



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DIETHYLNITROSAMINE UYGULANAN SIÇANLARDA YEŞİL
ÇAYIN ETKEN MADDESİ EPIGALLOKATECHİN GALLATE'NİN
KAN DOKUSUNA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Zübeyt BİLİCİ
TIBBİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ

VAN-2018

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DIETHYLNITROSAMINE UYGULANAN SIÇANLARDA YEŞİL ÇAYIN
ETKEN MADDESİ EPIGALLOKATECHİN GALLATE'NİN KAN DOKUSUNA
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Zübeyt BİLİCİ
TIBBİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ


VAN-2018
Bu Yüksek Lisans Tezi YYÜ BAP tarafından 2017 TYL 6343 numaralı proje ile
desteklenmiştir.


KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Zübeyt BİLİCİ tarafından hazırlanan “Diethylnitrosamine uygulanan sıçanlarda yeşil çayın etken maddesi epigallokatechin gallate’nin kan dokusuna etkilerinin araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/12/2018


Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Fikret GEVREK
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Jüri Üyesi


Dr. Öğr. Üyesi Fikret ALTINDAĞ
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.


Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “diethylnitrosamine uygulanan sıçanlarda yeşil çayın etken maddesi epigallokatechin gallate'nin kan dokusuna etkilerinin araştırılması” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Zübeyt BİLİCİ

Tarih: 27/12/2018

İmza

TEŞEKKÜR

Tıp Histoloji ve Embriyoloji Eğitimine başladığım günden beri, bilgi ve deneyimlerini bize aktaran ve tanıtan değerli danışman hocam Tıp Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. M.Çetin RAĞBETLİ'ye Bölümde çalıştığım süre içerisinde bilgilerini esirgemeyen Dr.Öğr. Üyesi Neşe ÇÖLÇİMEN'e, yardımlarını her zaman gördüğüm Fizyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim görevlisi Dr.Öğr. Üyesi Okan ARIHAN'a, Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hematoloji Kliniği Öğretim Görevlisi Hematolog Uzm. Dr. Hadi GEYLAN'a, Labaratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Fikret ALTINDAĞ'a ve Öğr. Gör. Veysel AKYOL'a, Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hematoloji ve Biyokimya Labaratuvarı çalışanlarına sonsuz teşekkür eder ve bu güzel insanlara hayatlarında başarılar dilerim. Ayrıca TYL-2017-6343 proje numarası ile çalışmaya maddi destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkür ederim.

ÖZET

Bilici, Z. “Diethylnitrosamine uygulanan sıçanlarda yeşil çayın etken maddesi epigallokatechin gallate'nin kan dokusuna etkilerinin araştırılması” Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2018. Bu çalışmada çayın etken maddesi olan Epigallokatechin gallate (EGCG)'nin kanserojen ve karaciğere toksik etkileri bulunan Diethylnitrosamine (DEN)'nin maruziyetine karşı kan dokusundaki etkileri incelendi. Çalışmada 3 aylık, 50 adet (200-250 gr) Wistar albino cinsi rat kullanıldı. Grup olarak uygulama için her grupta onar adet olarak beş gruba ayrıldı. Grup I (Kontrol): Herhangi bir şey verilmedi. Grup II (Kontrol Sham): İlk gün serum fizyolojik 0,5 ml/kg/ IP tek doz uygulandı. Grup III (DEN) grubunda ilk günde 150 mg/kg/IP DEN tek doz enjekte edildi. Grup IV (EGCG) ilk günden itibaren 10 gün boyunca her gün oral yolla EGCG 10mg/kg/gün verildi. Grup V (DEN+EGCG) İlk gün tek doz 150 mg/kg/gün DEN IP ile uygulandı. İlk günden itibaren 10 gün boyunca her gün oral yolla EGCG 10mg/kg/gün verildi. İncelenen parametreler periferik yayma, hemogram ve biyokimyasal parametrelerdir (Demir, demir bağlama, lipit profili, transferrin, ALT, AST, LDH, AlkP ve glikoz). EGCG grubunda WBC sayısı artmıştır. Periferik yaymada gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. İncelenen hemogram parametrelerinden RBC, HGB ve HCT kontrol grubunda düşük olarak gözlenmiştir. Demir ile ilişkili parametrelerde anlamlı fark gözlenmemiştir. Kolesterol düzeyleri açısından DEN ve EGCG'nin birlikte uygulandığı grup en yüksek bulunmuştur. Bu çalışmamız DEN ve EGCG kimyasallarının ayrı ayrı ve birlikte uygulamasının periferik yaymada belirgin etkiye neden olmadığı ancak diğer hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde farklılıklara neden olduğunu ortaya koymuştur. Sonuçlar literatür ışığında tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: DEN, EGCG, hemogram, kan, periferik yayma

ABSTRACT

Bilici Z “Investigation of protective effect of epigallocatechin gallate which is active substance of green tea on blood tissue and cells of Diethylnitrosamine administered rats” Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Histology and Embryology, Master of Science Thesis, Van, 2018. In this study effect of epigallocatechin (EGCG) which is the active substance of tea on blood tissue of carcinogen and liver toxic diethylnitrosamine (DEN) exposure. In the study 3 months old 50 (200-250 gr) Wistar albino rat were used. Rat groups were divided into 5, including 10 animals in each group. Group I (Control): No substance was administered. Group II (Control Sham): Saline was administered first day at 0.5 ml/kg/ IP single dosage. Group III (DEN) group was administered 150 mg/kg/IP DEN at first day as single dosage. Group IV (EGCG) 10mg/kg/day EGCG was administered for 10 days starting from first day. Group V (DEN+EGCG) 150 mg/kg/day IP DEN was administered at first day as single dosage. 10mg/kg/day EGCG was administered for 10 days starting from first day. Investigated parameters are peripheral smear, hemogram and biochemical parameters (Iron, iron binding, lipid profile, transferrin, ALT, AST, LDH, AlkP and glucose). WBC was increased in EGCG group. No significant difference was found between groups in peripheral smear. Investigated hemogram parameters RBC, HGB and HCT were observed lowest in control group. No significant difference was found in parameters related with iron. DEN and EGCG concomitant administration group had the highest cholesterol levels. Our study includes lone or concomitant administration of DEN and EGCG chemicals which do not have a significant impact in peripheral smear, whereas caused significant alterations in other hematologic and biochemical parameters. Results are discussed according to literature.

Keywords: DEN, EGCG, hemogram, blood, peripheral smear

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kan doku histolojisi.....	4
2.1.1. Kan hücreleri.....	4
2.1.1.1. Beyaz kan hücreleri	4
2.1.1.2. Kırmızı kan hücreleri.....	8
2.1.1.3. Trombositler	9
2.1.2. Plazma.....	9
2.2. Kan Doku Embriyolojisi	10
2.3. Hematopoez.....	11
2.4. Monofiletik Teori	13
2.5. Kan Fizyolojisi	16
2.5.1. Kanın pıhtılaşması	16
2.6. Biyokimya Testleri	17
2.6.1. Serum glukoz	18
2.6.2. Serum lipit testleri.....	18
2.6.3. Demir ve transferrin.....	19
2.7. Hemogram ve periferik yayma.....	19
2.8. DEN (Diethylnitrosamine)	20
2.9. Epigallocatechin Gallate (Yeşil çay etken maddesi).....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Gereç	25
3.1.1. İstatistiksel Analiz.....	27

3.2. Yöntem	27
3.2.1. Periferik yayma.....	27
3.2.2. Hemogram.....	28
3.2.3. Karaciğer fonksiyon testleri.....	28
3.2.4. Serum biyokimyasal analizleri.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Periferik Yayma	29
4.2. Hemogram Bulgular	34
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
5.1. Periferik Yayma Değerlendirilmesi.....	39
5.2. Hematolojik Sonuçlar.....	39
5.3. Biyokimyasal Sonuçlar.....	40
Sonuç ve Öneriler:	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	49
EKLER.....	50
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	50
EK 2. Tez Orijinallik Raporu.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	: Adenin difosfat
ALT	: Alanin Amino Transferaz
AlkP	: Alkalin Fosfataz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BA	: Bazofil
CHOL	: Kolesterol
CO	: Karbonmonoksit
C	: Kateşin
CS	: Camellia sinensis
DEN	: Diethylnitrozamine
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EO	: Eozinofil
EC	: Epikateşin
ECG	: Epikateşin gallat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EGCG	: Epigallokatechin galat
EGC	: Epigallokateşin
EPO	: Eritropoetin
GC	: Gallokateşin
GCG	: Gallokateşin galat
HbCO	: Karboksihemoglobin
HbO2	: Oksihemoglobin
HCT	: Hematokrit
HGB	: Hemoglobin Konsantrasyonu
İP	: İnter peritonel
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LY	: Lenfosit
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu
MO	: Monosit
MPV	: Ortalama Platelet Hacmi
NE	: Nötrofil
NK	: Naturel Killer
PCT	: Platelet Krit
PDW	: Platelet Dağılım Genişliği
P-LCR	: Platelet Büyük Hücre Oranı
PLT	: Platelet Sayımı
RBC	: Kırmızı Kan Hücresi Sayımı

RDV-CV	: Değişim Katsayısında Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği
RDV-SD	: Standart Sapmada Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TB	: Thearubiginler
TCA	: Trikloroasetik asit
TF	: Theaflavinler
TRF	: Transferrin
TRİG	: Trigliserit
UD	: Urtica dioica L.
UV	: Ultraviyole
WBC	: Beyaz Kan Hücresi Sayımı



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Periferik kanda Granülosit (nötrofil, eozinofil ve bazofil) ve agranülosit (lenfosit ve monosit) hücrelerinin şematik şekli (Solakoğlu, 2009).....	11
Şekil 2.	Kan hücrelerinin kemik iliğinde monofiletik teoriye göre kök hücelerden olgun hücrelerin gelişimi	15
Şekil 3.	DEN formülü.....	21
Şekil 4.	DEN'nin Ticari Formu.....	22
Şekil 5.	EGCG'nin Ticari Formu	24
Şekil 6.	Kafeslerdeki sıçan gruplarının görünütüsü	25
Şekil 7.	Sıçanların kafesteki görünümü.....	26
Şekil 8.	Sıçanlara gavaj uygulaması.....	26
Şekil 9.	Periferik kan hücrelerinden kalın ok lenfosit, ince ok monosit ve kesikli ok trombositlerin genel görünümü (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100	31
Şekil 10.	Periferik kanda düz ok lenfosit (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100.....	31
Şekil 11.	Periferik kanda kesikli ok nötrofil, ince ok monosit (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100	32
Şekil 12.	Periferik kanda düz ok eozonofil kesikli ok lenfosit (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100	32
Şekil 13.	Periferik kanda ince ok eritrosit, kesikli ok nötrofil (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100	33
Şekil 14.	Periferik kanda trombositler (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100 .	33

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara ait periferik yayma sonuçları	30
Tablo 2. Gruplara ait periferik yayma sonuçlarının toplu halde gösterimi	30
Tablo 3. Gruplarda eritrosite ait hematolojik parametreleri.....	34
Tablo 4. Grupların lökosit formülü	35
Tablo 5. Gruplara ait trombosit değerleri.....	36
Tablo 6. Gruplara ait transferrin, demir ve demir bağlama değerleri	36
Tablo 7. Gruplara ait lipit profili değerleri.....	37
Tablo 8. Gruplara ait glukoz değerleri	37
Tablo 9. Gruplara ait karaciğer enzim değerleri	38
Tablo 10. Grupların ağırlık kayıtları	38

1. GİRİŞ

Günümüzde teknolojinin gelişmesi sonucu özellikle tarım ve sanayi alanında çok sayıda kimyasal madde kullanılmaktadır. Yaklaşık olarak bilinen kimyasal maddelerin sayısının 5 milyonu aştığı ve bunların da hemen hemen 70.000 çeşidinin piyasada kullanıldığı bilinmektedir. Kullanılan bu maddeler amaçlarına göre sayısal olarak farklılık göstermektedir (Vural, 1996). Kullanılan bu maddelerin 2500'e yakını plastik sanayide (antioksidanlar, plastifiyanlar, antistatikler, UV absorbanları ve stabilizatörler), 1500'e yakını pestisit aktif maddelerinde, 4000 yakınının ilaç etken maddesinde, 2500 çeşidi besin katkı maddesinde ve 3000'i ise kozmetik sanayisinde kullanılmaktadır (Vural, 1996). Tarımda ve sanayide kullanılan bu kimyasal maddeler, insan sağlığını olumsuz etkileyerek hücre ölümüne ve nekroza sebep olabilirler (Vural, 1996). Aminoasitüri, glukozüri veya böbrek yetmezliği gibi daha ciddi sorunlara sebep olabilmektedirler. Toksikiteerde anüri ve kanda üre azotunun yükseldiği tespit edilmiştir (Vural, 1996). İnsanlar farkında veya farkında olmayarak birçok kimyasal maddelere ve ilaçlara maruz kalmaktadırlar (Akay, 2004). Bunlar; ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, pestisitler, alkaloidler, küfler, sekonder bitki metabolitleri, bitkiler ve hayvanlar tarafından üretilen toksinler ve benzeri doğal ve yapay kimyasallardır (Rozman ve Klaassen., 2001). Mesleki gereklilik, çevresel ya da besin maddeleri yoluyla bu kimyasal bileşiklere maruz kalılabilmektedir (Akay, 2004).

Diethylnitrosamine (DEN) insektisit, tarımda kullanılan kimyasal maddeler, süt ve süt ürünleri, fazla pişmiş unlu gıdalar, buğday, et ve balık ürünleri, alkollü içeceklerde ve sigara dumanında bulunan kanserojen bir maddedir. DEN'nin midede nitratin tersiyer ve sekonder aminler ile karşılıklı reaksiyona girmesi durumunda oluştuğu bildirilmektedir (Akyüz ve ark., 2001). Dietilnitrozamin reaktif oksijen türlerini (ROS) artırmasına neden olarak oksidatif stres ve hücre hasarına sebep olur. ROS, DEN'in karsinojenik etkilerinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. ROS'un hücrede mitokondrial hasara, lipid peroksidasyonuna ve Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) modifikasyonuna neden olmasından dolayı, insanlarda kanser ve birçok çeşit hastalığın ortaya çıkması ile sonuçlandığını belirtmişlerdir (Kang ve Reynolds., 2009).

DEN'nin canlılarda oluşturduğu hasarın önlenmesinde pek çok molekül denenmiştir (Pradeep ve ark., 2007), sığırcılarda DEN ile oluşturulan oksidatif stres

hasarına karşı Enginar gibi bazı bitki türlerinin önemli bir karaciğer koruyucu etken maddesi olan Silymarin'in etkisini denemişlerdir. Çalışmalarında 200 mg/kg DEN ile oksidatif stres oluşturulmuş ve Silymarin'in 50 mg/kg dozunda 30 gün boyunca uygulanması sonucunda karaciğer dokusunda DEN ile oluşturulan hasarın önlendiğini göstermişlerdir.

Bishayee ve ark. (2009) Sprague-Dawley sıçanlarda 200 mg/kg dozunda uygulanan DEN'nin hepatokarsinojenik etkisine karşı güçlü bir antioksidan olan resveratrolün etkisini incelemişler ve DEN nedeniyle oluşan hücre proliferasyonunun inhibe olduğunu ve apoptozun tetiklendiğini gözlemişlerdir.

Chuang ve ark. (2000) yine DEN ile oluşturulan karaciğer hiperplazisi, inflamasyonu ile ilgili süreçlerin kurkumin tarafından inhibe edildiğini göstermişlerdir. Bishayee ve ark. (2011) sıçanlarda DEN ile oluşturulan hepatoselüler karsinogeneze karşı kimyasal koruyucu olarak Ribes nigrum (Frenk üzümü) kullanmışlar ve histopatolojik veriler ışığında DEN'nin neden olduğu anormal hücre proliferasyonu ve DNA fragmentasyonunun kullanılan bitkisel madde ile azaltıldığını göstermişlerdir. Gayathri ve ark. (2009) DEN (200 mg/kg) ile erkek Wistar-albino sıçanlarda oluşturulan oksidatif stres ve hepatoselüler karsinogenезin Ursolik asit kullanımı (20 mg/kg) ile azaltıldığını tespit etmişlerdir.

Gerek Epigallokatechin gallate (EGCG) gerekse bu etken maddeyi içeren yeşil çayın kansere karşı koruyucu olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Yeşil çayın tüketiminin sıklığı ile hematolojik kanserlere yakalanma riskinin ters orantılı olduğu Japonya'da yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir (Naganuma ve ark., 2009).

Epigallokatechin gallate (EGCG)'nin kanser hücrelerinin büyümesini önlediği, antiinflamatuvar, anjiyogenezi inhibe edici, damar sertliğine karşı koruyucu etkide olduğu, diyabete karşı etkili olduğu, obeziteye ve yüksek kolesterole karşı olumlu etkiler gösterdiği pek çok çalışma ile ortaya konulmuştur (Çelik, 2006).

Epigallokatechin gallate (EGCG)'nin B-hücreli kronik lenfositik lösemide VEGF reseptör fosforilasyon düzeyini ve apoptozu etkilediği ortaya konulmuştur (Lee ve ark., 2004).

Fang ve ark. (2004) EGCG insan lösemik hücre hattında P-glikoproteininin ekspresyonunu azaltarak etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Bu tez çalışmasının amacı; sağlık açısından pek çok faydası gösterilmiş olan ve yeşil çayın etken maddesi olan EGCG'nin toksik bir madde olan DEN'nin kan dokusu üzerine olası etkilerini incelemektir. EGCG'nin kan dokusuna etkilerini hematolojik, histolojik ve biyokimyasal olarak analiz edilmesi amaçlanmıştır. Bu konuda yeterli çalışmaya rastlamadığımızdan ötürü bu çalışma planlandı. EGCG'nin incelenen parametreler açısından literatüre yeni bilgiler sunulmuştur.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan doku histolojisi

Bağ dokusunun özelleşmiş bir tipidir. Akışkan özelliğe sahip olup bu hareketliliği akışkan ara madde olan plazma sağlar. Plazma kan dokusunun şekilsiz elamanıdır ve içinde şekilli elemanlar olarakta kan hücrelerini barındırır (Öber, 2010).

2.1.1. Kan hücreleri

Kan hücreleri; kırmızı kan hücreleri olarak bilinen eritrositler, beyaz kan hücreleri olarak bilinen lökositler ve platelet olarak adlandırılan trombositlerden oluşmaktadır (Şekil 1) (Eşrefoğlu, 2009).

2.1.1.1. Beyaz kan hücreleri

Lökositler; hücre stoplazmasında belirgin spesifik granüllerin varlığından dolayı iki guruba ayrılır. Spesifik granüller içeren hücrelere granülositler, spesifik granüller içermeyen hücrelere ise agranülositler denir. Granülositler; nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller olarak 3'e ayrılırken agranülositler ise lenfositler ve monositler olarak ikiye ayrılır (Baykal, 2014; Eşrefoğlu, 2009).

Nötrofiller; 10-12 µm çapa sahip olup multilobüller bir nükleusa sahiptir. Multilobüller nükleusa sahip olmalarından dolayı kolayca tanınırlar ve bu nedenle polimorfonüklear nötrofiller ya da polimorflar olarak adlandırılırlar. Olgun nötrofiller nüklear ince ipliklerle bağlanmış üç ila beş loblu nükleus içerirler. Bu düzenlenme statik olmayıp loblar ve bağlayıcı iplikler şekillerini, pozisyonlarını ve sayılarını değiştirirler. Kadınlarda yoğunlaşmış, tek ve inaktif X kromozumuna ait davul tokmağına benzer nükleus lobuna sahiptir. Bu loba Barr cisimciği denir. Nötrofiller spesifik granüller, azurofilik granüller ve tersiyer granüller olmak üzere üç çeşit granül içermektedir (Baykal, 2014).

Nötrofiller motil (hareketli) hücreler olup, dolaşımı terk ederler ve bağ dokusundaki faaliyet yerlerine göç ederler. Hücre yüzeylerinde F_c reseptörleri, kompleman reseptörleri, temizleyici reseptörler ve kalıp tanıma reseptörü olarak bilinen Toll-benzeri reseptörleri bulunmaktadır. Bu reseptörler sayesinde göç ettikleri

enflamasyon bölgesindeki bakteri ve diğer enfeksiyon ajanlarını tanımak için kullanıp fagosite özeliğini sergiler (Baykal, 2014).

Eozinofiller; hemen hemen nötrofille aynı büyüklükte ve tipik olarak iki loblu nükleusa sahiptir. Nötrofillerdeki gibi eozinofillerde sıkı heterokromatin nuklear zarfa yakın iken ökromatin nükleusun merkezine yerleşmiştir. Stoplazmalarında büyük ve refraktil granüllerden dolayı eozinofil olarak isimlendirilmişlerdir. Eozinofillerin stoplazmalarında uzun spesifik granüller ve azurofilik granüller olmak üzere iki tip granül bulunmaktadır (Baykal, 2014).

Eozinofiller; alerjik reaksiyonlar, parazitik enfeksiyonlar ve kronik enflamasyonlarla ilişkilidir. Eozinofiller, gelişimi ve olgunlaşması kemik iliğinde gerçekleşir. Kemik iliğinde üretildikten sonra periferik kanda dolaşır ve daha sonra bağ dokusuna göç eder. Eozinofiller aktif hale geçmesi IgG, IgA ya da sekretuar IgA ile etkileşmesi sonucu gerçekleşir (Baykal, 2014).

Bazofiller; stoplazmaları bol miktarda büyük granüller bulundurur, bazik boyalar ile boyandığından bazofil olarak adlandırılır. Toplam lökositlerin %0.5'inden daha azını kapsar. Loblu bazofil nükleusu, boyama uygulandığında stoplazma granülleri sayesinde ayırt edilememektedir. Hücre membranında IgE antikorları için çok sayıda Fc reseptörleri içermektedir. Bazofil stoplazması spesifik granüller ve azurofilik granüller olmak üzere iki tip granül bulunur. Spesifik granüller heparin, histamin, heparan sülfat, lökotrienler, IL-4 ve IL-13 gibi maddeler içerir. Heparin, antikoagülan, histamin ve heparan sülfat vazoaaktif ajan olarak, lökotrienler pulmoner hava yolu düz kaslarının sürekli kasılmasını ve interlökin-1 (IL-4) ile interlökin-1 (IL-13) görevlerine sahiptir. Hem mast hem de bazofil hücreleri aynı bazofil-mast hücre progenitör hücresinden köken almaktadır (Baykal, 2014).

Lenfositler; agranülositlerin en yaygınıdır ve toplam kan lökositlerinin %30'unu oluşturur. Kanda ve lenfte bulunan birçok lenfosit tekrar dolaşıma geçen immünokompetan hücrelerdir. Büyüklüklerine göre üç tip immün sistem ile ilişkili lenfosit grubu tanımlanır. Bunlar 6-30 µm arasındaki çaplarda küçük, orta ve büyük lenfositlerden oluşur. Lenfositlerin büyük olanları özgün antijenler ile etkileşime giren aktive olmuş lenfositler ya da doğal katil (NK) lenfositlerdir. Kan dolaşımındaki lenfositler 6-15 µm çapında orta veya küçük lenfositlerdir. Çoğunlukla yaklaşık %90 oranında küçük lenfositler bulunur. Küçük lenfositler koyu boyanmış hafif girintili

yuvarlak bir nükleusa sahiptir. Stoplazma nükleusu ince bir hat gibi saran açık mavi renkte görülür. Orta büyüklükteki lenfositte stoplazma daha fazla, nükleus daha büyük ve az heterokromatiktir ve Golgi aygıtı daha fazla gelişmiştir (Baykal, 2014).

Vücutta T lenfosit, B lenfosit ve doğal katil (NK) hücreler olarak üç farklı tip lenfosit bulunmaktadır. T lenfositleri uzun ömürlü hücreler ve hücre-aracılı bağışıklıkta görevlidir. B lenfositler yaşam süreleri değişkendir ve dolaşımdaki antikorların üretiminden sorumludur. NK hücreleri gelişimi sırasında virüs ile enfekte olan hücreleri ve tümör hücrelerinin bazı tiplerini öldürmek üzere programlıdır ayrıca antiviral ajan olan interferon γ (IFN- γ) salgırlar. T ve B lenfositleri birbirinden ayırt etmek çok zordur bunun için hücre yüzeylerindeki farklı reseptörler için immünoasit kimyasallar kullanılır. İnsan kanının lenfositleri %60-%80'i olgun T lenfositleri, %20-%30'u olgun B lenfositleridir. Tüm bu hücrelerin %5-%10'u T ya da B lenfositleri ile ilişkili yüzey belirteçlerini göstermez. Bu hücreler, NK hücreleri ile dolaşımda az rastlanılan hemopoetik kök hücrelerdir. Birkaç farklı tipte T lenfositleri bulunur. Bunlar; sitotoksik CD8⁺ T lenfositleri, yardımcı CD4⁺ T lenfositleri, düzenleyici (baskılayıcı, süpresör) T lenfositleri ve gama/delta ($\gamma\delta$) T lenfositleridir (Baykal, 2014).

Monositler; kanda ortalama çapları 18 μm ile beyaz kan hücreleri için de en büyük olanlarıdır. Dokulara kemik iliğinden gelir ve farklılaşarak fagositik özlelikteki makrofajlara dönüşürler. Monositler gittikleri dokulara göre adlandırılırlar. Bunlar, bağ dokusu makrofajları, osteoklastlar, alveolar makrofajlar, karaciğerde kupffer hücreleri ve lenf düğümlerinin, dalağın ve kemik iliğinin makrofajlarıdır. Monositin nükleusu lenfositin nükleusuna göre daha girintilidir ve bu girintide iyi gelişmiş Golgi aygıtı ile sentrioller bulunmaktadı. Monositlerin antijen sunan makrofajlara dönüşmesi antijensunan hücre olarak adlandırılmasını sağlamıştır (Baykal, 2014).

Nötrofiller bakteri ve mantar enfeksiyonuna karşı fagositoz özelliği sayesinde karşı koyar. Bunu dört aşamadan oluşan bir sistemle gerçekleştirir. Bu aşamalar; fc reseptör aracılığı ile yabancı istilacının tanınması, hücre zarında invaginasyonun oluşması, fagozom oluşumu ve patojenlerin öldürülmesidir (Ağar, 2017).

Eozinofiller, parazitik enfeksiyonlara karşı vücudu savunan inflamatuvar hücrelerdir (Ağar, 2017).

Bazofiller, heparin ve histamin içerikli granüllere sahiptir ve bunların salınımı antikoagülasyon ve vazodilatasyona sebep olurlar. Granüllerin salınması ile bölgesel

kan akımını sağlarken diğer taraftan eozinofillerinde dahil olduğu diğer lökositleri enfeksiyon alanına çeker. Ayrıca çevrede bulunan dokulardan prostaglandin ve lökoterinler gibi mediatörlerin arşidonik asitten üretilip enfeksiyon alanına salınırlar. Bazofil aktivasyonu antijenler bağlanan FcεRI reseptörleri ve mast hücrelerinin immünoglobulin E'ye (IgE) bağlandığı durumlarda gerçekleştirilir. Bazofil granüllerinin yeniden oluşumuda mekanik hasar, aktive kompleman ve ilaçlar sayesinde olmaktadır (Ağar, 2017).

Lenfositler; T lenfosit, B lenfosit ve doğal katil (NK) hücreleri ile bağışıklığa katkı sağlarlar. Lenfositler edinsel bağışıklığın temelidir. T lenfositleri, yardımcı T hücreleri, sitotoksik T hücreleri ve baskılayıcı (süpresör) T hücreleri olarak üç guruba ayrılır. Yardımcı T hücreleri en çok bulunan hücre tipidir ve bağışıklık sistemi işlevinde ana düzenletici bir role sahiptir. İşlevlerini salgıladıkları interlökinler (lenfokinler) sayesinde yapmaktadırlar. Ayrıca sitotoksik T hücresi ile baskılayıcı (süpresör) T hücrelerinin çoğalmalarına ve B lenfositlerin farklılaşmasını uyarır. Lenfokinler inflamasyonlu dokuya göçen makrofajları yavaşlatarak inflamasyonlu dokuda birikmelerini sağlar. Sitotoksik T hücreleri, mikroorganizmaları ve bazende vücudun kendi hücrelerini öldürebilen hücrelerdir. Bu nedenle bu hücrelere doğal katil (NK) hücrelerde denir. Doğal katil hücreler kurban hücreye delik açıp toksik maddeleri vererek görev yaparlar. Baskılayıcı (süpresör) T hücreleri, hem yardımcı hemde sitotoksik T hücrelerini baskılamaktadır. Bu özelliğinin immün yanıtın vücuda zarar verecek seviyeye çıkmasını önlemek olduğu düşünülmektedir (Çavuşoğlu, 2001).

B lenfositleri antijen ve yardımcı T hücrelerinin salgıladıkları lenfokinler ile uyarılır. Uyarılan B lenfositleri büyüyerek lenfoblastı oluşturur. Lenfobalstlar hem farklılaşarak plazmoblastı ve ardından plazma hücresini verir ve yine B lenfoblastları vererek, aynı antijenle karşılaşana kadar bağışıklık sisteminde sesiz kalan hücrelere dönüşür. Bu hücrelere bellek hücreleride denir (Çavuşoğlu, 2001).

Monositler; lenfosiler ile birlikte mononükleer lökositler kategorisine girer. Aktif olduklarında kan damarlarını terk ederek dokuda makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar mikropları, antijenleri ve diğer yabancı maddeleri fagosite ederler. Fagositoza ek olarak T hücrelerine antijende sunarlar (Ağar, 2017).

2.1.1.2. Kırmızı kan hücreleri

Eritrosit, nükleusu ve tipik hücre organelleri bulundurmayan hücrelerdir. Yalnızca oksijeni bağlayarak kan doluşımında dokulara taşıma ve karbondioksiti bağlayarak dokudan uzaklaştırma görevini yapmaktadır. Eritrosit 7-8 µm çapa, 2,6 µm kenar kalınlığına ve 0,8 merkez kalınlığına sahip bikonkav disk şeklindedir. Bu şekle sahip olması gaz alışverişı için hücrenin yüzey alanını maksimum seviyeye çıkmasını sağlamaktadır. Eritrositlerin yaşam süreleri yaklaşık 120 gündür. Yaklaşık %90 oranında büyük çoğunluğu dalakta, kemik iliğinde ve karaciğerde bulunan makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Geriye kalan yaklaşık %10 'luk yaşlı eritrositler ise damar içinde kana önemsiz miktarda hemoglobin salıvererek yıkılırlar. Eritrositler fazlasıyla şekil değiştirebilen özelliğe sahiptirler. Bu sayede en dar kapillerlerden kendi üzerine katlanarak kolay şekilde geçerler (Baykal, 2014).

Eritrosit, Hemoglobin adı verilen 68 dalton molekül ağırlığına sahip ve gaz taşınmasında görevli proteine sahiptir. Hemoglobin, her biri demir içeren hem gurubu ve onunla kompleks oluşturan α , β , δ ve γ dört globin polipeptit zinciri içermektedir. Polipeptit zincir yapıları farklıdır ve bu peptit varlığına bağlı olarak üç hemoglobin tipi ayırt edilir. Bunlar Hemoglobin HbA, hemoglobin HbA₂ ve hemoglobin HbF dir (Eşrefoğlu, 2009).

Hemoglobin HbA; yetişkinlerde toplam hemoglobin miktarının %96'sını oluşturur ve yetişkinlerde en sık görüldür. İki α ve iki β zincirinden ($\alpha_2\beta_2$) oluşan bir tetramerdir (Baykal, 2014).

Hemoglobin HbA₂; yetişkinlerde toplam hemoglobinin %1.5-%3'ünü oluşturmaktadır. İki α ve iki δ zincirinden ($\alpha_2\delta_2$) oluşur (Baykal, 2014).

Hemoglobin HbF; yetişkinlerde toplam hemoglobinin %1'den daha azını oluşturmaktadır iki α ve iki β zincirini ($\alpha_2\beta_2$) içerir. Bu hemoglobin formu fetustaki esas hemoglobin çeşididir (Baykal, 2014).

Oksijen taşınmasında eritrositler dokuya oksijen taşıma ve karbondioksit atık madesinin geri dönüşümünden de sorumludur. Ayrıca kan pH'nın homeostazının sağlanmasında da önemli rol oynar. Eritrositte CO₂'den oluşan H₂CO₃ iyonize olduğu zaman ortaya çıkan H⁺ iyonları Hgb tarafından tamponlanır. Hgb tampon görevini proteinlerde bulunan histidin halkasında bulunan imidazolun iyonize hale getirerek sağlar. Hgb'nin oksijene doymuş haline oksihemoglobin (HbO₂) denir ve oksijenin

dokulara taşınmasını gerçekleştirir. Oksijen dokuya verildiğinde HbO₂ redükte hemoglobine dönüşür. Karbonmonoksitin (CO), HbO₂ deki oksijenle yerdeğiştirmesi sonucu geri dönüşümsüz olan karboksihemoglobin (HbCO) meydana gelmesine neden olur. Bu sürkülasyon karbonmonoksitin vücuttan atılması ile tamamlanır (Ağar, 2017).

2.1.1.3. Trombositler

Trombositler; kan pulcukları olarak adlandırılan, 2-4 µm çapa sahip, nükleus içermeyen, disk biçimindeki hücre parçacıklarıdır. Trombositler kemik iliğinde bulunan poliploid dev hücreler olan megakaryositlerden köken almaktadır. Phtlaşmada görev alır ve damar çatlaklarının tamirine yardımcı olarak kan kaybına engel olur. Normal koşullarda trombosit sayısı bir mikrolitrede 200000 ile 400000 arasındadır. Trombositlerin ömrü yaklaşık 10 gündür. Genellikle kan yaymalarında kümelenmiş şekilde gözlenir. Trombosit hücreleri mor renkte boyanan granüller içeren granülomer adı verilen merkezi bölge ile soluk mavi renkte boyanan hiyalomer adı verilen periferik bölgeden oluşur. Trombosit hücre zarının invaginasyonlar ile açık kanalcık sisteme adı verilen bir sisteme sahiptir. Bu sistem trombositte depolanan aktif moleküllerin serbest kalmasını kolaylaştırdığı tahmin edilmektedir. Trombositlerin ovoid şeklini korumasını sağlayan hücre periferinde bulunan mikrotübüllerin oluşturduğu kenar demeti bulunur. Hücre zarının dış yüzeyinde 15-20 nm kalınlığında ve glikozaminoglikan ile glikoproteinlerden zengin bir hücre örtüsü bulunmaktadır. Bu örtü trombositlerin yapışmasından sorumludur (Solakoğlu, 2009).

2.1.2. Plazma

Plazmanın bileşimi %90 su, %10 organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır. Suda eriyip ve dağılan katı maddelerin %7-8 gramı proteinlere aittir. Plazma proteinleri; albumin, globulin ve fibrinojen olarak toplam üç gruba ayrılmaktadır (Yiğit, 2011).

Albumin; toplam plazma protinlerinin %60'nı oluşturmaktadır. 69000 dalton molekül ağırlığına sahiptir. Plazmada 25-30 mm/Hg olan onkotik basıncın sürdürülmesinde, doku ile kan arasındaki osmotik basıncın ayarlanmasın da önemlidir.

Albuminin ön plana çıkan görevi kanda taşıyıcılık görevidir. Yağ asitleri, metaller, iyonlar, enzimler ve çeşitli hormonlar gibi farklı molekülleri taşır (Yiğit, 2011).

Globulin; çeşitli fraksiyonlara sahip olup, fraksiyonun en büyük komponenti olan immünoglobulinler (γ - globulinler) ve non-immünoglobulinler (α -globulin ve β -globulin)'i içermektedirler (Baykal, 2014).

İmmünoglobulinler, plazma hücrelerinin salgıladığı fonksiyonel bir immün-sistem sınıfı antikorlardır (Baykal, 2014).

Non-immünoglobulinler, karaciğer salgılamaktadır ve vasküler sistemin osmatik basıncının sürdürülmesine yardımcı olmaktadır ayrıca bakır (seruloplazmin tarafından), demir (transferrin tarafından) ve hemoglobin proteini (haptoglobulin tarafından) değişik maddeler için taşıyıcı protein görevi yapmaktadır (Baykal, 2014).

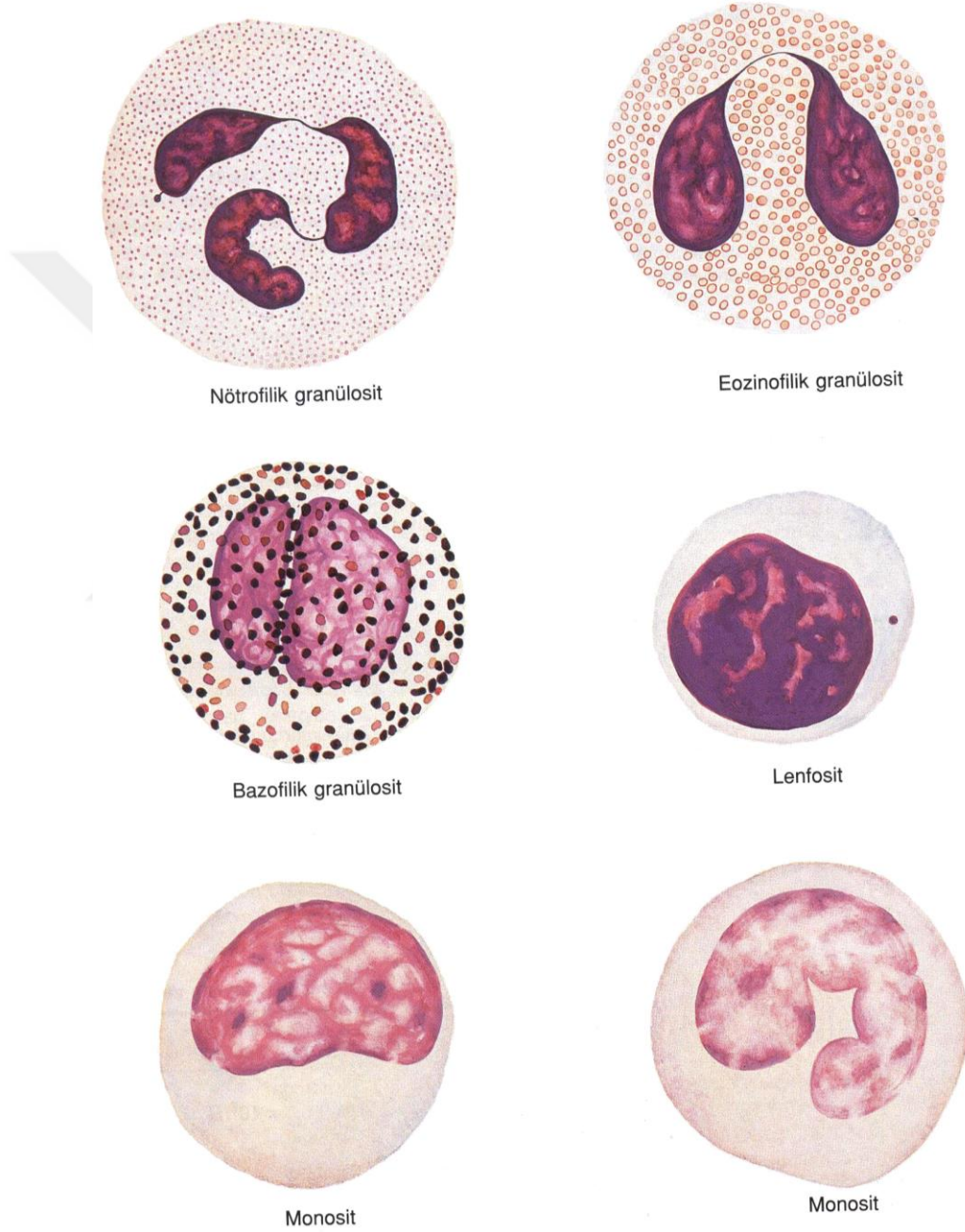
Fibrinojen; 340000 dalton molekül ağırlığına sahip ve karaciğerde sentezlenen bir plazma proteinidir. Trombinin etkisi ile fibrin molekülüne dönüşür. Trombinin proteolitik etkisi ile fibrin monomerleri diğer monomerlere polimerize olur ve uzun fibrin liflerini oluşturur. Bu fibrin ağının oluşumu ile phtı oluşumu tamamlanır. Fibrinojen molekülleri intersitisiyel dokuya geçtiğinde zayıf bir koagülasyon gösterir. Kapiller geçirgenliğin patolojik olarak artışı, dokular arasında fibronojen birikimine sebep olur ve plazma pıhtılaşır. Trombosit içindeki toplam proteinin %15'i fibronojendir (Yiğit, 2011).

2.2. Kan Doku Embriyolojisi

Ekstraembriyonik mezoderm koryonik kavitenin içine doğru göç eder ve ikincil vitellus kesesini sarar. Gebelikten sonraki 16. güne kadar vitellus kesesi mezodermde kan adası oluşmaya başlar (McLachlan, 1994). Embriyogenezin en erken evrelerinde, kan hücreleri vitellus kesesi mezoderminden gelişmektedir (Solakoğlu, 2009). 5. haftanın başında hematopoez embriyonik organlar olarak bilinen karaciğer, timus, dalak ve kemik iliği tarafından üstlenilirler (İrez, 2016).

2.3. Hematopoez

Kan, diğer bağ dokular gibi hücre ve ekstraselüler komponentlerden meydana gelmektedir. Ortalama yetişkin bir bireyde toplam kan hacmi 6 litre ya da vücut ağırlığının %7-8'i kadardır (Baykal, 2014).



Şekil 1. Periferik kanda Granülosit (nötrofil, eozinofil ve bazofil) ve agranülosit (lenfosit ve monosit) hücrelerinin şematik şekli (Solakoğlu, 2009).

Kan hücrelerinin yapımına hematopoez ya da hemopoez denir. Eritrositler, trombositler ve granülositler olan nötrofiller, eozinofiller ile bazofiller myeloretiküler yani kırmızı kemik iliğinde yapılmaktadır. Agranülositler olan lenfosit ve monositler ise hem myeloretiküler dokuda hem de lenfoid organlarda yapılırlar (Açıkalm, 1995).

Hematopoez, yaşam döngüsünde doğum öncesi yani prenatal ve doğum sonrası yani postnatal olmak üzere iki dönemden oluşur (Açıkalm, 1995).

Prenatal hematopoez; doğum öncesi dönemde kan hücreleri karaciğer, dalak, lenf düğümleri ve böbrekler tarafından yapılmaktadır. Bu organlar fetüste kemik iliği gelişip hematopoez görevini yapmaya başladığı zaman kan hücresini yapmayı bırakırlar. Fakat postnatal dönemde hemolitik anemi, şiddetli kanamalar gibi kan yapımının artması gerektiği durumlarda tekrar hematopoetik görevlerine başlayabilirler (Açıkalm, 1995).

Postnatal hematopoez; kemik iliği ve lenfatik organlarda kan hücrelerinin yapımıdır. Bu dönemde kan hücresi çeşitli değişikliklere uğrayarak gerçekleştirilir. Bunlar, hücre çapında gittikçe küçülme, kromatin yoğunlaşması, nükleolus sayısının azalması hatta ortadan kalkması ve stoplazma asiditesinin azalmasıdır (Açıkalm, 1995).

Hematopoetik teoriler; kan hücrelerinin stenselleri (ana hücre) ile ilgili geliştirilmiş üç farklı teori bulunmaktadır (Açıkalm, 1995).

- 1- Monofiletik (üniterian) teori; tüm kan hücrelerinin tek bir stenselinin bulunduğu ve buna da hemositoblast dendiğini savunmaktadır.
- 2- Difiletik (dualistik) teori; miyeloid hücrelerin (eritrosit, granülosit ve trombositler) stenselinin miyeloblast ve lenfoid hücrelerin (lenfosit ve monositlerin) stenseli ise lenfoblast olduğu görüşündedir.
- 3- Polfiletik (trialistik) teori; miyeloid ve lenfoid hücrelerin ayrı ayrı stenselle sahip olduğu düşünülmektedir. Monofiletik ve polfiletik teoriler dolaylı olarak benzer teorilerdir (Açıkalm, 1995).

Bu teorilerden genel olarak monofiletik teori kabul görmektedir (Açıkalm, 1995).

2.4. Monofiletik Teori

Yıllar boyunca elde edilen kanıtlar, bütün kan hücrelerinin ortak kök hücreden kaynaklandığını belirten monofiletik teoriyi desteklemektedir. Monofiletik teorinin kesin kanıtı hemopoetik kök hücrenin (HSC) izolasyonu ile olmuştur. Hemopoetik kök hücre pluripotent kök hücre (PPSC) olarak bilinir ve bu hücreler yalnızca farklılaşarak kan hücresi vermez aynı zamanda kendini yenileme yeteneğine sahiptir (Baykal, 2014).

Kemik iliğinde, hemopoetik kök hücre ortak miyeloid progenitör (CMP) ve ortak lenfoid progenitör (CLP) olarak multipotent progenitör hücreleri verir. Ortak miyeloid progenitör hücreler soy-sınırlanmış progenitörlere farklılaşır. Bunlar; megakaryosit/eritrosit progenitör (MEP) hücreleri ve granülosit/monosit progenitör (GMP ya da CFU-GM) hücreleridir (Baykal, 2014).

Megakaryosit/eritrosit progenitör (MEP) hücreleri bipotent hücrelerdir. Bu hücreler monopotent megakaryosit-adanmış progenitör hücreyi (MKP ya da CFU-Meg) ve eritrosit soyunu oluşturan eritrosit-adanmış progenitör hücreyi (ErP ya da CFU-E) verir (Baykal, 2014).

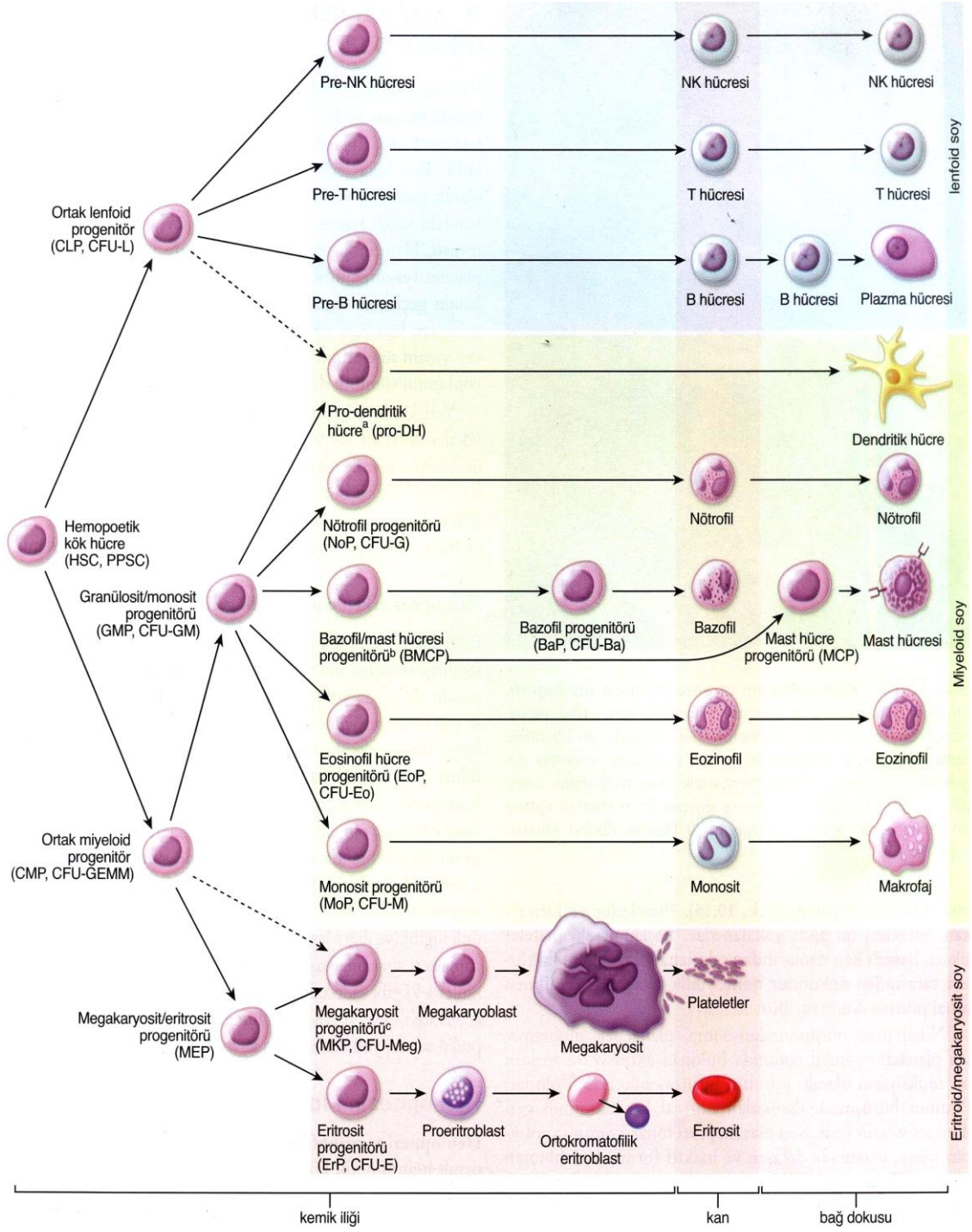
Granülosit/monosit progenitör (GMP ya da CFU-GM) hücresinin gelişimi PU.1 transkripsiyon faktörünün ekspresyonu gereklidir. Daha sonra bu hücreler nötrofile farklılaşan nötrofil progenitörlerini (NoP ya da CFU-G), eozinofili oluşturacak eozinofil progenitörlerini (EoP ya da CFU-Eo), kemik iliğinde bazofil progenitör hücrelerini (BaP ya da CFU-Ba) ayrıca gastrointesitinal mukozada bazofil/mast hücre progenitörlerini (BMCP), en son olarak monositi verecek monosit progenitörlerini (MoP ya da CFU-M) verecektir (Eşrefoğlu, 2009).

Ortak lenfoid progenitör (CLP) hücreler, T lenfosit, B lenfosit ve doğal katil (NK) hücrelerine farklılaşırlar. Multipotent ortak lenfoid progenitör hücreler koloni-oluşturan birimler-lenfoid (CFU-L) olarak adlandırılmışlardır (Baykal, 2014).

Eritropoez; Çok potansiyeli hemopoietik (PHSC) kök hücreden meydana gelen eritrosit kolonisi oluşturan ikincil kök hücre (CFU-E) proeritroblastları oluşturur. Proeritroblastlar mitotik çoğalmasıyla bazofil eritroblastlar, bu hücrelerden de polikromatofil eritroblastlar oluşur. Bazofil eritroblastlarda hemoglobın sentezlenmeye başlar. Çekirdek yavaş yavaş heterokromatine dönüşerek küçülmeye başlar. Hemoglobın sentezi tamamlandığında stoplazma eozinofilik olur. Bu sırada çekirdek küçülerek kenara itilir. Bu dönemde hücre normoblast (ortokromatofilik eritroblast)'lar

haline gelmişlerdir. Normoblastlar işlevi kalmayan çekirdeklerini bir müddet sonra hücreden atarlar. Makrofajlar aracılığıyla çekirdekler ortadan kaldırılır. Çekirdeksiz yeni hücreler retikülosit olarak tanımlanır. Dolaşım kanında görülen retikülositler bir gün içinde olgunlaşır. Böylece kırmızı kan hücresi olarak bilinen eritrositler ortaya çıkmış olurlar (Şekil 2) (Akay, 2001).





Şekil 2. Kan hücrelerinin kemik iliğinde monofiletik teoriye göre kök hücrelerden olgun hücrelerin gelişimi (Baykal, 2014).

2.5. Kan Fizyolojisi

Kan maddelerin taşınması, iç ortamın sabitliğinin korunması veya sağlanması (homeostaz), oluşan kanamanın durdurulması (hemostaz), çeşitli enfeksiyonlara karşı dirence katkı (bağışıklık) sağlayan dinamik bir kompleksdir. Ayrıca kan ısıyı tüm vücuda yayarak homotermiyide gerçekleştirir (Ağar, 2017).

Taşıma; kan, asit ve bazlar, vitaminler, antikorlar, hormonlar, kofaktörler, pigmentler, yağlar, metabolitler, besin maddeleri ve minerallerin vücutta en uzak mesafelere kadar taşır. Bu taşıma işlemi ya maddelerin plazmada çözülmüş ya da taşıyıcı proteinler vasıtası ile gerçekleşmektedir (Ağar, 2017).

Hemostaz; hasarlı damarda kan kaybını önlemek için etkin mekanizmalar gelişmiştir. Kanamanın durması olayına hemostaz denir (Ağar, 2017).

Homeostaz; hücrelerin fonksiyonlarını yürütebilmesi için maksimum iç ortam sağlayan stabil bir durumdur. Kanda pH, ozmolalite, iyon konsantrasyonu, besin kaynağı, sıcaklık ve damar bütünlüğünü sürdürme olayını sağlar (Ağar, 2017).

Bağışıklık; vücudun mikroorganizmalara karşı mücadelesini temel alan bir durumdur. Mikroorganizmaların deri ve muköz membran gibi fiziksel bariyerleri aşması enfeksiyona sebep olmakta, kanda lökositler proteinlerle birlikte kana giren mikroorganizma ya da yabancı maddelerin tesbitini sağlayarak bağışıklığın kontrolünü gerçekleştirmektedir (Ağar, 2017).

2.5.1. Kanın pıhtılaşması

Hasarlı damardan kan kaybını durdurma olarak tanımlanan hemostaz dört aşamadan oluşur. Bunlar; kompresyon ve vazokonstriksiyon, geçici trombosit tıkaçı oluşumu ya da primer hemostaz olarak da adlandırılır, daha kararlı fibrin tıkaçı oluşumu diğer adı sekonder hemostaz ve son olarak pıhtının bütülmesi ve çözünmesidir (Ağar, 2017).

Hemostazın 1. Aşaması; doku hasarının hemen ardından hasarlı doku hücreleri serotonin, tromboksan A₂, epinefrin ve fibrinopeptit B gibi kimyasal bileşikler salgılayarak kan damarlarının kasılmasına neden olur. Oluşan vazokonstriksiyon sayesinde damarda geri basınç sağlanarak kompresyon oluşur (Ağar, 2017).

Hemostaz 2. Aşama; hemostaz da asıl hedef hızlı şekilde tıkaç oluşturmaktır. Bu primer tıkaç bu aşamada fibronojen ile birbirine bağlanan trombositler oluşturur. Karaciğerden ve böbrekten salınan trombopoetin maddesi megakaryositlerin parçalanarak kandaki trombositini artırmasını sağlar. Trombositlerin salgıları sayesinde hasarlı bölge endotelinde yapışma proteini olan integrinlerin üretimini artırır. Endotel ve megakaryositlerden salınan Von Willebrand faktörü trombosit yüzey reseptörü ile sub endotel matriksdeki kollajen arasında bağ yapılmasını sağlar. Daha sonrasında yaralanma bölgesinde hasarlanmış hücrelerden adenosin difosfat (ADP) salgılanarak fibronojen ile daha fazla trombosit birleşip agregasyon kararlı hale getirilir (Ağar, 2017).

Hemostaz 3. Aşama; 2. aşamada oluşan trombosit-fibrin agregatı trombin enzimi yardımıyla fibronojen molekülünden 4 peptit bağ kopararak fibrin monomerlerini oluşturur. Böylece fibrin iplikciklerine daha fazla trombosit, eritrosit ve lökosit tutunmasını sağlar. Plazma enzimi olan fibrin stabilize edici faktör (faktör XIII), polimerize fibrin iplikcikleri arasında kovalent bağlar oluşturarak pıhtının sıkışmasını sağlar (Ağar, 2017).

Hemostaz 4. Aşama; bu aşamada fibrin pıhtısını yıkılma süreci olan ve fibrinoliz olarak adlandırılan aşama gerçekleşir. Fibrinolizi gerçekleştiren plazmin enzimidir ve oluşan fibrin artıkları karaciğer ve böbrek tarafından yok edilir. Pıhtı oluşumunun ardından dakika ve saatler içerisinde pıhtının büzülmesi olayı gerçekleşir. Pıhtı hasarlı damarın karşılıklı duvarlarını birbirine yakınlaştırarak kanamaya karşı direnci daha kararlı hale getirir. Büzülme olayı trombositlerde bulunan aktin ve miyozin proteinlerinin hareketi ile gerçekleştirilir. Sonuç olarak yaranın büzülmesi fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinin ortak çalışmasını sağlar böylece yaranın iyileşme aşamasına geçmesi sağlanır (Ağar, 2017).

2.6. Biyokimya Testleri

Karaciğer fonksiyon testleri karaciğerin alım, metabolizma, sentez, atım fonksiyonlarının yanı sıra karaciğer hücre hasarı ve safra yolu patolojilerini gösterir. Karaciğer enzimleri alanin aminotransferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), Gama glutamil transferaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP)'dan oluşmaktadır. Bunlardan ALT ve AST karaciğerin parenkim enzimleridir. ALT sadece stoplazmada,

AST ise hem mitokondri hem de stoplazmada bulunmaktadır. AST aynı zamanda kalp ve kas kaynaklı hastalıklarda da artabilir. Alkolik hepatitlerde AST düzeyinde artış daha belirgindir. ALT ise karaciğer için daha spesifiktir (Kew 2000). Asemptomatik bir hastada AST ve ALT yüksekliği durumunda ilk önce karaciğer yağlanması düşünülmelidir (Goessling ve ark, 2005). Karaciğerin GGT ve alkalen fosfataz gibi enzimleri safra kanaliküllerinde sentezlenir ve safra yollarına atılır. Bu yüzden koleltaz durumlarında her iki enzim düzeylerinde artış görölmektedir. ALP'nin yüksek olduğu durumlarda karaciğer kökenli olduğunu teyit etmek için genellikle GGT düzeylerine bakılır. ALP başlıca karaciğer ve kemikte bulunur. Ayrıca plasenta, ince bağırsak ve böbrekte de bulunmaktadır (Giannini ve ark., 2005). Test Karaciğer ve kemik hastalıklarını tespit amacıyla kullanılır (Nicoll, 2014).

2.6.1. Serum glukoz

Glukoz karbonhidratlı besinlerden elde edilen vücudun temel enerji kaynağıdır. Kan glukoz testi ile glukozun kandaki seviyesi ölçölmektedir. Kan tetkiklerinde bakılan glukoz düzeyinin yüksek olması başta şeker hastalığı olmak üzere birçok hastalıkta görölebilir. Kan glukoz testi öncesi, 10 ile 12 saatlik bir açlık sonrası damardan alınan kan örneğinin biyokimya laboratuvarında test edilmesiyle gerçekleşir. Normal değerleri 60-110 mg/dl'dir. Kan glukoz düzeyleri sıkı bir şekilde düzenlenmiştir. İdrar ile glukoz atılımı olmaz. Diyabet, kronik pankreatit, cushing sendromu ve bazı ilaçlar kan şekerini artırır. İnsülin artışına sebep olan durumlar kan şekerini düşürür (Nicoll, 2014).

2.6.2. Serum lipit testleri

Kan yağları kolesterol ve trigliserid olmak üzere 2 çeşittir. Kolesterol, normalde her insanın kanında bulunan ve hücre zarları ile bazı hormonların yapımında kullanılan bir maddedir. Kolesterol büyük oranda vücutta üretilir, az bir kısmı ise dışarıdan besinler yolu ile alınır. Kolesterolün bir parçası olan LDL kolesterol, kanda kolesterolü taşıyan esas maddedir. LDL kolesterol oranının yüksek olması tehlikelidir, kalp-damar hastalıklarına yakalanmayı artırır ve bu hastalıkların ilerlemesini hızlandırır. LDL kolesterol damarların içyüzüne yapışarak plak denilen yapılar oluşturmakta ve bunlar da ilerleyerek damarlarda darlık ve tıkanıklıklara neden olmaktadır. HDL kolesterol; LDL

kolesterolu taşıyarak damar duvarından uzaklaştırır. HDL kolesterolün yüksek olmasının kalp-damar hastalıklarından koruyucu rolü vardır. Sigara, HDL kolesterol oranını azaltırken, egzersiz ve spor arttırmaktadır. Trigliserid vücudun enerji depolarını oluşturur. Tıpkı kolesterol gibi bir kısmı vücutta yapılıır. Bir kısmı ise besinlerle alınır. Kolesterol kadar olmamakla birlikte kandaki oranının yüksek oluşu, kalp hastalığı riskini artırmaktadır. Lipid profili testleri öncesi 10 ile 12 saatlik bir açlık sonrası damardan alınan kan örneğinin biyokimya laboratuvarında test edilmesiyle gerçekleşir. Lipid düzeyleri yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği).

2.6.3. Demir ve transferrin

Demir fizyolojik ihtiyaçlara bağlı olarak her gün belli miktarda (1 mg/gün) alınması zorunlu bir mineraldir. Vücutta bulunan demirin% 70'i hemoglobinde, %3'ü miyoglobinde bulunur. Kalanı ferritin şeklinde toplanır. Barsaklardan emilimi ihtiyaca göre düzenlenen demir, kanda transferrine bağlanarak taşınır. Normalde transferrin'in yaklaşık %35'i demirle satüredir. Serum demiri transferine bağlanan demir miktarının ölçümüdür. Serum demir düzeyi 50 µg/dl'nin altına düşerse yeni kırmızı kan hücreleri hemoglobinden fakir olur. Demirin plazmadaki taşıyıcısı transferindir. Total demir bağlama kapasitesi transferin tarafından bağlanan demir miktarının ölçümüdür. Total demir bağlama kapasitesi transferin seviyesinin indirekt bir göstergesidir (Pagana ve ark, 2007).

2.7. Hemogram ve Periferik Yayma

Anemilerin değerlendirilmesinde hemogram ve periferik yaymadan yararlanılır. Anemilerde ilk istenmesi gereken laboratuvar testi hemogram olmalıdır. Hemogram testi ile lökosit sayısı, eritrosit sayısı, hemoglobin, hematokrit, MCV ve trombosit sayıları değerlendirilir. Hemogram kandaki hücrelerin özellikle kırmızı hücreler, beyaz hücreler ve trombositlerin sayı ve tipleri hakkında önemli bilgi sağlar. Anormal hemogram sonucu alınırsa periferik yayma hazırlanıp incelenir (Nicoll, 2014).

Periferik yayma incelenmesi ile mikrositoz veya makrositozun teşhis edilmesinin hücre çapı ve volümündeki değişiklikler değerlendirilir. Periferik yayma

aynı zamanda eritrositlerin boyut ve şekil farklılıklarını saptamaktadır. Periferik Yayma eritrosit morfolojisi, lökosit formülü, Trombosit sayısının değerlendirilmesi, olgunlaşmamış ve malign hücrelerin belirlenmesi için kullanılır (Nicoll, 2014).

2.8. DEN (Diethylnitrosamine)

Diethylnitrosamine (DEN) karsinojen bir molekül olarak tarımda kullanılan kimyasal maddelerden, insektisitlerden ve nitrattan dönüşüme uğrayarak oluşmaktadır. Sigara dumanının bileşenlerinden olduğu ve vücudumuza alınan besinlerdeki nitratın midede sekonder ve tersiyer aminlerle reaksiyonu sonucu da oluşabildiği belirtilmektedir (Akyüz ve ark., 2001) DEN deneysel hayvan çalışmalarında yaygın olarak kullanılan çevresel bir karsinojen ve karaciğer harabiyetine sebep olan bir maddedir (Gayathri ve ark., 2009).

Hepatokarsinojen olarak tanımlanan DEN, bireyler birçok yoldan maruz kalabilmektedir. Örneğin sigara dumanı, yiyecek olarak tüketilen et ve alkol gibi ürünlerde bulunmaktadır. Bununla birlikte karaciğerde dejeneratif, proliferatif ve neoplastik değişikliklere neden olabilmektedir (Matsuda ve ark., 2005).

Dietilnitrozaminin aktifleşmesi karaciğerde ksenobiyotik metabolizmasında yer alan cyp450 izoenzimleri tarafından hidroksilasyon ve alkilasyon mekanizması ile meydana gelmektedir. Biyolojik olarak aktifleşen DEN, DNA ile etkileşimde bulunarak bazların etilasyonuna sebep olabilmektedir. DNA'nın etillenmiş kalıntıları baz çiftlerini kesebilir. Mutasyonlara, ras gibi proto-onkogenlerin aktivasyonuna ve p53 gibi tümör süpresör genlerin baskılanmasına neden olabilmekte ve bu durumun sonucunda da hepatosellüler karsinoma oluşabilmektedir (Matsuda ve ark., 2005).

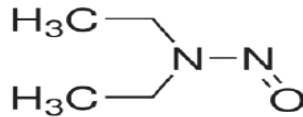
Dietilnitrozaminler elektrofilik maddelerdir. Özellikle nükleik asit ve proteinlerdeki nükleofilik atomlara bağlanırlar. Karsinojenik elektrofiller tarafından proteinlerde değişikliğe uğratılan nükleofilik atomlar, methionin ve sisteindeki kükürt, histidindeki halka azotu ve tirozindeki 3. karbon atomu olarak tespit edilmiştir (Atalay ve ark., 1989; Golkar ve ark., 1988).

Dietilnitrozamin ROS'u arttırarak oksidatif stres ve hücre hasarına sebep olmaktadır. DEN'nin karsinojenik etkilerinden reaktif oksijen türlerinin oluşumu sorumlu olabilmektedir (Pradeep ve ark., 2007).

Reaktif oksijen türlerinin hücre içindeki seviyesinin artmış olması mitokondrial hasar, DNA değişimleri ve lipid peroksidasyonuna sebebiyet vermesi insanlarda kanser ve benzeri birçok hastalık durumuyla sonuçlanabilmektedir.

Dietilnitrozamin teması sonrasında nonparenkimal hücrelerde inflamatuvar bir yanıt oluşabilmekte ve bununla birlikte sitokin ve büyüme faktörü salgılanmaktadır. Bunların sonucunda da DEN ile uyarılmış mutasyonları taşıyan sessiz hepatosit hücrelerinin çoğalmasına neden olmaktadır. Bu süreç sonucunda oluşan yeni hücrelere genetik değişimlerin aktarımı sağlanmaktadır. Bu sürecin ilerleyen dönemlerinde karaciğerde neoplastik oluşumlar, artmış proliferasyon, displazi, hepatosellüler adenom ve hepatosellüler karsinoma oluşabilmektedir (Kang ve ark., 2007).

Dietilnitrozaminin ara ve son ürünleri, DNA'ya bir ya da iki oksidasyon sağlayan elektron ile kovalent bağlanarak tümör başlangıç bölgelerinin bağlanmasına aracılık eder (Ma ve ark, 2003). Tümör promotörü bir süperoksit anyonu tetikleyicisi olarak rol alarak reaktif oksijen molekülleri ve hidrojen peroksit oluşumunu sağlar. Bunun sonucunda da süperoksit ve hidrojen peroksit birikimi oluşarak koruyucu antioksidan mekanizmanın etkisinin yitilmesi ve yüksek oranda reaktif hidroksil radikali birikimine sebep olur. Bunun sonucunda DNA'nın deoksiriboz parçalanması ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte reaktif hidroksil radikalleri lipid membran yağ asitlerinin dehidrojenizasyonuna yol açmaktadır. Lipidlerdeki hidrojenperoksit düzenlenmesi sürecindeki zincir reaksiyonunda hidrojenin ayrılması, hidroperoksit radikallerinin, doymamış çok karbonlu yağ asitlerinin karbonil gruplarının hidrojen atomları ile birleşerek sağlanmaktadır. Nihayetinde de, hücre membranındaki hasar artışı süperoksit ve hidroperoksit radikallerinin lipid peroksidasyonunu artması ile oluşmaktadır (Tharappel ve ark., 2008; Thirynavukkarasu ve Sakthisekaran, 2003).



Şekil 3. DEN formülü



Şekil 4. DEN'nin Ticari Formu

2.9. Epigallokatechin Gallate (Yeşil çay etken maddesi)

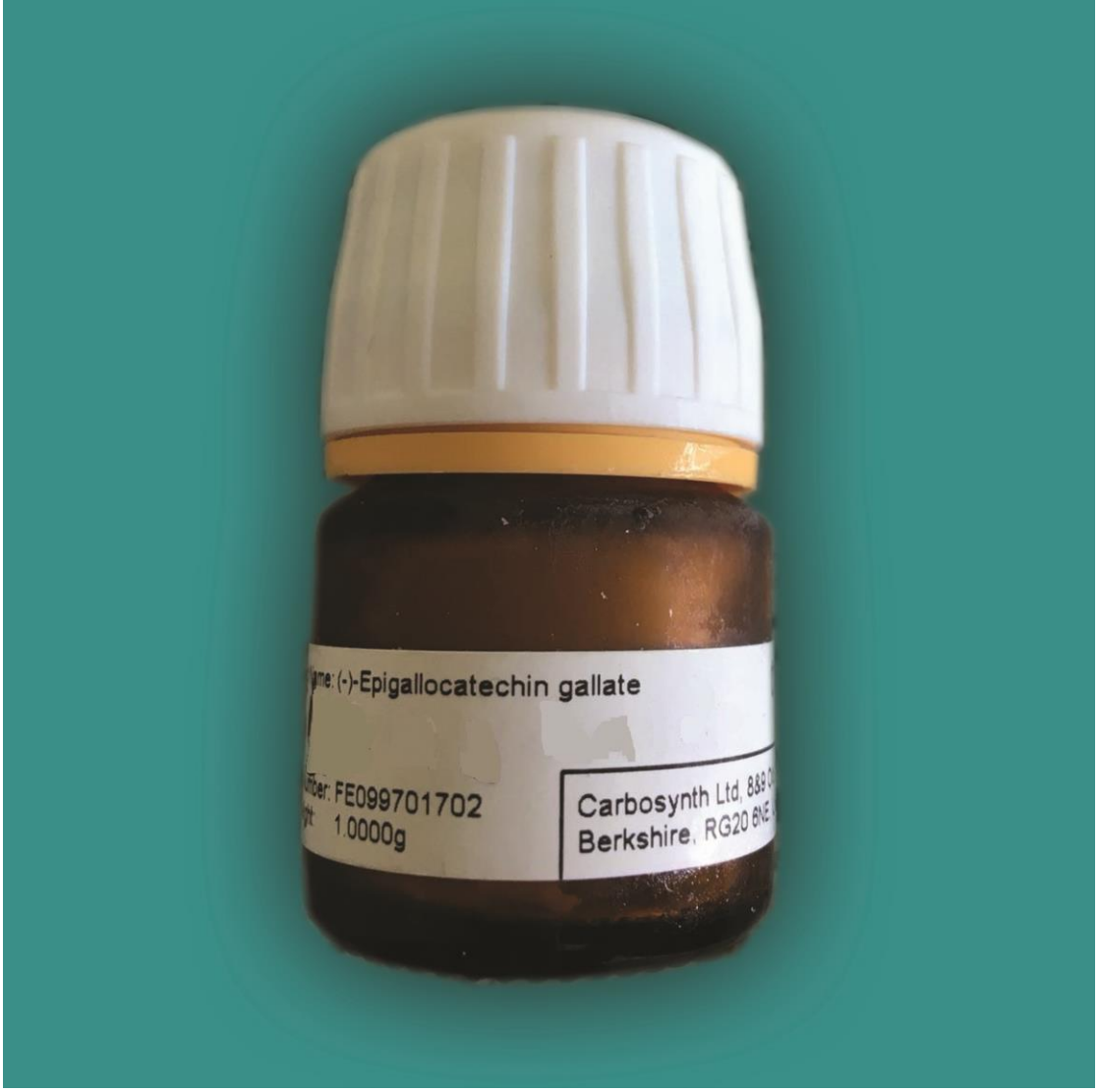
Latince adı *Camellia sinensis* olan çay bitkisi, sudan sonra dünyada en fazla tüketilen içeceklerden biridir. Hindistan, Çin başta olmak üzere yaklaşık dünya nüfusu'nun üçte ikisi çay tüketmektedir. Çay dünyada yaklaşık 30 ülkede üretilmekte ve ülkemizde çay tüketimi ve üretimi de çok yaygındır (Henning ve ark., 2003; Cooper ve ark., 2005).

Dünyada yeşil çay daha çok Japonya, Çin ve Uzak doğu ülkelerinde kullanımı sık iken, siyah çay ise Hindistan ve batısında kalan ülkelerde tüketilmesi yaygın olarak bilinmektedir (Sumpio ve ark., 2006). Çay bitkisinden; siyah çay tam olarak fermante, oolong çayı yarı fermante ve yeşil çay ise fermante edilmeden kullanılmaktadır. Yeşil çay, bitkinin tepe tomurcuğu ve bu tomurcuktan sonra gelen iki yaprağın hasat edilmesiyle üretilen ve bitki yaprağının okside olmamış halidir (Yang ve ark., 2000; Henning ve ark., 2003; Vinson ve ark., 2004; Sumpio ve ark., 2006).

Damak tadına uygun olan çay, bilim çevreleri tarafından tedavi edici olarakta önem arz etmektedir. Çayda bulunan flavonoidlerin çeşitli kanser türleri, kroner hastalıklar ve birçok hastalıklara karşıda koruyucu etki gösterir (Langley-Evans, 2000).

Siyah ve Yeşil çay farklı biyolojik aktif maddeler içerdiklerinden antioksidan etkileride farklıdır. Polifenoller yeşil çayda bulunan flavonoidlerin en büyük gurubunu oluşturur. Çayda bulunan polifenol gurubundan kateşin ve epigallokateşin gallat (EGCG) en fazla bulunmaktadır. EGCG yeşil çayda bulunan bir antioksidandır ve gıdalarımızda bulunan mikroblesinler olan polifenoller ve kateşinler içerir. EGCG kateşinler içinde en fazla antioksidan özelliklere sahiptir. Ayrıca epikateşin gallat (ECG), kateşin (C), epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC), gallokateşin (GC) ve gallokateşin gallat (GCG) farklı oranlarda bulunabilmektedir. Theaflavinler (TF) ve Thearubiginler (TB) siyah çayda bulunan en önemli kateşin guruplarıdır. Bunlar çayın siyah rengini almasını ve buruk aromasını belirlerler (Serafini ve ark., 1996).

Bazı çalışmalarda yeşil ve siyah çayın kalp damar hastalıkları, hipertansiyon, mide ve barsak hastalıkları, bazı kanserlere, karaciğer hastalıkları ve artrite karşı koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalarda ayrıca antiviral ve antiinflamatuvar ve kemik yoğunluğunu düzenleyici etkilere de sahip olduğunu rapor edilmiştir. Bu iki çayın içerisinde bulunan polifenolik bileşikler nedeniyle antioksidan etkilerinin olduğu ve bu sebeple kronik hastalıklardan koruyucu etkisini bu yolla yaptığı belirtilmektedir (Weisburger ve ark., 2002; Cooper ve ark., 2005; Gardner ve ark., 2007).



Şekil 5. EGCG'nin Ticari Formu

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Kullanılacak hayvanlar ve çalışma için Van YYÜ Etik kurulundan 2017 TYL 6343 nolu proje ile izin alınarak başlandı. Yine çalışmanın ağırlıklı kısmını Van YYÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışmanın bir kısmı ise hizmet alımı karşılığında Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hastanesi biyokimya ve hematoloji laboratuvarında çalışıldı. Çalışmada ortalama 3 aylık, 50 adet (200-250 gr) Wistar albino cinsi rat kullanıldı. (Şekil 6) Grup olarak uygulama için her grupta onar adet olarak beş gruba ayrıldı. Çalışma öncesi ve süresince her gün hayvanlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

Grup I (Kontrol): Her hangi bir şey verilmedi.

Grup II (Kontrol Sham): İlk gün serum fizyolojik 0,5 ml/kg/ IP tek doz uygulandı.

Grup III (DEN): İlk günde 150 mg/kg/IP DEN tek doz enjekte edildi.

Grup IV (EGCG): İlk günden itibaren 10 gün boyunca her gün oral yolla EGCG 10 mg/kg/gün verildi.

Grup V (DEN+EGCG): İlk gün tek doz 150 mg/kg/gün DEN IP ile uygulandı. İlk günden itibaren 10 gün boyunca her gün oral yolla EGCG 10 mg/kg/gün verildi. (Şekil 8)



Şekil 6. Kafeslerdeki sıçan gruplarının görüntüsü



Şekil 7. Sıçanların kafesteki görünümü



Şekil 8. Sıçanlara gavaj uygulaması

Deney sonunda anestezi altında kan örnekleri için hayvanların kalbinden enjektörle kanlar alındı. Kan örneklerinden tam kan sayımı ve histolojik olarak periferik yayma gerçekleştirilerek kan hücre morfolojileri ve buna ek olarak kan biyokimya parametrelerinden lipid profili, ALT, AST ve kan glukoz düzeyi incelendi.

3.1.1. İstatistiksel Analiz

Çalışmamıza dahil olan guruplardan elde edilen sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; medyan, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından, gurupları birbiriyle karşılaştırmada Kuruskal Wallis testi kullanılmıştır. İkili grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi (α)%5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (IBM SPSS for Windows, ver.24) istatistik paket programları kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik yayma

Ratlarda alınan bir damla kan direkt lamın üzerine 15°'lik açıyla yayılır. Oda ısısında 30 dakika kurutulmaya bırakılır. Daha sonra içeriğinde Azur A, metilen mavisi eozinat (Cl-52005, 52015, 45380)>1.5 g/l, surfaktan, tamponlar, koruyucular, stabilizatörler ve metanol olan My grunwald boyasıyla 5 dakika tespit edilerek boyandı. Daha sonra distile sudan geçirilerek 10 dakika boyunca kurutulmaya bırakıldı. Kurutulduktan sonra %10'luk distile suyla seyretilmiş Ph'sı 7.0 olan Giemsa's azur-eosin metilen mavisi boyası ile 10-15 dakika boyandı. Tekrar distile sudan geçirilerek oda ısısında kurutuldu ve mikroskopta incelemek üzere preparatlar hazır hale getirildi.

Mikroskobik İnceleme: Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda 10'luk ve 40'luk merceklerle genel saha taraması yapılır ve ayrıntılı incelemek için immersiyon yağı ile 100'lük merceklerle inceleme yapıldı. Bu boyama yöntemi ile boyanan kan hücrelerinden Eritrositler pembe gri tonlarında, Lökositlerin stoplazmaları pembe-kırmızı, içerisindeki granüller koyu-mor tonlarında, Trombositler ise açık koyu, pembe ve kırmızı tonlarında boya alırlar.

3.2.2. Hemogram

Hemogram: K2-EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) Kan tüplerinde Nihon Kohden Celltac G Otomatik Hematoloji Analizörü MEK-9100 cihazında Hemolynac-310 ve Hemolynac-510 Lysing reaktif ticari kiti ile aşağıdaki yönteme göre çalışıldı.

WBC, RBC ve PLT: elektiriksel direnç algılama, HGB: kolorometrik yöntem ve WBC ayrımı ise saçılım diyagramından hesaplanmıştır. MCV, MCH ve MCHC: RBC, HGB ve HCT'den hesaplanmıştır. PCT: PLT, PDW: PLT ve P-LCR: PLT histogramından MPV ise PLT ve PCT'den hesaplandı. RDW-CV ve RDW-SD: RBC histogramından hesaplandı.

3.2.3. Karaciğer fonksiyon testleri

ALT ve AST testleri Abot Firmasının ARCHİTECT C 16200 cihazına uyarlı, ticari kitlerle spektrofotometrik yöntemle çalışıldı.

3.2.4. Serum biyokimyasal analizleri

Serum trigiliserit, kolesterol, HDL, LDL, glukoz düzeyi, demir, demir bağlama, transferin ve AlkP testleri Abot Firmasının ARCHİTECT C 16200 cihazına uyarlı, ticari kitlerle spektrofotometrik yöntemle çalışıldı.

4. BULGULAR

4.1. Periferik Yayma

Periferik kan yayması yapılmasındaki amaç; kan hücrelerinin morfolojik yapılarını değerlendirmek ve gruplar arasında karşılaştırma yapmaktır.

Grup I (Kontrol): Eritrositler normokrom, normositer hafif anizositoz yer yer eritrositlerde polikromazi mevcut. Trombositler yeterli ve kümeli olarak izlendi. Lökositlerde belirgin lenfosit hâkimiyeti mevcuttur. Bulgularımız sıçanlara ait normal hematolojik değerleri içeren rehber kitaptaki değerler ile örtüşmektedir; Canadian Council on Animal Care (2017). Bunun yanında nötrofillerde yer yer hipersegmentasyon görüldü.

Grup II (Kontrol Sham): Eritrositler, normokrom, normositer yer yer eritrositlerde polikromazi mevcut. Trombositler kümeli olarak izlendi. Lökositlerde belirgin bir şekilde lenfosit hâkimiyeti mevcut olup, nötrofillerde hipersegmentasyon izlendi.

Grup III (DEN): Eritrositler normokrom, normositer hafif anizositoz yer yer eritrositlerde polikromazi mevcut. Trombositler yeterli ve kümeli olarak izlendi. Lökositlerde belirgin lenfosit hakimiyeti mevcut. Bunun yanında nötrofillerde yer yer hipersegmentasyon görüldü.

Grup IV (EGCG): Eritrositler normokrom, normositer hafif anizositoz yer yer eritrositlerde polikromazi mevcut. Trombositler yeterli ve kümeli olarak izlendi. Lökositlerde belirgin lenfosit hakimiyeti mevcut. Bunun yanında nötrofillerde yer yer hipersegmentasyon görüldü.

Grup V (DEN+EGCG): Eritrositler normokrom, normositer hafif anizositoz yer yer eritrositlerde polikromazi mevcut. Trombositler yeterli ve kümeli olarak izlendi. Lökositlerde belirgin lenfosit hâkimiyeti mevcut olup, bunun yanında nötrofillerde yer yer hipersegmentasyon görüldü (Tablo 1) (Şekil 9-14).

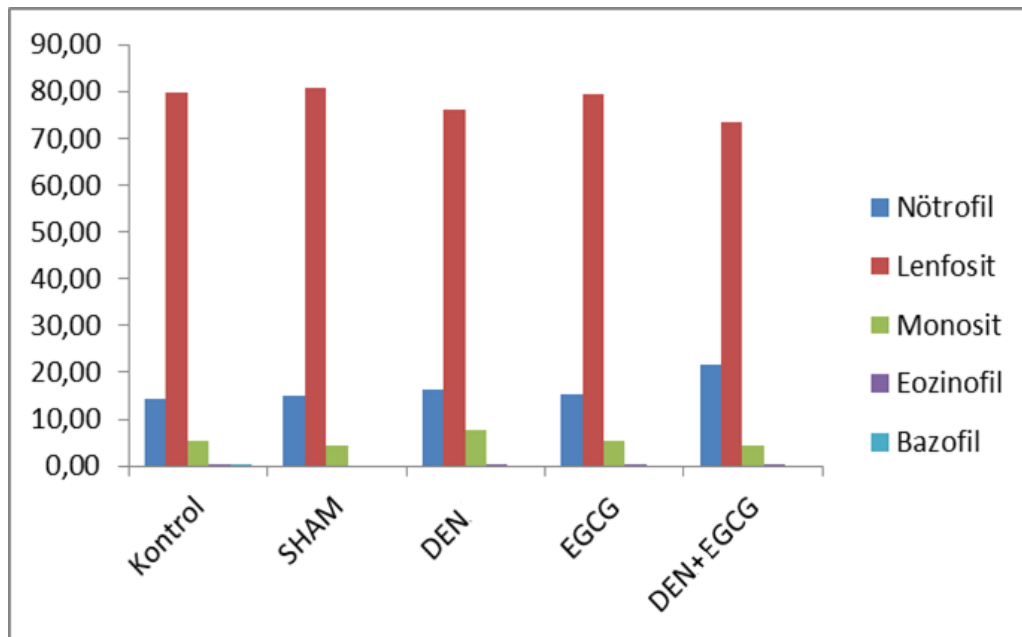
Tablo 1. Gruplara ait periferik yayma sonuçları

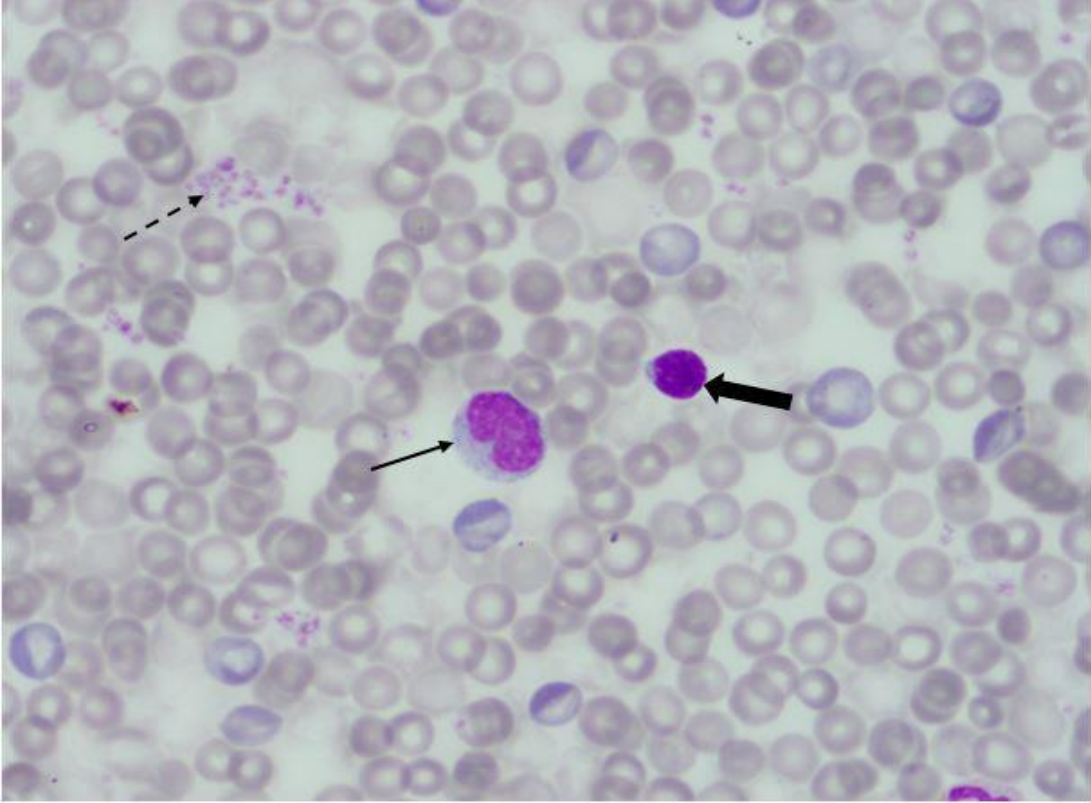
	Kontrol	SHAM	DEN	EGCG	DEN+EGCG
Nötrofil	14.5±1.8a	14.9±1.5a	16.2±1.6a	15.3±1.1a	21.8±2.4a
Lenfosit	79.8±2.2a	80.8±1.3a	76.2±2.3a	79.3±1.2a	73.6±2.9a
Monosit	5.3±1.7a	4.3±1.4a	7.6±2.4a	5.5±1.7a	4.4±1.4a
Eozinofil	0.3±0.2a	0±0a	0.2±0.2a	0.4±0.4a	0.2±0.2a
Bazofil	0.1±0.1a	0±0a	0±0a	0±0a	0±0a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

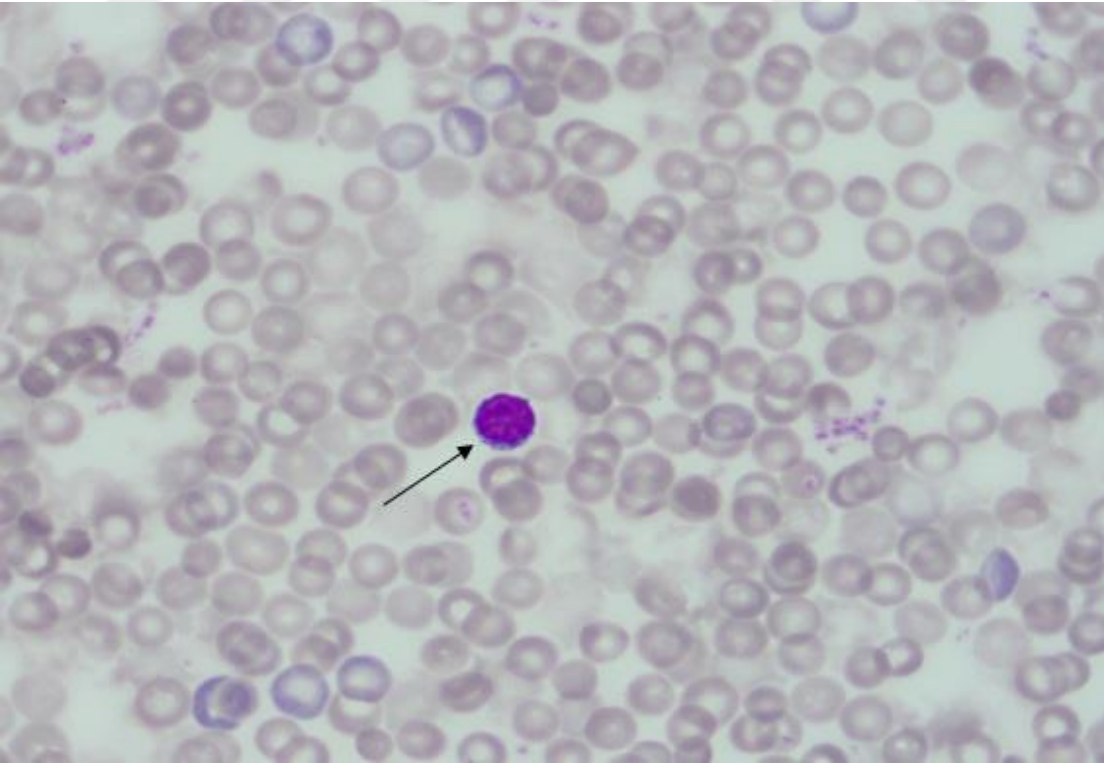
Periferik yayma sonuçları Nihon Kohden Celtac G Otomatik Hematoloji Analizörü MEK-9100 Cihazı ile ölçülen hücre sayımlarına oransal olarak benzer gözlenmiştir. Sonuçlar yüzdelik değer olarak verilmiştir. Tablo 1 ve 2’de görüldüğü üzere en yüksek Nötrofil oranı DEN+EGCG grubunda tespit edilmiştir. Lenfosit en yüksek SHAM grubunda, Monosit ise en yüksek DEN grubunda gözlenmiştir. Eozinofil SHAM grubunda tespit edilememiştir. Bazofil sadece Kontrol grubunda gözlenebilmiştir. Periferik yayma sonuçlarında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Tablo 2. Gruplara ait periferik yayma sonuçlarının toplu halde gösterimi

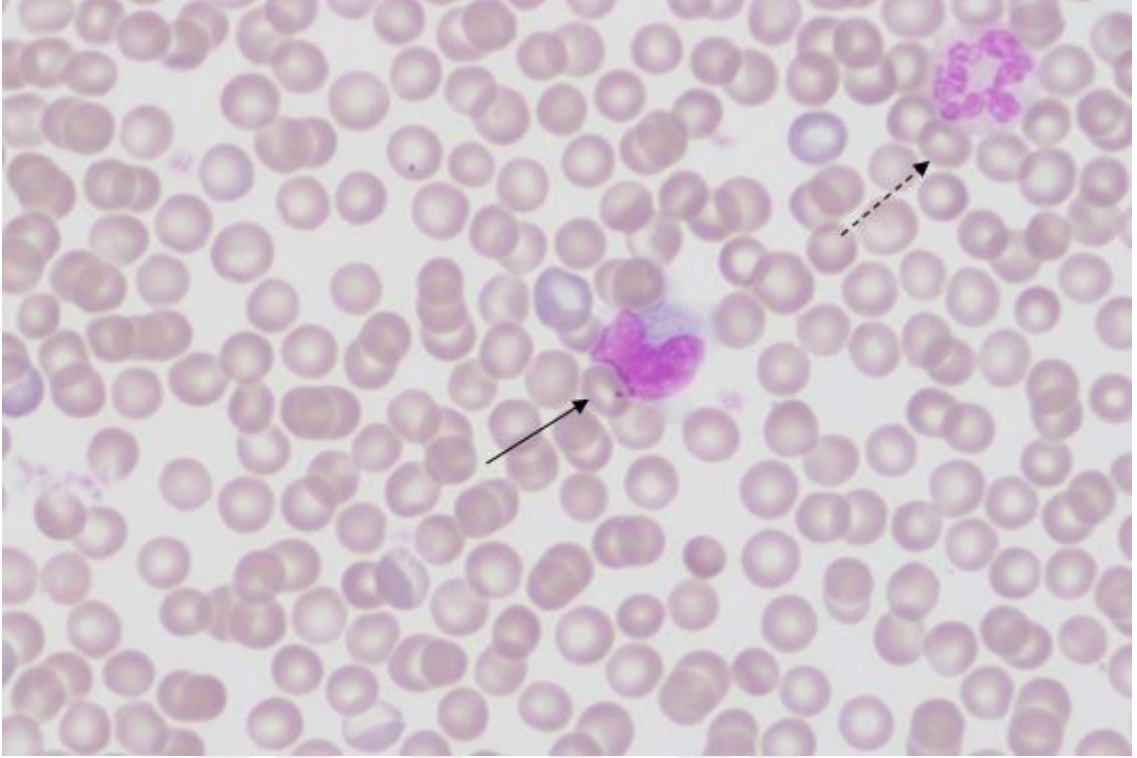




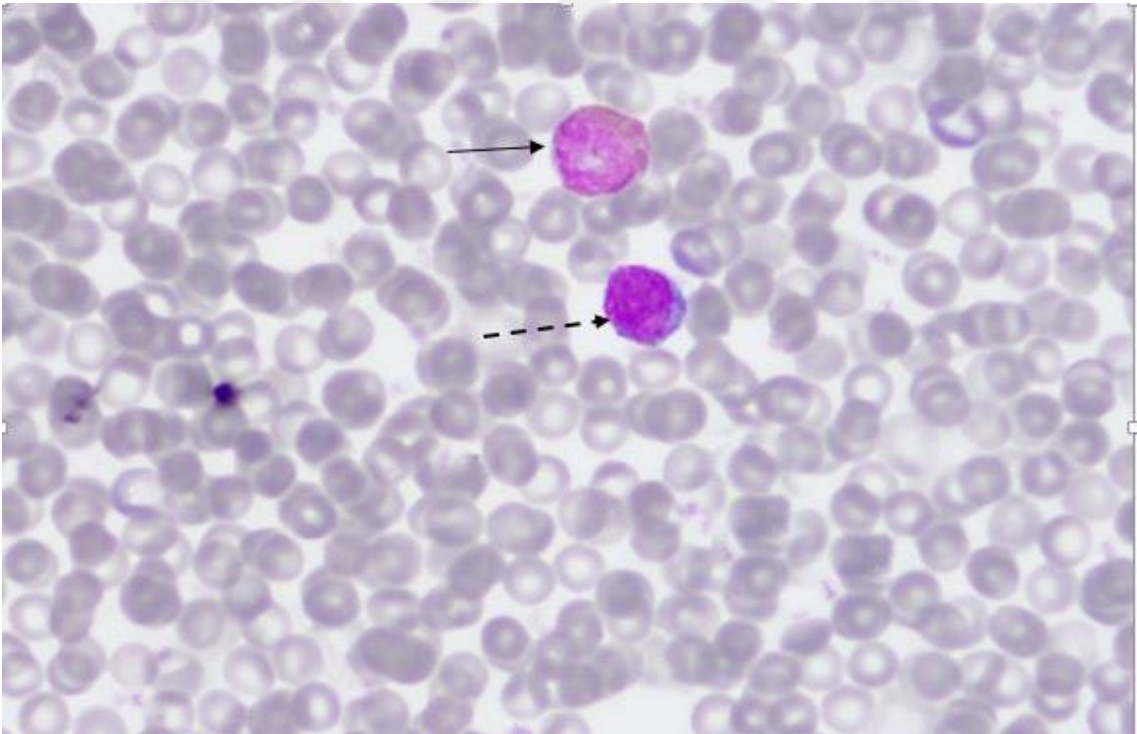
Şekil 9. Periferik kan hücrelerinden kalın ok lenfosit, ince ok monosit ve kesikli ok trombositlerin genel görünümü (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100



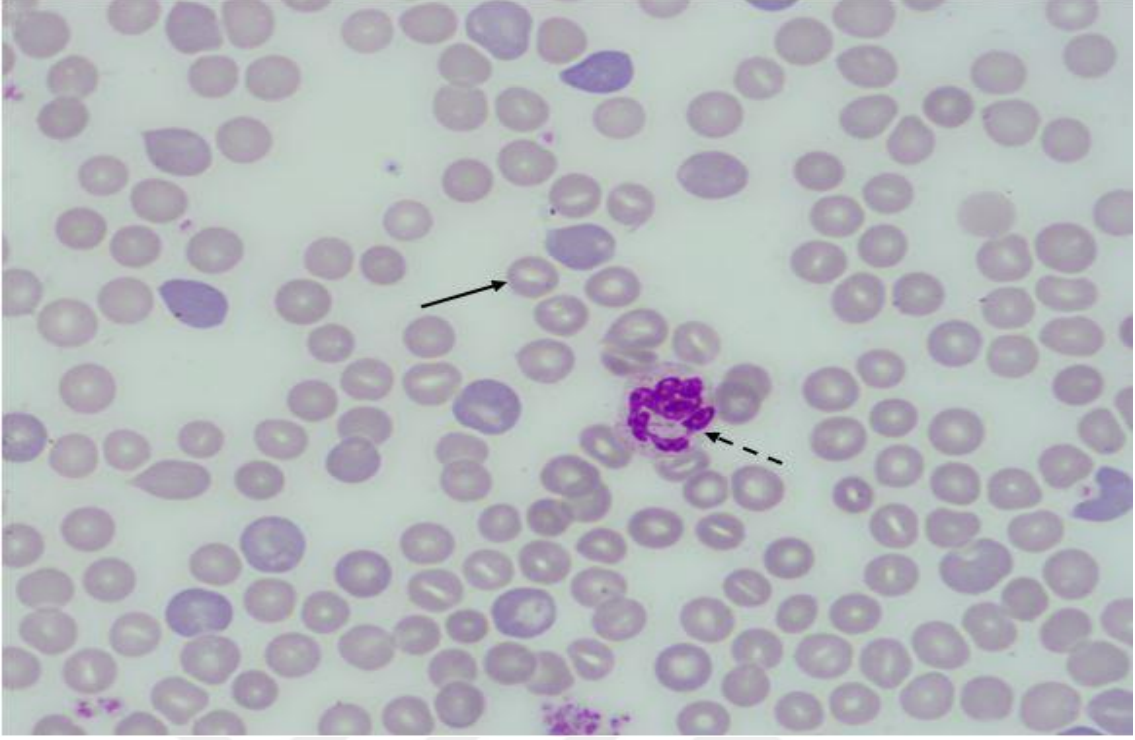
Şekil 10. Periferik kanda düz ok lenfosit (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100



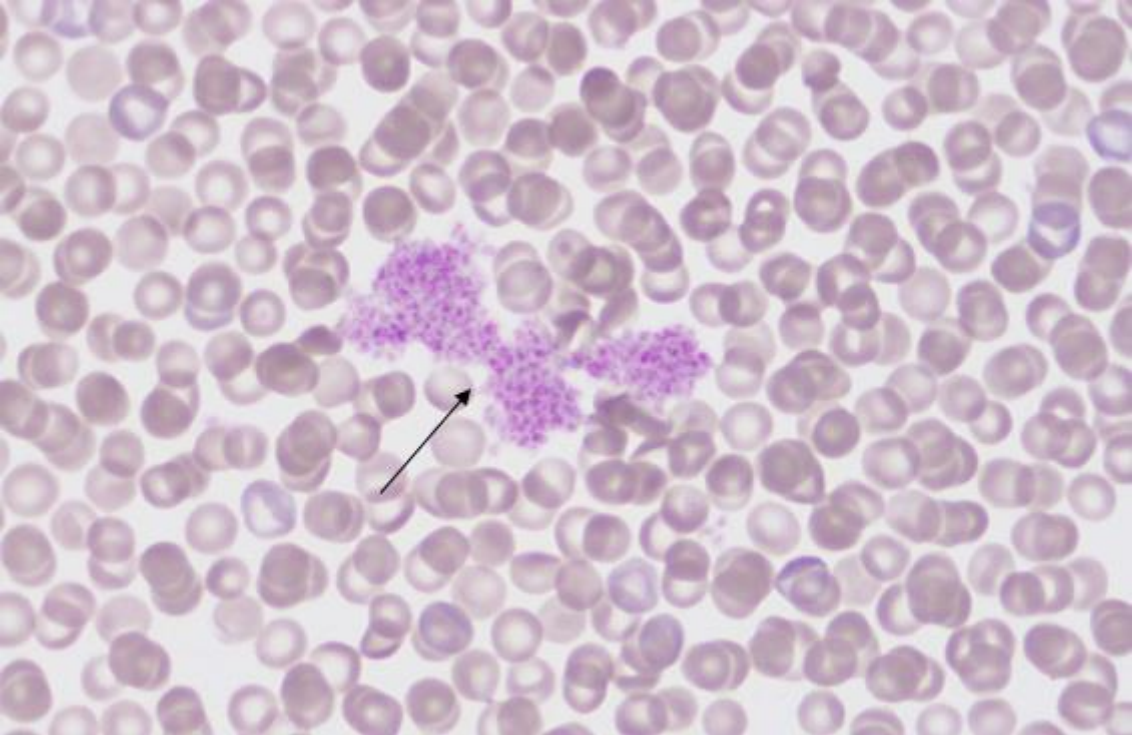
Şekil 11. Periferik kanda kesikli ok n6trotfil, ince ok monosit (May Grunwald-Giemsa)
Büyütme x100



Şekil 12. Periferik kanda düz ok eozinofil kesikli ok lenfosit (May Grunwald-Giemsa)
Büyütme x100



Şekil 13. Periferik kanda ince ok eritrosit, kesikli ok nötrofil (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100



Şekil 14. Periferik kanda ince ok trombositler (May Grunwald-Giemsa) Büyütme x100

4.2. Hemogram Bulgular

Araştırma çalışmasında DEN, EGCG ve bu iki kimyasal birlikte uygulandığında hematolojik parametreler üzerine incelenmesi sonucunda kırmızı kan hücresi parametreleri (RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD), beyaz kan hücresi parametreleri (WBC, NE, LY, MO, EO, BA), trombosit parametreleri (PLT, PCT, MPV, PDW, P-LCR) değerlerinde farklı sonuçlar elde edilmiştir.

RBC en düşük kontrol grubunda gözlenmiş olup (7.33) diğer tüm gruplarda kontrole göre anlamlı derecede yüksek fark gözlenmiştir ($p<0.05$). HGB değerinde de en düşük değer kontrol grubunda gözlenmiş (14.33) diğer tüm gruplar kontrole göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). HCT grubunda da benzer şekilde en düşük değer kontrol grubunda gözlenmiş (47.08) diğer tüm gruplar kontrole göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). MCV, MCH, MCHC, RDW-CV ve RDW-SD değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Anılan parametrelere ait değerler Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Gruplarda eritrosite ait hematolojik parametreleri

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW-CV	RDW-SD
.Kontrol	7.33b	14.33b	47.08b	64.59a	19.63a	30.47a	17.97a	46.34a
Sham	8.24a	15.94a	51.50a	62.63a	19.39a	30.94a	18.66a	46.72a
DEN	7.94a	15.80a	50.19a	63.19a	19.65a	31.07a	18.39a	46.47a
EGCG	8.27a	15.72a	51.37a	62.10a	19.00a	30.6a	18.91a	46.99a
DEN+EGCG	8.40a	15.85a	51.06a	60.82a	18.90a	31.05a	18.96a	46.10a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

WBC, en yüksek EGCG grubunda (11.21), en düşük DEN+EGCG grubunda gözlenmiştir (7.74). Diğer gruplarda sırasıyla kontrolde 8.65, Sham grubunda 10.23 ve DEN grubunda 10.78 olarak gözlenmiştir. EGCG grubundaki değer kontrole ve DEN+EGCG grubuna göre anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir ($p<0.05$).

Nötrofil değeri DEN (4.24), EGCG (3.87) ve DEN+EGCG (4.10) gruplarında istatistiksel olarak benzer bulunurken bu gruplar kontrol (2.57) grubuna göre anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur. Sham grubundaki değer ise (3.48) diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmamıştır ($p<0.05$).

Monosit değeri en yüksek Sham grubunda (0.33) ve en düşük DEN+EGCG grubunda (0.14) gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol (0.24), DEN (0.26) ve EGCG (0.27) grupları kendi aralarında ve diğer gruplarla istatistik açıdan farklı bulunmamıştır.

Eozinofil değeri Sham (0.06), EGCG (0.06) ve DEN gruplarında (0.04) Kontrol (0.03) ve DEN+EGCG (0.02) gruplarına göre fark anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir.

Bazofil değeri Sham grubunda (0.67) Kontrol (0.45) ve DEN+EGCG (0.34) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek fark gözlenmiştir. DEN (0.51) ve EGCG (0.52) grupları kendi aralarında ve diğer gruplarla istatistik açıdan farklı bulunmamıştır. Lökosit formülü değerlerine ait veriler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Grupların lökosit formülü

	WBC	NE	LY	MO	EO	BA
Kontrol	8.65bc	2.57b	5.35a	0.24ab	0.03b	0.45b
Sham	10.23ab	3.48ab	5.69a	0.33a	0.06a	0.67a
DEN	10.78ab	4.24a	5.73a	0.26ab	0.04b	0.51ab
EGCG	11.21a	3.87a	6.51a	0.27ab	0.06a	0.52ab
DEN+EGCG	7.74c	4.10a	3.14b	0.14b	0.02b	0.34b

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

Trombosit değerleri açısından Kontrol, Sham, DEN, EGCG ve DEN+EGCG grubunda anlamlı farklılık göstermemiştir. Trombosit değerlerine ait veriler Tablo 5’te verilmektedir.

Tablo 5. Gruplara ait trombosit değerleri

	PLT	PCT	MPV	PDW	P-LCR
Kontrol	797.77a	0.51a	6.37a	15.33a	18.35a
Sham	737.68a	0.48a	6.44a	15.51a	18.99a
DEN	774.15a	0.51a	6.36a	15.29a	17.92a
EGCG	793.89a	0.51a	6.47a	15.50a	19.42a
DEN+EGCG	795.79a	0.50a	6.23a	15.36a	17.20a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmada DEN, EGCG ve bu iki kimyasalın birlikte uygulandığı durumun biyokimyasal parametreler üzerine incelenmesi sonucunda demir parametreleri (Transferin, Demir ve Demir bağlama), lipid parametreleri (HDL, LDL, Trigliserit ve Kolesterol), karaciğer enzimleri (AST, ALT, LDH, AlkP) ve glukoz düzeylerinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Transferrin, demir ve demir bağlama açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu parametrelere ait değerler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Gruplara ait transferin, demir ve demir bağlama değerleri

	Transferin	Demirbağlama	Demir
Kontrol	0.95a	186.70a	112.90a
Sham	0.89a	198.10a	89.20a
DEN	0.93a	200.40a	100.30a
EGCG	0.90a	182.89a	101.67a
DEN+EGCG	1.02a	216.50a	119.00a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

Trigliserid ve LDL değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Kolesterol değeri DEN+EGCG (42.00) grubunda kontrol (31.80), Sham (27.60) ve DEN (30.70) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir. EGCG (35.00) grubu ise diğer gruplarla anlamlı derecede farklı bulunmamıştır. HDL

değeri açısından DEN+EGCG (25.91) grubu diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir. Gruplara ait lipit profili değerleri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Gruplara ait lipit profili değerleri

	Trigiliserit	Kolesterol	LDL	HDL
Kontrol	73.50a	31.80b	15.11a	18.74b
Sham	66.40a	27.60b	15.45a	16.29b
DEN	70.10a	30.70b	14.43a	19.60b
EGCG	80.78a	35.00ab	17.80a	20.37b
DEN+EGCG	56.50a	42.00a	16.98a	25.91a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

Glukoz değeri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Gruplara ait glukoz değerleri Tablo 8’de verilmektedir.

Tablo 8. Gruplara ait glukoz değerleri

	Glukoz
Kontrol	132.00a
Sham	119.60a
DEN	106.60a
EGCG	115.38a
DEN+EGCG	136.30a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

AST ve LDH değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. ALT değeri DEN+EGCG (29.20) grubunda EGCG (21.56), Sham (21.00) ve kontrol (19.30) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DEN (25.10) grubu da kontrole göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. AlkP değeri açısından DEN+EGCG (339.40), kontrol (267.80) ve EGCG (226.38) grubuna göre anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir. Sham (289.10) ve DEN (327.10) grupları kendi

aralarında ve kontrole göre anlamlı farklılık göstermemiştir. Gruplara ait karaciğer enzim değerleri Tablo 9’da verilmektedir.

Tablo 9. Gruplara ait karaciğer enzim değerleri

	AST	ALT	LDH	AlkP
Kontrol	54.50a	19.30c	1237.10a	267.80bc
Sham	49.60a	21.00bc	1158.50a	289.10abc
DEN	61.70a	25.10ab	1475.00a	327.10ab
EGCG	58.56a	21.56bc	1267.38a	226.38c
DEN+EGCG	77.30a	29.20a	986.40a	339.40a

Farklı harfler aynı satırdaki gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derece farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$). Aynı satırda aynı harfe sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 10. Grupların ağırlık kayıtları

Ağırlıklar	Kontrol	SHAM	DEN	EGCG	DEN+EGCG
Başlangıç	199.60±21.04	194.80±30.31	193.20±21.95	200.40±31.96	200.60±30.75
Kesim Öncesi	220.00±19.11	235.40±26.25	225.00±15.78	224.40±19.93	225.00±19.89

Gurupların ağırlık değerlendirilmesi deney süresince ağırlık açısından gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir. (Tablo 10)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Periferik Yayma Değerlendirilmesi

Periferik yayma sonuçları kontrol ve diğer gruplarda istatistiki yönden anlamlı bir farklılığın ortaya çıkmadığını göstermektedir. Bu durum Diethylnitrosamine (DEN) ve Epigallokatechin gallate (EGCG)'nin ve bunların birlikte uygulandığı durumların periferik yayma üzerinde muhtemelen uygulama süresi kısıtlamasına bağlı olarak belirgin bir etkiye bulunmadığını düşündürmektedir. Bulgularımız sıçanlara ait normal değerleri içeren rehber kitaptakine uygun bulunmuştur (Canadian, 2017).

Her ne kadar cihaz ile ölçülen hematolojik parametrelerde gözlenen bazı anlamlı farklılıklar periferik yaymada gözlenmemiş olmakla birlikte nötrofil ve lenfosit değerlerinde cihazla ölçülene benzer oranlar gözlenmiştir. Bu durum cihaz ile periferik yayma arasında paralellik olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan eozinofil ve bazofil değerlerinde bazı gruplarda bu hücreler periferik yaymada tespit edilememiştir. Periferik yayma, mikroskopta 100'lük büyütmede gerçekleştirilen bir örneklem yöntemi olduğu için oransal olarak diğer lökositlere göre oldukça az olan eozinofil ve bazofil bazen gözlenmemektedir. Ancak gözlenmemiş olması olmadığı anlamına gelmemektedir. Bu iki parametre için tezde Nihon Kohden Celtac G Otomatik Hematoloji Analizörü MEK-9100 cihazı ile çalışılan sonuçları dikkate alınmıştır.

5.2. Hematolojik Sonuçlar

RBC değerinin en düşük kontrol grubunda gözlenmiş olması deneysel süreçte yapılan tüm diğer uygulamaların bu parametreyi anlamlı derecede artırdığını ortaya koymaktadır. Bu artış söz konusu uygulamalar sırasında hayvanlara verilen stres ile ilişkilendirilebilir. HGB ve HCT değerlerinin de en düşük kontrol grubunda gözlenmiş olması benzer bir şekilde açıklanabilir. Ancak RDW değerlerinde fark gözlenmemesi kontrol grubu dışındaki gruplara yapılan uygulamaların eritrosit dağılım genişliğini etkilemediğini düşündürmektedir.

Ramesh ve ark. (2010) aterosklerotik diyet uygulanan tavşanlarda EGCG'nin etkilerini incelemişler ve EGCG'nin kontrol grubuna göre WBC'yi anlamlı olarak yükselttiğini gözlemişlerdir.

WBC parametresinde en yüksek değerin EGCG grubunda görülmesi yeşil çayın etken maddesi olan EGCG'nin bu açıdan WBC sayısını artırıcı bir etkide bulunuyor Şeklinde grlmektedir. Ancak DEN ile birlikte EGCG'nin uygulanması bu değeri kontrole yakın bir değere düşürmektedir.

DEN ve EGCG'nin WBC'yi kontrole yaklaştırması bu iki kimyasalın hematopoitik sistemi sinerjistik kullanım durumunda tek başlarına uygulandığı durumdan farklı bir Şekilde etkiledikleri sonucunu düşündürmektedir. Hematopoez, başta Eritropoietin olmak üzere çok çeşitli ve farklı sayıda sitokin ve diğer hümoral faktörlerin dahil olduğu karmaşık bir mekanizmadır. DEN ve EGCG'nin birlikte uygulanması tek başlarına uygulandığı duruma göre başlangıçta öngörülemeyen bir Şekilde etkide bulunmuş olabilir. DEN ve EGCG'nin bizim deney protokolünde uyguladığımız Şekilde kullanımının hematopoitik faktörler ile etkileşiminin inceleneceği ileri çalışmalar bu mekanizmayı aydınlatılabilir.

Nötrofil değeri açısından da gerek EGCG gerek DEN gerekse DEN+EGCG uygulaması Kontrole göre Nötrofil parametresinde anlamlı artışa neden olmuştur. Bu durum akut inflamasyonun göstergelerinden biri olan Nötrofillerin bu kimyasallar ile arttığını düşündürmektedir. Monosit değeri en yüksek Sham grubunda ve en düşük DEN+EGCG grubunda gözlenmiştir. Benzer biçimde Sham uygulaması da Bazofil değerinin en fazla arttığı grup olarak gözlenmiştir.

İncelenen trombosit parametreleri açısından Kontrol, Sham, DEN, EGCG ve DEN+EGCG grubunda anlamlı farklılık gözlenmemiş olması söz konusu kimyasalların trombosit değerlerine etkide bulunmadığını düşündürmektedir.

5.3. Biyokimyasal Sonuçlar

Çalışmada Diethylnitrosamine (DEN), Epigallokatechin gallate (EGCG) ve bu iki kimyasalın birlikte uygulandığı durumun hematopoitik sistemin demir metabolizması ile ilgili etkisini değerlendirmek amacıyla Transferrin, Demir ve Demir bağlama değerlerine bakılmıştır. İncelenen bu parametrelerde istatistiksel olarak farklılık gözlenmemesi DEN ve EGCG'nin söz konusu parametrelere belirgin etkide bulunmadığını düşündürmektedir. İstatistiksel anlamlılık olmamakla birlikte Transferrin, Demir bağlama ve Demir değerlerinde Kontrole göre en yüksek değerlerin DEN+EGCG grubunda gözlenmesi kısa süre içinde gözlenmemesine karşın uzun

dönemde bu kimyasalların kullanılması ile anlamlı farkların ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (Arslan ve ark., 2004). C vitamini yüklemesi yapılan güreşçilerde bu uygulamanın demir emilimini artırdığını ancak diğer taraftan demirin depolanması üzerinde etkili olmadığını ortaya koymuştur. (Wang ve ark., 2000). Araştırma çalışmalarında günde 3-4 fincan çay içimi sonrasında demir eksikliği ile ilişkili kansızlık probleminin ortaya çıkmadığı aktarılmıştır. Suliburska ve ark.'nın gerçekleştirdiği bir çalışmada (2012) yeşilçay tüketen gruptaki bireylerin glikoz ve demir seviyelerinin kontrol grubundan düşük olduğu tespit edilmiş.

Kolesterol değeri açısından en yüksek değerlerin DEN+EGCG grubunda görülmesi, anlamlı olmamakla birlikte EGCG grubunda da Kontrole göre yüksek gözlenmesi EGCG'nin kolesterolü artırıcı etkisinden olabilir. HDL değerinde de benzer şekilde en yüksek değer DEN+EGCG grubunda gözlenmiştir ($p<0.05$). Glukoz değeri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiş olması uygulanan kimyasalların glukoz metabolizması üzerine doğrudan etkisi olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Gübür (2015) çalışmasında Fruktozlu beslenen sıçanlarda ve kontrol grubunda glukoz düzeyleri yeşil çay grubuna göre yüksek çıkmıştır ($p<0.05$). Ancak HDL, LDL ve total kolesterol düzeylerinde farklılık görülmemişir ancak fruktoz grubunda Trigliserit düzeyleri kontrol ve yeşil çaylı grubuna göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p<0.05$). Suliburska ve ark. (2012) yeşil çay tüketen gruptaki bireylerin HDL ve kolesterol seviyelerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Bir çalışmada Çelik ve Tülüce (2007), sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada kimyasal bir karsinojen olan Trikloroasetik asit (TCA) üzerine 2 şifalı bitki olan *Camellia sinensis* (CS) ve *Urtica dioica* L. (UD) koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada ALT, AST ve AlkP gibi karaciğer enzimlerinin düzeyleri değerlendirilmiştir. Kontrol gurubuna göre TCA+CS ve TCA+UD guruplarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca bu çalışmada TCA maruziyetine kalan sıçanlarda oksidatif stres meydana geldiğini, TCA ile ortaya çıkan oksidatif hasara karşı CS ve UD'in önemli bir koruyucu etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise DEN kontrol gurubuna göre ALT ve AST'yi anlamlı derecede yükseltmiş ve DEN ile birlikte uygulanan EGCG değerini aşağıya düşürememiştir.

Çalışmamızda serum AST ve LDH değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiş olmasına karşın ALT değeri DEN+EGCG grubunda EGCG, Sham ve

kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DEN grubunda ise kontrole göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Bu durum karaciğer fonksiyonlarını gösteren önemli bir enzim olan ALT'nin bu kimyasallar ile etkilenmiş olduğunu ortaya koymaktadır. AlkP değeri açısından DEN+EGCG, Kontrol ve EGCG grubuna göre anlamlı derecede yüksek gözlenmiştir. Bu durum tek başına uygulandığında DEN ve EGCG'nin kontrole göre ALT açısından anlamlı etkide bulunmadığı ancak birlikte uygulandıklarında DEN ve EGCG'nin bu parametreyi kontrole göre anlamlı şekilde değiştirdiği söylenebilir.



Sonuç ve Öneriler:

1) Epigallokatechin gallate (EGCG) (10 mg/kg/gün) ve Diethylnitrosamine (DEN) (150 mg/kg/gün) uygulamaları periferik yaymada morfolojik açıdan belirgin değişikliğe neden olmamıştır.

2) Çalışmamızda verilen kimyasallar trombositlerde anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bu durum pıhtılaşma sürecindeki en önemli hücresel eleman olan trombositler üzerinde belirtilen doz ve sürede DEN ve EGCG'nin anlamlı etkileri bulunmadığı düşünülebilir.

3) RBC, HGB ve HCT değerleri kontrol dışındaki tüm belirtilen doz ve süredeki uygulamalarda anlamlı derecede artış göstermiştir.

4) EGCG, WBC ve Nötrofil değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede artırmıştır. Söz konusu bu durum EGCG'nin bağışıklık sistemi üzerinde bir etkisi olabileceğini destekler niteliktedir.

5) Serum transferrin, demir, demir bağlama, trigliserit, kolesterol ve LDL düzeylerine göre gruplar arasında fark gözlenmemiştir. HDL düzeyleri DEN+EGCG uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. DEN uygulaması ALT'yi kontrol grubuna göre anlamlı derecede artırmıştır. DEN+EGCG grubunda ise ALT ve AlkP kontrol ve EGCG grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Bu durum DEN'nin karaciğer fonksiyonlarının üzerine olumsuz bir etkisinin bulunduğunu ortaya koymaktadır. EGCG'nin bu parametreleri artırıcı ve dolayısı ile karaciğere zarar verici etkide bulunmadığı ve EGCG'nin DEN'ya bağlı olarak artan bu parametreleri geriye döndürmediği gözlenmiştir.

6) Uygulamalar sonrasında tüm gruplarda sıçanlarda ağırlık artışı olmuştur. Ancak gruplar arasında ağırlık artışı açısından belirgin fark gözlenmemiştir. Bu nedenle hematolojik ve biyokimyasal bulgulardaki gruplar arasında gözlenen farklılıklar ağırlık artışı ile değil uygulanan kimyasalların farklı metabolik süreçler ile etkileşmesinden kaynaklanmış olabilir.

Diyetimizde istenmeden işlenmiş ürünler gibi bazı gıda kaynakları ile maruz kaldığımız DEN, deneysel prosedürde de bazı parametrelerde olumsuz etkilere neden olmuştur. DEN'e karşı koruyucu olarak deneğimiz EGCG HDL düzeylerini yükseltmiştir. EGCG bu çalışmada DEN ile birlikte verilmiştir.

Bu çalışma DEN ve EGCG'nin birlikte uygulandığı ilk çalışmadır ve bu birlikte etkinin literatüre göre ilk kez belirlenmiş olması çalışmanın orijinal yönüdür. EGCG'nin DEN enjeksiyonundan önce verilmiş olması durumunda koruyucu etkisinin daha fazla olabileceği ileri çalışmalarla araştırılmasının önemli olduğu kanaatindeyiz. Bu çalışmada elde edilen bulguların ileri çalışmalarla detaylandırılması günlük olarak Ülkemizde sıkça tüketilen yeşil çayın etken maddesi olan EGCG'nin DEN'ya karşı koruyucu etkisinin aydınlatılmasında faydalı olabileceği kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

- Açıklım E, Bayçu C, Güner F, Aral E, Bayram N. Histoloji 5. baskı, Açık öğretim yayınları. 1995, Eskişehir; 98-100.
- Ağar E, Ayyıldız M, Yıldırım M. Tıbbi fizyoloji klinik tıbbın temelleri 4. baskı, İstanbul tıp kitapçıları, İstanbul, 2017; 166-86.
- Akay C. Biyomarkerlerin toksikolojide kullanımı, Gülhane Tıp Derg. 2004; 46 (1): 73-83.
- Akay MT. Genel Histoloji 5. baskı, Palme yayıncılık. 2001 Ankara, 84.
- Akyüz F, Ünal M, Bayçu C, Kanbak G. Changes in antioxidant status and lipid peroxidation at liver and kidney tissues of the rats that were given diethylnitrosamine, Ann Med Sci. 2001; 10 (2): 50-4.
- Arslan C, Gönül B, Dinçer S, Kaplan B, Çevik C. Güreşçilerde C vitamini yüklemesinin serum demir ve total demir bağlama kapasitesine etkisi. FÜ Sağlık Bil Dergisi 2004, 18(4), 215-21.
- Atalay A. Nitrozaminlerin proteinlerle etkileşimi, Biyokimya Dergisi. 1989; 14 (3): 30-3.
- Baykal B. Histoloji konu anlatımı ve atlas 6. baskı, Palme yayıncılık. 2014, Ankara, 268-91.
- Bishayee A, Dhir N. Resveratrol-mediated chemoprevention of diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis: Inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis. Chemico-Biological Interactions. 2009; 179: 131-44.
- Bishayee A, Mbimba T, Thoppil, RJ, Háznagy-Radnai E, Sipos P, Darvesh AS, Folkesson HG, Hohmann J. Anthocyanin-rich black currant (*Ribes nigrum*L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinogenesis in rats. J Nutr Biochem. 2011; 22: 1035-46.
- 'Canadian Council on Animal Care – CCAC' Anonim, <https://www.ccac.ca/an/news-and-events/news>, 2017
- Chuang S, Cheng A, Lin JK, Kuo M-L. Inhibition by curcumin of diethylnitrosamine-induced hepatic hyperplasia, inflammation, cellular gene products and cell-cycle-related proteins in rats. Food and Chemical Toxicology. 2000; 38 (11): 991-5.
- Cooper R, Morré DJ, Morré DM. Medical benefits of green tea: part II. review of anticancer benefits. J Altern Complement Med. 2005; 11:639-52.
- Cooper R, Morré DJ, Morré DM. Medical benefits of green tea: part I. review of non-cancer health benefits. J Altern Complement Med Medicine. 2005; 11 (3); 521-8.
- Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ. Tıbbi fizyoloji 10. baskı, İstanbul tıp kitapçıları, İstanbul, 2001; 402-10.
- Çelik F. Çay (*Camellia sinensis*); İçeriği, Sağlık Üzerindeki Koruyucu Etkisi ve Önerilen Tüketimi. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2006; 26: 642-8.

- Çelik İ, Tülüce Y. Elevation protective role of *Camellia sinensis* and *Urtica dioica* infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Phytother Res.* 2007; 21(11): 1039-44.
- Eşrefoğlu M, Genel histoloji. 1. Baskı. Malatya. Medipres Matbaacılık. 2009; 189-218.
- Fang Z, Mao-Hong Z, Liang C-X, et al. MDR-reversing Effect of EGCG by Decreasing Expression of P-Glycoprotein on Human Leukemic Cell Line. *J Oncology.* 2004; 06.
- Gayathri R, Priya DKD, Gunassekaran, GR, Sakthisekaran D. Ursolic acid attenuates oxidative stress-mediated hepatocellular carcinoma Induction by diethylnitrosamine in male wistar rats. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2009; 10: 933-8.
- Gardner EJ, Ruxton CHS, Leeds AR. Black tea-helpful or harmful? A review of the evidence. *European J Clinical Nutrition.* 2007; 61: 3-18.
- Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ.* 2005; 172: 367-79.
- Goessling W, Friedman LS. Increased liver chemistry in an asymptomatic patient. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005; 3: 852-8.
- Golkar SO, Bergmark E. Alkylation of haemoglobin, plasma, proteins and DNA in the Mouse by the diethylnitrosamine, Carcinogenesis. 1988; 9 (11): 1915-17.
- Gübür S Basit karbonhidrat içeriği yüksek diyetle beslenen sığırcılarda yeşil çayın antioksidan etkisinin incelenmesi Doktora tezi. Ankara: Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı; 2015.
- Henning M, Fajardo-Lira C, Lee HW, Youssefian AA, Go VLW, Heber D. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer.* 2009; 45: 226- 35.
- İrez T, Erkan M. BRS Embriyoloji. 6. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2016.
- Kang JS, Wanibuchi H, Morimura K. Role of CYP2E1 in Diethylnitrosamine-Induced hepatocarcinogenesis in vivo. *Cancer Res.* 2007; 67 (23): 11141-6.
- Kang M, Reynolds CP. Bcl-2 inhibitors targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2009; 15 (4): 1126-32.
- Kew MC. Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage. *Lancet.* 2000; 355: 591-2.
- Langley-Evans SC. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *International Journal of Food Science and Nutrition.* 2000; 51: 309-15.
- Lee YK, Bone N, Strega AK, Shanafelt TD, Jelinek DF, Kay. NE. VEGF receptor phosphorylation status and apoptosis is modulated by a green tea component, epigallocatechin-3-gallate (EGCG), in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2004; 104: 788-94.
- Ma XD, Ma X, Sui Y, Wan WL, Wang C. Signal transduction of gap junctional genes, connexin 32, connexin 43 in human hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol.* 2003; 9 (5): 946-50.

- Matsuda M, Nakamoto Y, Suzuki S, Kurata T, Kaneko S. Interferon-mediated hepatocarcinogenesis in mice treated with diethylnitrosamine. *Laboratory Investigation*. 2005; 85: 655-63.
- McLachlan J. *Medical embryology*. Singapore: addison-wesley publishing company.1994.
- Naganuma T, Kuriyama S, Kakizaki M, Sone T, Nakaya N, Ohmori-Matsuda K, Hozawa A, Nishino Y, Tsuji I. Green Tea Consumption and Hematologic Malignancies in Japan: The Ohsaki Study. *American J Epidemiology*. 2009; 170 (6): 730-8.
- Nicoll D. *Tanı Testleri Cep Kitabı*. Çeviren, Yücel D. 6. Baskı. İstanbul. Güneş Tıp Kitapevleri İstanbul. 2014; 60-106-146-7.
- Öber A, İzzetoğlu GT. *Histoloji 2.baskı*. Ankara: Nobel yayın dağıtım. 2010; 108-9.
- Pagana KD, Pagana TJ. *Mosby's diagnostic and laboratory test Reference 8th Edition*: Mosby, Inc., Saint Louis, MO. 2007; 574-7.
- Pradeep K, Mohan CVR, Gobianand K, Karthikeyan S. Silymarin modulates the oxidant-antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats. *European J Pharmacology*. 2007; 560:110-6.
- Ramesh E, Geraldine P, Thomas PA. Regulatory effect of epigallocatechin gallate on the expression of C-reactive protein and other inflammatory markers in an experimental model of atherosclerosis. *Chemico-Biological Interactions* 2010; 183: 125-32.
- Rozman KK, Klaassen CD. Absorption, distribution, and excretion of toxicants in casarett and Doull's toxicology, *The Basic Science of Poisons* Klaasen CD (Ed). New York. The McGraw-Hill Companies, 2001.
- Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. In vivo antioxidant effects of green and black tea in men. *European J Clinical Nutrition*. 1996; 50: 28-32.
- Solakoğlu S, Aytekin Y (2009). *Temel histoloji*. 11. Baskı. İstanbul, Nobel tıp kitapevleri. 2009; 223-37.
- Suliburska J, Bogdanski P, Szulinska M, Stepien M, Upek-Musialik D, Jablecka A. Effects of green tea supplementation on elements, total antioxidants, lipids, and glucose values in the serum of obese patients. *Biol Trace Elem Res*. 2012; 149: 315–22.
- Sumpio BA, Cordova AC, Berke-Schlessel DW, Qin F, Chen QH. Green tea, the “Asian paradox”, and the cardiovascular disease. *Journal of American College of Surgeons*. 2006; 202: 813-25.
- Tharappel JC, Spear BT, Glauert HP. Effect of phenobarbital fenobarbital on hepatic cell proliferation and apoptosis in mice deficient in the p50 subunit of NF-κB. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008; 226 (3): 338-44.
- Thirynavukkarasu C, Sakthisekaran D. Stabilization of membrane bound enzyme profiles by sodium selenite in N-nitrosodiethylamine induced and phenobarbital promoted hepatocarcinogenesis in rats. *Biomedicine Pharm acotherapy*. 2003; 57: 117-23.
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. *Lipid metabolizma bozuklukları tanı ve tedavi kılavuzu*. 4. Baskı Nisan, 2017

Vinson JA, Teufel K, Wu N. Green and black teas inhibit atherosclerosis by lipid, antioxidant, and fibrinolytic mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52: 3661-5.

Vural N. Toksikoloji Ankara. Ankara Üni. Ecz. Fak. Yay. 1996; 73: 659.

Wang H, Provan GJ, Helliwell K. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science and Technology*. 2000; 11: 152-60.

Weisburger JH, Chung FL. Mechanism by chronic disease caused by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*. 2002; 40: 1145-54.

Yang CS, Landau JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *Journal of Nutrition*. 2000; 130: 2409-12.

Yiğit G. Hematoloji ve Endokrin Fizyolojisi. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri. 2011; 3-10.



ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Van İlinin Muradiye İlçesine bağlı Ünseli beldesinde doğdu. İlköğrenimini Ünseli beldesinde tamamladı. Ortaöğrenimini ise Van Alpaslan Öğretmen Lisesinde tamamladı. 1993 yılında Erciyes Üniversitesi SHMYO Önlisans programından, 2004 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Sınıf Öğretmenliği programından, 2017 yılında İstanbul Üniversitesi Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi Hemşirelik programından mezun oldu. 2015 yılında Van YYU Tıp Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. Halen Van YYU Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hematoloji Laboratuvarında Sağlık Teknikeri olarak çalışmaktadır. Evli 3 çocuk babasıdır.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi



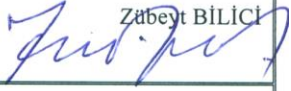
T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Diethylnitrosamine uygulanan sıçanlarda yeşil çayın etken maddesi epigallokatechin gallate'nin kan dokusuna etkilerinin araştırılması <i>Investigation of protective effect of epigallokatechin gallate which is active substance of green tea on blood tissue and cells of Diethylnitrosamine administered rats</i>	
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Zübeyt BİLİCİ	
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> :	01.11.2017	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> :	03.09.2018	
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> :	12 ay	
Proje No / <i>Project Number</i> :	TYL-2017-6343	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> :	VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ BAPB	
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> :	6990 (TL)	
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31/01/2019 tarih ve 2019/01 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 31/01/2019 (decision number 2019/01)	
	BAŞKAN/CHAIR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	ÜYE Prof. Dr. Sıddık KESKİN	ÜYE Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	ÜYE Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	ÜYE Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
ÜYE Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	ÜYE Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	ÜYE Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

EK 2. Tez Orijinallik Raporu

	<p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü</p>	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

Tarih: 22/01/2019
<p>Tez Başlığı/Konusu: Diethylnitrosamine uygulanan sıçanlarda yeşil çayın etken maddesi <i>epigallocatechin gallate</i>'nin kan dokusuna etkilerinin araştırılması.</p> <p>Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 64 sayfalık kısmına ilişkin, 22/01/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından TURNİTİN intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 9 (Dokuz) dur.</p> <p>Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</p> <ul style="list-style-type: none">- Kabul ve onay sayfası hariç,- Teşekkür hariç,- İçindekiler hariç,- Simge ve kısaltmalar hariç,- Gereç ve yöntemler hariç,- Kaynakça hariç,- Alıntılar hariç,- Tezden çıkan yayınlar hariç,- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) <p>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.</p> <p>Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p>
 Zübeyt BİLİCİ

Öğrencinin Adı Soyadı	: Zübeyt BİLİCİ
Anabilim Dalı	: Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji
Öğrenci No	: 0149302053
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Prof.Dr.Murat Çetin RAĞBETLİ 	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Dr.Öğr.Üyesi Haber ŞAHİN AYDINYURT 