm$ 0,479
Kontrol + JZL184 i.n.	1,33 $\pm$ 0,667
Kontrol + JZL184 i.p.	2,25 $\pm$ 0,25
Kontrol + Çözücü i.n.	2,25 $\pm$ 0,25
Kontrol + Çözücü i.p.	3,0 $\pm$ 0

### 4.3. FAAH ve MAGL İnhibitörü Tedavilerinin BAL Sıvısındaki Nötrofil Sayıları Üzerindeki Etkileri

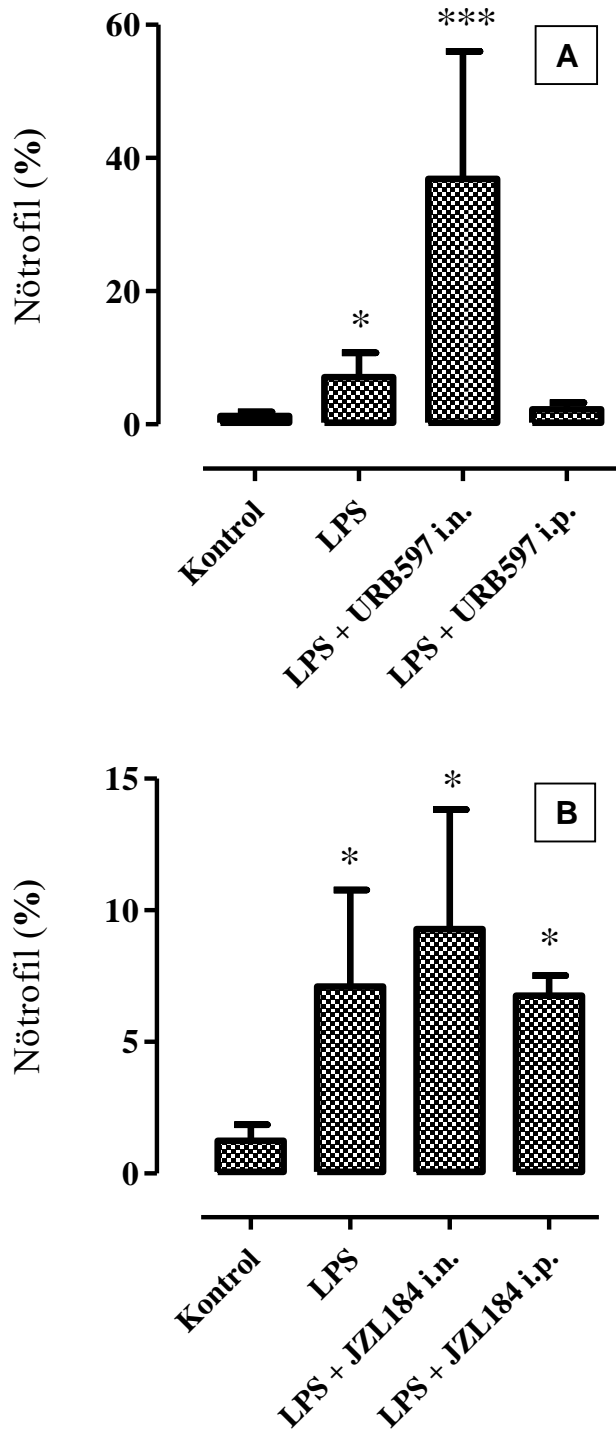
LPS uygulanan farelerden izole edilen BAL sıvılarındaki nötrofil sayısının yüzdesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil.4.10). URB597 tedavisi i.p. olarak uygulandığında bu artışı engellerken, i.n. olarak uygulandığında daha da kötüleştirmiştir (Şekil.4.11A). JZL184 tedavisi ise BAL sıvısındaki nötrofil artışını etkilememiştir (Şekil.4.11B) ve (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2:** LPS ve kontrol grubu farelerden izole edilen BAL sıvılarındaki hücre sayılarının oranları.

n=4	Makrofaj % (Ortalama+ SEM)	Nötrofil % (Ortalama + SEM)	Lenfosit % (Ortalama + SEM)	Eozinofil % (Ortalama + SEM)
Kontrol	91,48±1,765	1,52±0,615	6,09±1,182	0,91±0,2325
LPS	80,27±6,737	7,110±3,661	12,51±3,055	0,1100±0,11



**Şekil.4.10:** LPS ve kontrol (n=4) grubu farelerden izole edilen BAL sıvılarındaki hücre sayılarının oranları.



**Şekil.4.11:** URB597 (0,3 mg/kg, n=6), (A) ve JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.), n=6], (B) tedavilerinin farelere i.n. veya i.p. olarak verilmesinin BAL'daki nötrofil sayısı üzerindeki etkileri. (\*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,001$ ; Kontrolten istatistiksel olarak farklı).



## 5.TARTIŞMA

Solunum yolu inflamasyonu astım, KOAH gibi birçok solunum yolu hastalığının patofizyolojisinde yer almakta ve hastalığın seyri, semptomları ve tedavi stratejileri için önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle inflamatuvar solunum yolu hastalıklarının tedavisinde inflamasyonun baskılanması ya da ortadan kaldırılması ile hastalığın şiddeti azalmakta ve hastaların yaşam kaliteleri artmaktadır. Ancak mevcut durumda bu amaçla kullanılan kortikosteroidler dışında onlar kadar etkili başka bir alternatif bulunmamaktadır. Kannabinoidlerin immün sistem üzerindeki modülatör etkileri ve buna bağlı olarak oluşturdukları antiinflamatuvar etki bu bileşiklerin birçok inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılabileceklerine işaret etmektedir. Solunum yollarında da kannabinoidlerin antiinflamatuvar etkili olduklarını (7, 10, 12, 85) ve bronkokonstriksiyonu engelleyebildiklerini gösteren çalışmalar (5, 6, 83) bu bileşiklerin endojen türevleri olan endokannabinoidlerin solunum yolu inflamasyonunda önemli tedavi hedefi olabileceklerini düşündürmektedir. Bu amaçla bu tez çalışmasında solunum yollarına lokal olarak uygulanan LPS ile oluşturulan deneysel solunum yolu inflamasyonu üzerine endokannabinoidlerin metabolizmasından birincil olarak sorumlu olan FAAH ve MAGL enzimlerinin inhibitörlerinin etkileri incelenmiştir.

Bilindiği üzere LPS lokal ya da sistemik inflamatuvar yanıt oluşturmak amacı ile deneysel olarak sıklıkla kullanılan bir moleküldür. LPS, çoğu gram negatif bakterinin dış membranında bulunan glukozamin yapıda bir fosfolipittir (86). LPS'in solunum yollarına lokal ya da sistemik olarak uygulanması fare solunum yollarında nötrofilik inflamasyon ve hiperreaktivite oluşturmaktadır (87). Bu şekilde oluşan inflamasyon akciğerlerde peribronşiyal bölgede ve parankimada hücre infiltrasyonu ve BAL sıvısı örneklerinde artmış nötrofil sayısı ile karakterizedir (87). LPS uygulamasına bağlı olarak gelişen hiperreaktivite ise *in vivo* solunum yolu fonksiyonu ölçümlerinde metakoline karşı artmış havayolu direnci, *in vitro* trakeal reaktivite ölçümlerinde ise 5-HT'ye karşı artmış kasılma yanıtı olarak gözlenmektedir (87, 88). Bu çalışmada da farelere i.n. LPS uygulaması (60 µl; 0,1 mg/ml PBS içinde, n=6) bu farelerden izole edilen trakea halka preparatlarında 5-HT ile indüklenen kasılma yanıtlarında artışa neden olmuştur. 5-HT farelerde solunum yolu reaktivitesinin değerlendirilmesinde önemli bir mediatördür. Farelerde yapılan çalışmalarda

genellikle hiperreaktivite geliştiğini göstermek için 5-HT yanıtındaki artış değerlendirilmekte ve fare trakeasında 5-HT'ye karşı artmış olan yanıt trakeal hiperreaktivitenin de bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (81, 82, 88, 89). Farelerin solunum yollarında 5-HT hem düz kas üzerinde bulunan 5-HT<sub>2A</sub> reseptörleri aracılığı ile kendi direkt etkisi hem de kolinerjik sinir ucundaki 5-HT<sub>2A</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri aracılığı ile bu sinirlerden asetilkolin salıverilmesine neden olarak indirekt etki ile kasılma yanıtı oluşturmaktadır (89). Bu çalışmada FAAH veya MAGL enzimlerinin inhibitörleri ile tedavinin etkileri ilk olarak LPS uygulaması sonucu gelişen 5-HT hiperreaktivitesi üzerinde incelenmiştir. Bu inhibitörler ile tedavi hem sistemik hem de lokal olarak solunum yollarına yapılmıştır. Hem FAAH inhibitörü URB597 (0,3 mg/kg), hem de MAGL inhibitörü JZL184 [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.)] tedavisi izole fare trakealarında gözlenen 5-HT'ye karşı gelişen hiperreaktiviteyi engellemiştir. Bu bulgular FAAH ve MAGL inhibitörleri kullanılarak farelerin solunum yollarında endokannabinoid düzeylerinin artırılmasının inflamasyona bağlı solunum yolu hiperreaktivitesini düzeltebileceğini düşündürmektedir. FAAH ve MAGL inhibitörü tedavisi ile hiperreaktivitenin düzelmesi akciğerlerde artmış olan endokannabinoid düzeylerine bağlı olarak bu bileşiklerin daha önceki çalışmalarda gösterildiği gibi nöronal asetilkolin salıverilmesini inhibe ederek (81, 82, 89, 90) ya da inflamatuvar sitokinlerin sentezini azaltarak inflamatuvar yanıt üzerindeki inhibe edici etkilerine (7, 12) bağlı olarak düzelmiş olabilir. Kannabinoidlerin bronş hiperreaktivitesi üzerindeki etkileri ile ilgili olarak daha önceki çalışmalarda, sentetik ligandların inflamasyona bağlı hiperreaktiviteyi engelledikleri hem fare hem de insanlardan elde edilen trakea dokularında gösterilmiştir (81, 82, 90).

FAAH ve MAGL inhibitörlerinin inflamasyon üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile farelerden izole edilen akciğer doku örneklerinden hazırlanan preparatlar histopatolojik olarak skorlanmış ve bu farelerden izole edilen BAL örneklerinde inflamatuvar hücre sayımı yapılmıştır. LPS uygulaması fare akciğerlerinde peribronşiyal bölgede ve parankimada hücre infiltrasyonu ve buna bağlı olarak da kontrole göre artmış bir patolojik skor oluşturmuştur. Benzer şekilde LPS uygulaması BAL örneklerinde de nötrofil sayısında artışa neden olmuştur. LPS uygulamasından önce i.p. olarak FAAH inhibitörü URB597 uygulanması (0,3 mg/kg) yukarıda

belirtilen histopatolojik değişiklikleri engellerken, i.n. olarak lokal uygulanması etkisiz bulunmuştur. BAL'da artmış nötrofil sayıları açısından değerlendirildiğinde ise i.p uygulama nötrofil sayısını azaltırken, i.n. uygulama nötrofil sayısını daha da artırmıştır. URB597 kontrol farelere uygulandığında ise her iki uygulama yolu ile de histopatolojik skorda bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu bulgular FAAH inhibisyonunun solunum yolu hiperreaktivitesini düzeltmesine rağmen özellikle lokal uygulamada inflamasyonu daha da kötüleştirebileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan insanlarda yapılan bir çalışmada astım hastalarına alerjen uygulanması sonucunda BAL sıvısı örneklerinde AEA miktarının arttığı gösterilmiştir (84). Bu sonuç bulgularımızla birlikte değerlendirildiğinde AEA'nın ya da FAAH tarafından metabolize edilen diğer endokannabinoidlerin solunum yolu hiperreaktivitesi için koruyucu etkilerinin yanı sıra inflamasyona bağlı patolojik süreci şiddetlendirebileceği ihtimalini de düşündürmektedir. LPS uygulamasından önce MAGL inhibitörü JZL184'ün [1 mg/kg (i.n.), 5 mg/kg (i.p.)] hem i.p. hem de i.n. uygulanması LPS ile indüklenen histopatolojik değişiklikleri engellerken, BAL'daki nötrofil artışı üzerine etkisiz bulunmuştur. Bu bulgular MAGL inhibisyonunun akciğerlerde peribronşiyal bölgede ve parankimada inflamasyonu azaltabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda Costola-de-Souza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da JZL184 tedavisinin akciğerlerde inflamatuvar belirteçleri azaltabildiği gösterilmiştir (91). Diğer taraftan bu tedavinin BAL'daki artmış olan nötrofil sayısı üzerine etkisiz olması MAGL inhibisyonunun inflamasyon üzerindeki etkilerinin yetersiz olabileceğini düşündürmektedir.

FAAH ve MAGL enzimleri sırasıyla birincil olarak AEA ve 2-AG metabolizmasından sorumlu olsa da, bu iki enzim hem AEA, hem de 2-AG'nin metabolizmasına da katkıda bulunmaktadır (92, 93). Bununla birlikte bu enzimler araşidonik asit yolağında bulunan birçok lipid yapıdaki molekülün metabolizmasında da rol oynamaktadır (94). Bu nedenle bu enzimlerin inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda FAAH ve MAGL yolakları tarafından sentezleri ya da metabolizmaları etkilenebilecek diğer lipid yapıdaki metabolitlerin ve siklooksijenaz-II ürünlerinin de olası etkilerini göz önünde bulundurmak gerekir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kannabinoidlerin solunum yolu inflamasyonu üzerindeki etkileri farklı çalışmalarda incelenmiş olmasına rağmen bu çalışmaların sayısı oldukça azdır. Bunun yanı sıra bu çalışmalarda genellikle solunum yolu inflamasyonu üzerindeki etkiler incelenmiş olup, kannabinoidlerin inflamasyonda oluşan solunum yolu fonksiyonlarındaki değişiklikler üzerine etkileri ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Konu ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda kannabinoid CB<sub>1</sub> reseptörlerinin aktive edilmesinin inflamasyona bağlı gelişen hiperreaktiviteyi engelleyebileceği gösterilmiştir. Ancak endokannabinoidlerin inflamasyon ve ona bağlı olarak gelişen solunum yolu hiperreaktivitesi üzerindeki etkileri ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızdan elde edilen veriler FAAH ve MAGL enzim inhibitörlerinin solunum yolu hiperreaktivitesinde koruyucu etkili olabileceklerine işaret etmektedir. Ancak gerek FAAH inhibitörünün lokal olarak uygulanması sonucu inflamasyon parametrelerini düzeltmemesi hatta daha da şiddetlendirme ihtimali, gerek MAGL inhibitörünün antiinflamatuvar etkisinin kısıtlılığı bu tür bileşiklerin özellikle kronik inflamatuvar solunum yolu hastalıklarında kullanılabilmesi ile ilgili olarak daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğunu düşündürmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *The American review of respiratory disease*. 1989;139(3):806-17.
2. Di Marzo V, Fontana A. Anandamide, an endogenous cannabinomimetic eicosanoid: 'killing two birds with one stone'. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 1995;53(1):1-11.
3. Stefano GB, Liu Y, Goligorsky MS. Cannabinoid receptors are coupled to nitric oxide release in invertebrate immunocytes, microglia, and human monocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(32):19238-42.
4. Hartley JP, Nogrady SG, Seaton A. Bronchodilator effect of delta1-tetrahydrocannabinol. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1978;5(6):523-5.
5. Tashkin DP, Shapiro BJ, Lee YE, Harper CE. Effects of smoked marijuana in experimentally induced asthma. *The American review of respiratory disease*. 1975;112(3):377-86.
6. Vachon L, FitzGerald MX, Solliday NH, Gould IA, Gaensler EA. Single-dose effects of marijuana smoke. Bronchial dynamics and respiratory-center sensitivity in normal subjects. *The New England journal of medicine*. 1973;288(19):985-9.
7. Braun A, Engel T, Aguilar-Pimentel JA, Zimmer A, Jakob T, Behrendt H, et al. Beneficial effects of cannabinoids (CB) in a murine model of allergen-induced airway inflammation: role of CB1/CB2 receptors. *Immunobiology*. 2011;216(4):466-76.
8. Gkoumassi E, Dekkers BGJ, Dröge MJ, Elzinga CRS, Schmidt M, Meurs H, et al. Virodhamine and CP55,940 modulate cAMP production and IL-8 release in human bronchial epithelial cells. *British Journal of Pharmacology*. 2007;151(7):1041-8.
9. Burstein SH, Zurier RB. Cannabinoids, Endocannabinoids, and Related Analogs in Inflammation. *The AAPS Journal*. 2009;11(1):109.

10. Jan TR, Rao GK, Kaminski NE. Cannabinol enhancement of interleukin-2 (IL-2) expression by T cells is associated with an increase in IL-2 distal nuclear factor of activated T cell activity. *Molecular pharmacology*. 2002;61(2):446-54.
11. Yea SS, Yang KH, Kaminski NE. Role of nuclear factor of activated T-cells and activator protein-1 in the inhibition of interleukin-2 gene transcription by cannabinol in EL4 T-cells. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2000;292(2):597-605.
12. Jan T-R, Farraj AK, Harkema JR, Kaminski NE. Attenuation of the ovalbumin-induced allergic airway response by cannabinoid treatment in A/J mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003;188(1):24-35.
13. Spicuzza L, Haddad E-B, Birrell M, Ling A, Clarke D, Venkatesan P, et al. Characterization of the effects of cannabinoids on guinea-pig tracheal smooth muscle tone: role in the modulation of acetylcholine release from parasympathetic nerves. *British Journal of Pharmacology*. 2000;130(7):1720-6.
14. Marieb E.N. HK. *Human Anatomy & Physiology*: Pearson Benjamin Cummings; 2007.
15. Scanlon VC. ST. *Understanding Human Structure and Function*: FA Davis, Philadelphia; 2007 2007.
16. Sahin-Yilmaz A, Naclerio RM. Anatomy and physiology of the upper airway. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011;8(1):31-9.
17. RESPIRATORY SYSTEM ANATOMY AND PHYSIOLOGY REVIEW RESPIRATORY SYSTEM DISEASES AND DISORDERS [Available from: <http://body-disease.com/respiratory-system-anatomy-and-physiology-review/>].
18. Van Scott MR, Chandler J, Olmstead S, Brown JM, Mannie M. Airway Anatomy, Physiology, and Inflammation. In: Meggs WJ, editor. *The Toxicant Induction of Irritant Asthma, Rhinitis, and Related Conditions*. Boston, MA: Springer US; 2013. p. 19-61.
19. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacological reviews*. 1998;50(4):515-96.

20. Drazen JM. Leukotrienes as Mediators of Airway Obstruction. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;158(supplement\_2):S193-S200.
21. De Monchy JG, Kauffman HF, Venge P, Koeter GH, Jansen HM, Sluiter HJ, et al. Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. *The American review of respiratory disease*. 1985;131(3):373-6.
22. Lemanske RF, Jr. Mechanisms of Airway Inflammation. *Chest*. 1992;101(6):372S-7S.
23. Janssen LJ, Killian K. Airway smooth muscle as a target of asthma therapy: history and new directions. *Respiratory research*. 2006;7:123.
24. Howarth PH, Knox AJ, Amrani Y, Tliba O, Panettieri RA, Jr., Johnson M. Synthetic responses in airway smooth muscle. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2004;114(2 Suppl):S32-50.
25. Pang L, Knox AJ. Effect of interleukin-1 beta, tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma on the induction of cyclo-oxygenase-2 in cultured human airway smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*. 1997;121(3):579-87.
26. O'Byrne PM, Inman MD. Airway hyperresponsiveness. *Chest*. 2003;123(3 Suppl):411s-6s.
27. Cockcroft DW, Davis BE. Mechanisms of airway hyperresponsiveness. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006;118(3):551-9; quiz 60-1.
28. Pryor WA, Wu M. Ozonation of methyl oleate in hexane, in a thin film, in SDS micelles, and in distearoylphosphatidylcholine liposomes: yields and properties of the Criegee ozonide. *Chemical research in toxicology*. 1992;5(4):505-11.
29. Dunnill MS, Massarella GR, Anderson JA. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis, and in emphysema. *Thorax*. 1969;24(2):176-9.
30. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *The American review of respiratory disease*. 1989;140(6):1745-53.

31. Metzger WJ, Hunninghake GW, Richerson HB. Late asthmatic responses: Inquiry into mechanisms and significance. *Clinical Reviews in Allergy*. 1985;3(2):145-65.
32. Canonica GW. Treating asthma as an inflammatory disease. *Chest*. 2006;130(1 Suppl):21s-8s.
33. Filip M, Bader M. Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological reports : PR*. 2009;61(5):761-77.
34. Gershon MD, Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*. 2007;132(1):397-414.
35. Córdoba-Rodríguez G, Vargas MH, Ruiz V, Carbajal V, Campos-Bedolla P, Mercadillo-Herrera P, et al. Allergic sensitization modifies the pulmonary expression of 5-hydroxytryptamine receptors in guinea pigs. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2016;223:9-15.
36. Cazzola I, Matera MG. 5-HT modifiers as a potential treatment of asthma. *Trends in pharmacological sciences*. 2000;21(1):13-6.
37. Larsson-Callerfelt AK, Dahlen SE, Kuhl AR, Lex D, Uhlig S, Martin C. Modulation of antigen-induced responses by serotonin and prostaglandin E2 via EP1 and EP4 receptors in the peripheral rat lung. *Eur J Pharmacol*. 2013;699(1-3):141-9.
38. A. WL, C. MA, Sonya M, J. UB. Mast cell-cholinergic nerve interaction in mouse airways. *The Journal of Physiology*. 2009;587(13):3355-62.
39. Eum S-Y, Norel X, Lefort J, Labat C, Vargaftig BB, Brink C. Anaphylactic bronchoconstriction in BP2 mice: interactions between serotonin and acetylcholine. *British Journal of Pharmacology*. 1999;126(1):312-6.
40. Moffatt JD, Cocks TM, Page CP. Role of the epithelium and acetylcholine in mediating the contraction to 5-hydroxytryptamine in the mouse isolated trachea. *British Journal of Pharmacology*. 2004;141(7):1159-66.



41. Takahashi T, Ward JK, Tadjkarimi S, Yacoub MH, Barnes PJ, Belvisi MG. 5-Hydroxytryptamine facilitates cholinergic bronchoconstriction in human and guinea pig airways. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1995;152(1):377-80.
42. Lechin F, van der Dijs B, Orozco B, Lechin M, Lechin AE. Increased levels of free serotonin in plasma of symptomatic asthmatic patients. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 1996;77(3):245-53.
43. Lau WK, Chan-Yeung MM, Yip BH, Cheung AH, Ip MS, Mak JC. The role of circulating serotonin in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *PloS one*. 2012;7(2):e31617.
44. Dupont LL, Bracke KR, De Maeyer JH, Compan V, Joos GF, Lefebvre RA, et al. Investigation of 5-HT<sub>4</sub> receptors in bronchial hyperresponsiveness in cigarette smoke-exposed mice. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2014;28(1):60-7.
45. Howlett AC, Mukhopadhyay S. Cellular signal transduction by anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Chemistry and physics of lipids*. 2000;108(1-2):53-70.
46. Devane WA, Dysarz FA, 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology*. 1988;34(5):605-13.
47. Bouaboula M, Rinaldi M, Carayon P, Carillon C, Delpech B, Shire D, et al. Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *European journal of biochemistry*. 1993;214(1):173-80.
48. Howlett AC. The cannabinoid receptors. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2002;68-69:619-31.
49. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological reviews*. 2002;54(2):161-202.
50. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong J-P, Patel S, Meozzi PA, Myers L, et al. FUNCTIONAL EXPRESSION OF BRAIN NEURONAL CB<sub>2</sub> CANNABINOID RECEPTORS ARE INVOLVED IN THE EFFECTS OF DRUGS OF ABUSE AND

IN DEPRESSION. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1139:434-49.

51. Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A, et al. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain research*. 2006;1071(1):10-23.

52. Ofek O, Karsak M, Leclerc N, Fogel M, Frenkel B, Wright K, et al. Peripheral cannabinoid receptor, CB2, regulates bone mass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(3):696-701.

53. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science (New York, NY)*. 1992;258(5090):1946-9.

54. Izzo AA, Camilleri M. Emerging role of cannabinoids in gastrointestinal and liver diseases: basic and clinical aspects. *Gut*. 2008;57(8):1140-55.

55. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994;372(6507):686-91.

56. Nagarkatti P, Pandey R, Rieder SA, Hegde VL, Nagarkatti M. Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. *Future medicinal chemistry*. 2009;1(7):1333-49.

57. Rodriguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermudez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*. 2005;40(1):2-14.

58. Simon GM, Cravatt BF. Endocannabinoid biosynthesis proceeding through glycerophospho-N-acyl ethanolamine and a role for alpha/beta-hydrolase 4 in this pathway. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(36):26465-72.

59. Zhang J, Wang L, Harvey-White J, Osei-Hyiaman D, Razdan R, Gong Q, et al. A biosynthetic pathway for anandamide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006. 13345-50 p.

60. Schlosburg JE, Kinsey SG, Lichtman AH. Targeting fatty acid amide hydrolase (FAAH) to treat pain and inflammation. *Aaps j*. 2009;11(1):39-44.

61. Deutsch DG, Ueda N, Yamamoto S. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 2002;66(2-3):201-10.
62. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002;99(16):10819-24.
63. Ueda N, Tsuboi K, Lambert DM. A second N-acyl ethanolamine hydrolase in mammalian tissues. Neuropharmacology. 2005;48(8):1079-85.
64. Cravatt BF, Giang DK, Mayfield SP, Boger DL, Lerner RA, Gilula NB. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. Nature. 1996;384(6604):83-7.
65. Berdyshev EV. Cannabinoid receptors and the regulation of immune response. Chemistry and physics of lipids. 2000;108(1-2):169-90.
66. Hampson RE, Deadwyler SA. Cannabinoids, hippocampal function and memory. Life sciences. 1999;65(6-7):715-23.
67. Heyser CJ, Hampson RE, Deadwyler SA. Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol on delayed match to sample performance in rats: alterations in short-term memory associated with changes in task specific firing of hippocampal cells. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 1993;264(1):294-307.
68. Grotenhermen F. Pharmacology of cannabinoids. Neuro endocrinology letters. 2004;25(1-2):14-23.
69. Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. Pharmacological reviews. 1986;38(2):151-78.
70. Baker D, Pryce G, Giovannoni G, Thompson AJ. The therapeutic potential of cannabis. The Lancet Neurology. 2003;2(5):291-8.
71. Fan P. Cannabinoid agonists inhibit the activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat nodose ganglion neurons. Journal of neurophysiology. 1995;73(2):907-10.

72. Tashkin DP, Levisman JA, Abbasi AS, Shapiro BJ, Ellis NM. Short-term effects of smoked marihuana on left ventricular function in man. *Chest*. 1977;72(1):20-6.
73. Szabo B, Nordheim U, Niederhoffer N. Effects of cannabinoids on sympathetic and parasympathetic neuroeffector transmission in the rabbit heart. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2001;297(2):819-26.
74. Benowitz NL, Jones RT. Cardiovascular effects of prolonged delta-9-tetrahydrocannabinol ingestion. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1975;18(3):287-97.
75. Lake KD, Compton DR, Varga K, Martin BR, Kunos G. Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1997;281(3):1030-7.
76. Wagner JA, Jarai Z, Batkai S, Kunos G. Hemodynamic effects of cannabinoids: coronary and cerebral vasodilation mediated by cannabinoid CB(1) receptors. *Eur J Pharmacol*. 2001;423(2-3):203-10.
77. Wagner JA, Varga K, Kunos G. Cardiovascular actions of cannabinoids and their generation during shock. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 1998;76(12):824-36.
78. Yuan M, Kiertscher SM, Cheng Q, Zoumalan R, Tashkin DP, Roth MD. Delta 9-Tetrahydrocannabinol regulates Th1/Th2 cytokine balance in activated human T cells. *Journal of neuroimmunology*. 2002;133(1-2):124-31.
79. Grundy RI. The therapeutic potential of the cannabinoids in neuroprotection. *Expert opinion on investigational drugs*. 2002;11(10):1365-74.
80. Yousif MH, Oriowo MA. Inhibitory effects of cannabinoid receptor ligands on electrically-evoked responses in rat isolated tracheal ring segments. *Pharmacological research*. 1999;40(5):415-21.
81. Bozkurt TE, Kaya Y, Durlu-Kandilci NT, Onder S, Sahin-Erdemli I. The effect of cannabinoids on dinitrofluorobenzene-induced experimental asthma in mice. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2016;231:7-13.

82. Bozkurt TE, Larsson O, Adner M. Stimulation of cannabinoid CB1 receptors prevents nerve-mediated airway hyperreactivity in NGF-induced inflammation in mouse airways. *Eur J Pharmacol.* 2016;776:132-8.
83. Tashkin DP, Shapiro BJ, Frank IM. Acute effects of smoked marijuana and oral delta9-tetrahydrocannabinol on specific airway conductance in asthmatic subjects. *The American review of respiratory disease.* 1974;109(4):420-8.
84. Zoerner A, Stichtenoth D, Engeli S, Batkai S, Winkler C, Schaumann F, et al. Allergen Challenge Increases Anandamide in Bronchoalveolar Fluid of Patients With Allergic Asthma 2011. 388-91 p.
85. Frei RB, Luschnig P, Parzmair GP, Peinhaupt M, Schranz S, Fauland A, et al. Cannabinoid receptor 2 augments eosinophil responsiveness and aggravates allergen-induced pulmonary inflammation in mice. *Allergy.* 2016;71(7):944-56.
86. Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual review of biochemistry.* 2002;71:635-700.
87. Starkhammar M, Kumlien Georen S, Swedin L, Dahlen SE, Adner M, Cardell LO. Intranasal administration of poly(I:C) and LPS in BALB/c mice induces airway hyperresponsiveness and inflammation via different pathways. *PloS one.* 2012;7(2):e32110.
88. Safholm J, Lovdahl C, Swedin L, Boels PJ, Dahlen SE, Arner A, et al. Inflammation-induced airway smooth muscle responsiveness is strain dependent in mice. *Pulmonary pharmacology & therapeutics.* 2011;24(4):361-6.
89. Kaya-Yasar Y, Karaman Y, Bozkurt TE, Onder SC, Sahin-Erdemli I. Effects of intranasal treatment with slow (GYY4137) and rapid (NaHS) donors of hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-induced airway inflammation in mice. *Pulmonary pharmacology & therapeutics.* 2017;45:170-80.
90. Grassin-Delye S, Naline E, Buenestado A, Faisy C, Alvarez JC, Salvator H, et al. Cannabinoids inhibit cholinergic contraction in human airways through prejunctional CB1 receptors. *Br J Pharmacol.* 2014;171(11):2767-77.

91. Costola-de-Souza C, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Calefi AS, Aloia TP, Gimenes-Junior JA, et al. Monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibition attenuates acute lung injury in mice. *PloS one*. 2013;8(10):e77706.
92. Seillier A, Dominguez Aguilar D, Giuffrida A. The dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 has enhanced effects on endocannabinoid transmission and motor behavior in rats as compared to those of the MAGL inhibitor JZL184. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2014;124:153-9.
93. Bedse G, Bluett RJ, Patrick TA, Romness NK, Gaulden AD, Kingsley PJ, et al. Therapeutic endocannabinoid augmentation for mood and anxiety disorders: comparative profiling of FAAH, MAGL and dual inhibitors. *Translational psychiatry*. 2018;8(1):92-.
94. Murphy N, Cowley TR, Blau CW, Dempsey CN, Noonan J, Gowran A, et al. The fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 exerts anti-inflammatory effects in hippocampus of aged rats and restores an age-related deficit in long-term potentiation. *Journal of neuroinflammation*. 2012;9:79.

## 8. EKLER

### Ek-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

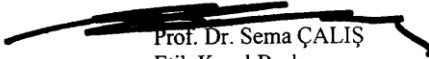
Sayı : 52338575 -24

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

<b>TOPLANTI TARİHİ</b>	: 21.02.2017 (SALI)
<b>TOPLANTI SAYISI</b>	: 2017/02
<b>DOSYA KAYIT NUMARASI</b>	: 2017/12
<b>KARAR NUMARASI</b>	: 2017/12 -6
<b>ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ</b>	: Doç. Dr. Turgut Emrah BOZKURT
<b>HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI</b>	: Doç. Dr. Turgut Emrah BOZKURT, Ecz. Resh ABOHALAKA
<b>YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR</b>	: Ecz. Reshed ABOHALAKA, Prof. Dr. İnci Şaf ERDEMLİ, Doç. Dr. Emirhan NEMUTLU, Doç. Sevgen ÖNDER
<b>ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI</b>	: 108 Adet BALB/c Fare (12-16 Haftalık)

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Turgut Emrah BOZKURT' un araştırma yürütücüsü olduğu 2017/12 kayıt numaralı "*Yağ Asidi Amid Hidrolaz (FAAH) Ve Monoasil Gliserol Lipaz (MAGL) İnhibitörlerinin Farede Deneysel Solunum Yolu İnflamasyonu Üzerindeki Etkileri*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi' ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür.

  
Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

## EK-2: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

### YAĞ ASIDI AMİD HİDROLAZ (FAAH) VE MONOAÇIL GLİSEROL LİPAZ (MAGL) İNHİBİTÖRLERİNİN FAREDE DENEYSEL SOLUNUM YOLU İNFLAMASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

ORJİNALLİK RAPORU

<b>%5</b>	<b>%4</b>	<b>%2</b>	<b>%1</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>2</b>	<a href="http://manan.dk">manan.dk</a> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>3</b>	<a href="http://onlinelibrary.wiley.com">onlinelibrary.wiley.com</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>4</b>	<a href="http://jpet.aspetjournals.org">jpet.aspetjournals.org</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>5</b>	Yesim Kaya-Yasar, Yasemin Karaman, Turgut Emrah Bozkurt, Sevgen Celik Onder, Inci Sahin-Erdemli. "Effects of intranasal treatment with slow (GYY4137) and rapid (NaHS) donors of hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-induced airway inflammation in mice", Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2017 Yayın	<b>&lt;%1</b>



**EK-2: Dijital Makbuz****Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Reshed Abohalaka  
Ödev başlığı: Reshed Tez  
Gönderi Başlığı: YAĞ ASIDI AMİD HİDROLAZ (FAAH...  
Dosya adı: Turnitin.docx  
Dosya boyutu: 6.42M  
Sayfa sayısı: 61  
Kelime sayısı: 8,705  
Karakter sayısı: 64,170  
Gönderim Tarihi: 03-Oca-2019 10:48AM (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1061282522



## 9. ÖZGEÇMİŞ

### Reshed Abohalaka MHA, MSc

Ankara, Turkey  
+90 (553) 182 10 90

Reshed.abohalaka@hacettepe.edu.tr  
Reshed.abohalaka@gmail.com

#### **Education**

---

**University of A Coruna, ISS** Jul 2018-Aug 2018  
Refugees Crisis and Migration Management in Europe, Spain

**University of Hacettepe Institute of Health Sciences** Sep 2015-May 2018  
Master Degree in Health Management in Disasters, Turkey

**University of Hacettepe Institute of Health Sciences** Feb 2016-Dec 2018  
Master Degree in Pharmacology, Turkey

**University of Aleppo, School of Pharmacy** Sep 2009-Aug 2014  
Bachelor of Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry, Syria

#### **Research**

---

**University of Hacettepe Department of Public Health** Sep 2016-Apr 2018  
Researcher, Language barrier among Syrian Refugees

**University of Hacettepe Department of Pharmacology** Sep 2016-Jul 2018  
Researcher, Endocannabinoids and airways inflammation

**University of Hacettepe Department of Public Health** Sep 2016-Dec 2016  
Research Assistant, PTSD among Syrian Refugees.

#### **Thesis and publication:**

---

- Abohalaka R. Determination of Perceived Language Barriers in Accessing Healthcare Services According to Syrian Refugees Visiting Two Training and Research Hospitals in Ankara. 2018; University of Hacettepe Institute of Health Sciences <http://hdl.handle.net/11655/4495>
- Abohalaka R, Bozkurt TE, Onder SC, Sahin-Erdemli I. The effects of fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibitors in lipopolysaccharide-induced airway inflammation and tracheal hyperreactivity in mice. *European Respiratory Journal*. 2018;52(suppl 62).

#### **Posters and Presentations**

---

**University of Hacettepe Institute of Health Sciences**  
Pharmacology Department Poster Session

- Paris, September 2018

Pharmacology Department Presentation Session

- Trabzon, October 2017

Analytical Chemistry Department Poster Session

- Erzurum, October 2017

## **Scholarships and Internships**

---

### **World Health Organization**

Educational Materials for Healthcare Providers for old people

- Jun 2018 – Sep 2018

### **University of A Coruna**

International Summer School, Scholarship

- Jul 2018 – Aug 2018

### **World Health Organization**

Psychological assessment for physicians working in primary healthcare services

- May 2018 – Jun 2018

### **World Health Organization**

Preparing Educational Materials for Healthcare Provider Refugees

- Jan 2017 – Jul 2017

### **University of Hacettepe Institute of Health Sciences**

Turkey Scholarships

- Awarded for the duration of master studies

### **Grand National Assembly of Turkey**

Legislation Concepts, Internship

- Dec 2015 – Jan 2016

## **Languages**

---

- **Arabic:** Good working proficiency
- **English:** Good working proficiency
- **French:** Good working proficiency
- **Spanish:** Good working proficiency
- **Turkish:** Good working proficiency