

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TRICHLOROETHYLENE İLE
OLUŞTURULMUŞ KARACİĞER HASARI
ÜZERİNE THYMOQUINONE'UN
ETKİLERİ VE HEAT SHOCK PROTEİN
70'İN İMMÜN REAKTİVİTESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arzu GÜNEŞ

2012

ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Oktay BURMA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Enver OZAN

Prof. Dr. Leyla KOYUTÜRK

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Prof. Dr. Ahmet KAVAKLI

Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU

Sevgili Aileme...

TEŞEKKÜR

Sayın Hocam Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na tüm Yüksek Lisans eğitimim boyunca, engin tecrübesi ve derin bilgi birikimi ile yolumu aydınlattığı, bilgiye ulaşmayı ve bilgiyi değerlendirmeyi, etik değerlere ve emeğe saygıyı bana öğrettiği için tüm kalbimle teşekkür ederim.

Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji ABD'nda kıymetli derslerinde eğitim aldığım Prof. Dr. Enver OZAN'a, Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK'e, Doç. Dr. D. Özlem DABAK'a, Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na teşekkür ederim.

Bu tezin hazırlanması esnasında laboratuvar çalışmaları yapılırken kendi zamanından fedakarlık yaparak bana yardımcı olan Dr. Nevin KOCAMAN'a teşekkür ederim.

Tezin finansmanını karşıladığı için FÜBAP'a teşekkür ederim.

Sevgili annem Semiye ŞAHİN ve Ümit GÜNEŞ'e kendilerinden çaldığım zamanı hoş gördükleri, ve bana gösterdikleri sabır ve anlayış için, ayrıca sevgili kardeşim Ümit GÜNEŞ'e tezi defalarca okuduğu ve bana yazım ve anlatım kuralları yönünden destek olduğu için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
İTHAF SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ.....	5
3.1.Karaciğer.....	5
3.1.1. Karaciğerin Anatomisi.....	5
3.1.1.1. Karaciğerin Arteri.....	6
3.1.1.2. Karaciğerin Veni.....	7
3.1.1.3. Karaciğerin Kan Dolaşımı.....	7
3.1.1.3.1. Oksijenize Kan.....	7
3.1.1.3.2. Deoksijenize Ancak Besinden Zengin Kan.....	7
3.1.1.4. Karaciğerin Lenfi.....	7
3.1.1.5. Karaciğerin Siniri.....	8
3.1.2. Karaciğerin Embriyolojik Gelişimi.....	8
3.1.3. Karaciğerin Görevleri.....	9

3.1.3.1. Protein Sentezi.....	10
3.1.3.2. Safra Salgılanması.....	10
3.1.3.3. Metabolitlerin Depolanması.....	11
3.1.3.4. Metabolik Fonksiyonlar.....	11
3.1.3.5. Detoksifikasyon ve İnaktivasyon.....	11
3.1.4. Karaciğerin Histolojisi.....	11
3.1.4.1. Klasik Karaciğer Lobülleri.....	13
3.1.4.2. Portal Triadlarda Kan ve Safra Akımı.....	13
3.1.4.3. Portal Yolun ve Santral Venin Histolojisi.....	14
3.1.4.4. Karaciğer Parankiminin Histolojik Yerleşimi.....	15
3.1.4.5. Karaciğer Asinüsünün Yapısı ve İşlevi.....	16
3.1.4.6. Glisson Kapsülünün Histolojisi.....	17
3.1.4.7. Hepatositlerin Histolojisi.....	18
3.1.4.8. Karaciğer Sinüzoidlerinin Histolojisi.....	19
3.1.4.9. Disse Aralığının Histolojisi.....	20
3.1.4.10. Karaciğer Safra Kanalının Histolojisi.....	20
3.1.4.11. Safra Kanaliküllerinin Histolojisi.....	21
3.1.5. Hepatosellüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi.....	22
3.2. Trichloroethylene.....	23
3.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler.....	23
3.2.2. Trichloroethylenin Metabolizması.....	29
3.3. Thymoquinone.....	33
3.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler.....	33
3.3.2. Dimetil Sülfoksit.....	39

3.4.Heat Shock Protein 70.....	40
3.4.1. Tarihçe.....	41
3.4.2. Isı Şok Proteinleri Çeşitleri.....	41
3.4.2.1. HSP 100.....	41
3.4.2.2. HSP 90.....	42
3.4.2.3. HSP 70.....	42
3.4.2.4. HSP 60.....	44
3.4.2.5. Küçük Isı Şok Proteinler (sHSP).....	44
3.4.3. Isı Şok Proteinlerinin Görevleri.....	44
3.4.3.1. Isı Şok Proteinlerinin Hücre Dışı Görevleri.....	44
3.4.3.2. Isı Şok Proteinlerinin Hücre İçi Görevleri.....	45
3.4.4. Isı Şok Proteinlerinin Hastalıklardaki Rolü.....	46
3.4.5. Isı Şok Proteini ve Bağışıklık.....	46
3.4.6. Isı Şok Proteini ve Kanser.....	47
3.4.7. Isı Şok Proteini ve Oksidatif Stres.....	48
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
4.1.1. Deneklere Uygulama Planı.....	51
4.1.2. İmmünohistokimya.....	52
4.1.3. İstatistik.....	53
5. BULGULAR.....	54
5.1. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Bulgular.....	54
5.2. İstatistik.....	68
6. TARTIŞMA.....	70

7. KAYNAKLAR.....	77
8. ÖZGEÇMİŞ.....	82

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği.....	50
Tablo 2: Gruplar arasındaki farkın ANOVA testi sonuçları.....	68
Tablo 3: Gruplara ait verilerin homojenite testi	68
Tablo 4: Grupların kendi aralarındaki farkın Posthoc Tukey testi sonuçları.....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1	: TCE'nin kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2	:TCE metabolizmasının iki yolağı: glutatyon ile konjugasyon, P450 bağımlı oksidasyon.....	31
Şekil 3	: TCE'nin glutatyon konjugasyonu yoluyla organlar arası süreci ve metabolizması.....	32
Şekil 4	: Thymoquinone'un kimyasal yapısı.....	33
Şekil 5	: Grup I. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu.....	53
Şekil 6	: Grup I. Hepatositlerin belirgin glikojen içeriği.....	54
Şekil 7	: Grup I. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde HSP 70 immün reaktivitesi gösteren az sayıda hepatosit.....	54
Şekil 8	: Grup II. TCE uygulanan deneklerin karaciğer kesitlerinde sinüzoidal dilatasyon ve konjesyonun gösterilmesi.....	55
Şekil 9	: Grup II. TCE uygulanmasına bağlı periportal bölgede oluşan nekroze alan.....	56
Şekil 10	: Grup II. Mononükleer hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyon.....	56
Şekil 11	: Grup II. Zon 3'te belirgin sinüzoidal dilatasyon.....	57
Şekil 12	: Grup II. TCE uygulamasının hepatositlerin glikojen depolarını boşaltmasına neden olduğunun gösterilmesi....	57
Şekil 13	: Grup II: Zon 3'te bulunan hepatositlerin yaygın HSP 70 immün reaktivitesi, piknotik çekirdekli ve oldukça farklı büyüklükte çekirdeklere sahip olan hepatositler.....	58

Şekil 14	: Grup II. Vena sentralis etrafındaki hepatositlerde yaygın HSP 70 ekspresyonu.....	58
Şekil 15	: Grup III. TCE ile birlikte TQ uygulanan grupta sinüzoidal dilatasyonun ve konjesyonun devam etmekte.....	59
Şekil 16	: Grup III. Vasküler konjesyon, sinüzoidal dilatasyon ve heterokromatik çekirdekli hepatositler.....	60
Şekil 17	: Grup III. TCE ile birlikte koruyucu amaçlı TQ uygulanan grupta hepatositlerin az da olsa glikojen içerdiğinin ayırt edilmesi.....	60
Şekil 18	: Grup III. Koruyucu amaçla TQ uygulaması ile birlikte hepatositlerin HSP 70 immün reaktivitesinin yaygınlığının Grup II'ye göre belirgin düzeyde azaldığı gözlenmekle birlikte piknotik çekirdekli ve oldukça iri çekirdekli hepatositler.....	61
Şekil 19	: Grup III. Zon 3'te yer alan hepatositlerin daha az oranda HSP 70 immün reaktivitesi gösterdiği belirgin olarak gözlenmesi.....	61
Şekil 20	: Grup III. Periportal bölgedeki hepatositlerin HSP 70 immün reaktivitesi.....	62
Şekil 21	: Grup IV. Sadece TQ uygulanan deneklere ait karaciğer dokusunda portal alan Zon 1'de yer alan hepatositler, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler normal yapıda gözlenmesi.....	63

Şekil 22	:Grup IV. Normal yapıda olan portal alan, Zon 1'deki hepatositler, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler.....	63
Şekil 23	: Grup IV. Oldukça belirgin olarak izlenen hepatositlerin glikojen içeriği.....	64
Şekil 24	: Grup IV. Az sayıdaki HSP 70 ekspresyonu gösteren hepatositler.....	64
Şekil 25	: Grup IV. Negatif kontrol.....	65
Şekil 26	: Grup V. Sadece DMSO verilen deneklerin hepatositlerinde belirgin glikojen içeriğinin gösterilmesi.....	66
Şekil 27	: Grup V. Az sayıda hepatositin HSP 70 immün reaktivitesinin gösterilmesi.....	66

KISALTMALAR LİSTESİ

ALT	: Alanin amino transferaz
AST	: Aspartat amino transferaz
ATP	: Adenozin tri fosfat
ATPaz	: Adenozin tri fosfataz
ATSDR	: Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toksik Maddeler ve Hastalıklar Kayıt Merkezi
CH	: Kloral hidrat
DAB	: 3,3' Diaminobenzidine
DCVC	: S-1,2-dichlorovinylthiol
DCVG	: S-1,2-diclorovinyl glutatyon
DER	: Düz endoplazma retikulumu
DHE	: Dihidroethidin
DMH	: Dimetil hidrazin
DMSO	: Dimetil sulfoxide
EPA	: Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Örgütü
FGF	: Fibroblast growth faktör
GST	: Glutatyon konjugasyon yolağı

HSA	: İnsan serum albumin
HSF	: Heat shock factor, ısı şok faktörü
HSP	: Heat shock protein
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IARC	: International Agency for Research on Cancer, Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi,
IL	: İnter lökin
kDA	: Kilodalton
LDH	: Laktat dehidrogenaz
NAcDCVC	: N-acetyl-S-1,2-dichlorovinyl-L-cysteine
OSHA	: The Occupational Safety and Health Administration, Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi
PBS	: Fosfat tamponu
STZ	: Streptozotocin
TBHB	: Tert-butil hidroperoksit
TCE	: Trichloroethylene
TQ	: Thymoquinone

ÖZET

Çevrede yaygın bulunan trichloroethylene, endüstride geniş kullanım alanı olan kimyasal ajandır. Daha önce yapılan çalışmalarda thymoquinone'un çeşitli toksik ajanların neden olduğu organ hasarlarında koruyucu etkisinin olduğu bulunmuştur. Heat Shock Protein (HSP) 70, sirotik karaciğer hastalığında, hepatokarsinogenezisin erken belirteçlerinden birisidir ve stres şartlarında ekspresyonu artmaktadır. Bu çalışmada, trichloroethylene ile oluşturulmuş karaciğer hasarına karşı thymoquinone'un olası koruyucu etkilerinin incelenmesi ve HSP70'in immün reaktivitesindeki değişikliklerinin belirlenmesi amaçlandı.

Bu amaçla, 3 hafta süren deneyde, 25 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı. GrupI; kontrol grubu. GrupII'deki sıçanlara 1000mg/kg/gün trichloroethylene verildi. GrupIII'teki sıçanlara 1000mg/kg/gün trichloroethylene ile birlikte 50mg/kg/gün thymoquinone uygulandı. GrupIV'teki sıçanlara 50mg/kg/gün thymoquinone verildi. GrupV'teki sıçanlara 1ml/gün dimethyl sulfoxide verildi. Tüm uygulamalar intragastrik gavaj tekniğiyle yapıldı. 3 haftanın sonunda denekler ksilazin ve ketamin ile sağlanan anestezi altında servikal dekapitasyonla ötenazi edildi. Çıkarılan karaciğer dokuları, %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi, etanol ile dehidrate edildi ve parafine gömüldü. 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin bir kısmı Hematoksilen&Eozin, Masson'un üçlü boyası ve Periodic Acid Schiff teknikleri kullanılarak boyandı. Kalan kesitler, HSP70 immün reaktivitesi belirlenmek üzere kullanıldı. Hazırlanan preparatlar fotomikroskopta incelenip fotoğraflandı.

Gruplar arası HSP70 immün reaktivitesindeki farklılıklar istatistiksel analizlerle belirlendi.

Işık mikroskopik incelemelerimizde, trichloroethylene'in karaciğerde; vasküler konjesyona, nekroza, inflamasyona, sinüzoidal dilatasyona sebep olduğu ve HSP70 immün reaktivitesinde belirgin bir artış oluşturduğu belirlendi. Gruplar arası HSP70 immün reaktivitesinin yaygınlığının belirlemek için yaptığımız istatistiksel analizler de bulgularımızı destekler niteliktedir. Thymoquinone'un ise trichloroethylene kaynaklı yapısal değişiklikleri nispeten azalttığı görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada trichloroethylene'in yüksek dozda tekrarlayan maruziyetinin karaciğer için oldukça toksik olduğu ortaya konulmuştur. Trichloroethylene'e bağlı HSP70 ekspresyonundaki artış, iddiamızı desteklemektedir. Bu bağlamda, gerek çevresel kontaminasyon için gerekse ilgili meslek gruplarının karşı karşıya olduğu potansiyel tehlikeler için koruyucu tedbirlerin alınmasının gerekliliği ortaya çıktı.

Anahtar Kelimeler: Trichloroethylene, thymoquinone, HSP70, karaciğer, immünohistokimya

ABSTRACT

Effects of Thymoquinone (TQ) on Liver Damage Induced Trichloroethylene (TCE) and Heat Shock Protein (HSP) 70 Immunoreactivity

Trichloroethylene is widely used industrial chemical and a common environmental contaminant. It was found that thymoquinone had protective effects on organ injuries caused by various toxic agents. HSP70 is one of the early markers of hepatocarcinogenesis in cirrhotic liver disease and its expression levels increases in the organism in stress conditions.

The aim of this study was to investigate the possible protective effects of thymoquinone on the liver damage induced trichloroethylene exposure and examination on the changes of HSP 70 immunoreactivity.

For this purpose, 25 male Wistar-Albino rats were used. The experimental period was determined as 3 weeks. The rats were divided into 5 groups. Group I: control group. Rats in Group II were treated 1000mg/kg/day trichloroethylene. Rats in Group III were treated trichloroethylene 1000mg/kg/day with 50mg/kg/day thymoquinone. Rats in Group IV were treated 50mg/kg/day thymoquinone. Rats in Group V were treated 1ml/day dimethyl sulfoxide. All treatments were given by intragastric gavage technique. At the end of 3 weeks treatment, rats were anesthetized with xylazine and ketamine and sacrificed by cervical decapitation. Removed liver tissues was fixed in 10% formaldehyde solution, dehydrated in ethanol series and embedded in paraffin. 5µm thick sections, some of them, were stained with Hematoxyline and Eosin, Masson's trichrome and Periodic Acid Schiff techniques. The remaining sections were used to determine the

immunoreactivity of HSP70. Tissue sections were examined in photomicroscope and photographed. Differences of HSP70 immunoreactivity between groups were determined by statistical analysis.

Light microscopic investigation showed that trichloroethylene caused to vascular congestion, necrosis, inflammation, sinusoidal dilatation in the liver and significant increases in immunoreactivity of HSP70. The statistical analyzes seem to support our findings including differences between the groups of prevalence of HSP70 immune reactivity. It was detected that thymoquinone relatively decreases trichloroethylene induced structural changes.

As a result, in this study, it was found that long-term recurrent exposure to high doses of trichloroethylene may be highly toxic for liver. This influence of trichloroethylene exposure was confirmed by increased immunoreactivity of HSP70. In this context, it is emerged for the necessity of taking protective precautions for both environmental contamination and professional groups faced by potential hazards of trichloroethylene.

Keywords: Thymoquinone, trichloroethylene, HSP 70, liver, immunohistochemistry

3. GİRİŞ

3.1. Karaciğer

3.1.1. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer, vücudun en büyük bezi ve deriden sonra en büyük organıdır. Regio hypochondriaca dekstra, regio epigastrica ve regio hypochondriaca sinistrada yer tutar. İntraperitoneal bir organdır. Yaklaşık 1.5 kg'dır.

Karaciğerin alt kenarı keskindir. Sağ 10. kıkırdak kaburga ile linea medioclavicularis'in sol 5. kıkırdak kaburgayı kestiği nokta arasında uzanır. Üzerinde ligamentum teres hepatis'e ait bir çentik bulunur. Karaciğerin üst kenarı, ksifosternal eklem seviyesinde olup, linea medioclavicularis'te sağda 5. kıkırdak kaburga, solda 5. interkostal boşluğu birleştiren çizgi üzerindedir.

Diyafragmatik yüzü ve area nuda hariç, tamamen visseral peritoneumla örtülüdür. Diyafragma aracılığıyla; her iki akciğer ve plevraları, fibröz perikardiyum ve kalbin ventriküler bölümünden ayrılır. Diyafragmatik yüz ile diyafragma arasında, recessus subphrenicus denilen potansiyel bir aralık vardır.

Sağ lobun visseral yüzünde; kolon ascendens, fleksura koli dekstra, sağ böbrek, diyafragma, sağ gl. suprarenalis, duodenumun pars superior ve pars descendens parçalarının birleşme yeri, V. cava inferior ve vesica biliaris (vesica fella), sol lobun visseral yüzünde ise; mide (fundus bölümü) ve özafagus'un izi vardır (1).

Visseral yüzün orta bölümünde bulunan porta hepatis'in sol tarafında, birisi önde, diğeri arkada iki yarık bulunur. Lobus caudatus ile lobus hepatis

sinister arasındakine fissura ligamenti venosi denir ve burada lig. venosum bulunur. Lobus quadratus ile lobus hepatis sinister arasındakine de fissura ligamenti teretis hepatis denir ve burada lig. teres hepatis yer alır.

Porta hepatis'in sağ tarafında görülen iki çukur alandan, öndekine fossa vesica biliaris denir ve burada vesicae biliaris bulunur. Arkadakine sulcus venae cavae adı verilir ve burada v. cava inferior yer alır.

Lobus caudatus (Spiegelian lobu); sulcus venae cavae ile fissura ligamenti venosi arasında, lobus quadratus ise; fossa vesicae biliaris ile fissura ligamenti teretis hepatis arasındadır. Porta hepatis, bu loblar arasındadır.

Karaciğer anatomik olarak; önde ligamentum falciforme hepatis'in tutunma hattı, visseral yüzde ise ligamentum venosum (Arantius ligamenti) ile ligamentum teres hepatis'in oturduğu yarıklar ile lobus hepatis dekster ve lobus hepatis sinister denilen iki büyük loba ayrılır. Sağ lobun visseral yüzünde, lobus caudatus ve lobus quadratus denilen iki küçük lob vardır. Sağ lob, sol lobun yaklaşık altı katı büyüklüğündedir.

Lobus caudatus'un ve lobus quadratus'un büyük bölümü sol parçadadır. A. hepatica propria'nın dalları ile v. portae hepatis'in dalları, karaciğer içinde VIII tane vasküler segment oluşturur. Sol lob I-IV segmentleri, sağ lob ise V-VIII segmentleri içerir.

3.1.1.1. Karaciğerin Arteri

Karaciğere gelen kanın %30'unu arteria hepatica propria (a. hepatica communis'in dalı) tarafından taşınır (1).

3.1.1.2. Karaciğerin Veni:

Karaciğer içindeki v. centralisler birleşerek vv. hepaticaeleri oluşturur. Genellikle üç tane olup, centrum tendineum'un hemen altında v. cavae inferiora açılırlar. Hepatik venler intrahepatiktir. V. portae hepatis, karaciğerin fonksiyonel venidir ve karaciğere gelen kanın % 70'ini taşır.

3.1.1.3. Karaciğerin Kan Dolaşımı

3.1.1.3.1. Oksijenize Kan

Oksijenize kan; A. hepaticae propria, A. interlobaris, A. interlobularis, İnlet arteriyoller (hepatik arteriyoller), sinüzoidler aracılığı ile taşınır.

3.1.1.3.2. Deoksijenize Ancak Besinden Zengin Kan

V. Portae hepatis, V. interlobaris, Conducting ven, V. interlobularis, portal venüller, V. perilobularis, İnlet venüller, Sinüzoidler, V. centralis, V. sublobularis, Collecting ven, Vv. hepaticae aracılığı ile taşınır.

3.1.1.4. Karaciğerin Lenfi

Karaciğer, büyük miktarda lenf üreten bir organdır. Diyafragmatik ve visseral yüzlerin ön taraflarını drene eden yüzeysel lenf damarları nodi hepaticiae, arka taraflarını drene eden yüzeysel lenf damarları nodi phrenici inferiora veya derin lenf damarları ile birleşerek v. cavae inferior çevresindeki nodi cavalese gelir. Bu düğümlerin efferentleri, diyafragma'dan geçerek nodi mediastinales posteriores drene olur (1).

Karaciğerin ligamentlerinin bazı lenf damarları, direkt olarak ductus thoracicus'a gider.

3.1.1.5. Karaciğerin Siniri

Plexus coeliacus'tan çıkan dallar, porta hepaticus'te plexus hepaticus'u oluşturur. Bu plexus içindeki parasempatik dallar n. vagustan, sempatikler ise T₇-T₉'dan gelir. Plexus hepaticus, plexus coeliacustan derive olan en büyük sekonder otonom plexustur (1).

3.1.2. Karaciğerin Embriyolojik Gelişimi

Karaciğer, dördüncü hafta başında ön bağırsağın kaudalinden ventral yönde bir çıkıntı (hepatik divertikül) olarak belirir. Son çalışmalara ait bulgular, hepatik divertikül ve pankreasın ventral tomurcuğunun embriyonik endoderme ait iki farklı hücre topluluğundan geliştiğini ileri sürmektedir. Gelişmekte olan kalp belirli düzeyde FGF salgılar ve bipotent hücreleri etkileyerek hepatik divertikül oluşumunu uyarır. Divertikül, gelişmekte olan kalp ve mide arasındaki splanchnik bir mezoderm kitlesi olan septum transversum'a doğru uzanır. Septum transversum bu bölgedeki ventral mezogastriumu oluşturur.

Hepatik divertikül, hızla büyüyerek ventral mezogastriumun iki yaprağı arasında büyüyen iki parçaya bölünür. Hepatik divertikülün daha geniş olan kranial parçası karaciğer taslağıdır. Çoğalan endodermal hücreler, ağ şeklinde yayılan hepatosit kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitel hücrelerini oluştururlar. Hepatik kordonlar, endotelle döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak hepatik sinüzoidlerin taslaklarını meydana getirirler.

Karaciğerin fibröz dokusu, hematopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversum mezenşiminden köken alır.

Karaciğer hızla büyür ve 5. haftadan 10. haftaya kadar üst abdominal kavitenin büyük bir kısmını kaplar. Umbilikal venden gelen kanın oksijen miktarı, karaciğerin gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler. Başlangıçta karaciğerin sağ ve sol loblarının büyüklüğü aynıdır ancak kısa bir süre sonra sağ lob daha fazla büyür. 6. haftada başlayan hematopoez karaciğere parlak, kırmızı bir renk verir. 9. hafta ile birlikte, karaciğer fetusun toplam ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturur. 12. haftada, karaciğer hücreleri safra üretimine başlar.

Hepatik divertikülün küçük kaudal parçası safra kesesini, divertikülün sapı da sistik kanalı oluşturur. Başlangıçta ekstrahepatik safra kanalları epitel hücreleri ile tıkalıdır ancak daha sonra bu hücrelerin dejenerasyonu ile vakuoller oluşur ve kanal gelişir. Hepatik ve sistik kanalları duodenuma bağlayan kordondan safra kanalı (koledok kanalı) gelişir. Bu kanal başlangıçta duodenum halkasının ön yüzüne bağlıdır. Ancak duodenumun büyümesi ve rotasyonu ile arka yüze taşınır. 13. haftadan sonra kanaldan geçerek duodenuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil bir renk verir (2).

3.1.3. Karaciğerin Görevleri

Karaciğer, metabolitlerin biraraya getirilmesi, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin nötralize ve elimine edilmesinden sorumludur. Bu eliminasyon karaciğerin lipid sindirimi için önemli bir ekzokrin sekresyonu olan safrada gerçekleşir (3).

3.1.3.1. Protein Sentezi

Karaciğerin parenkim hücresi olan hepatositler, kendisi için gerekli proteinlere ek olarak salgılamak üzere çeşitli plazma proteinlerini de (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezler. Bu proteinlerin sentezi kaba endoplazmik retikulumuna bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer bez hücrelerinde gözlenenin aksine, hepatositler proteinleri sekonder proteinler halinde sitoplazmasında depolamaz. Sürekli olarak kan dolaşımına verir. Böylece endokrin bir bez olarak işlev görür. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin yaklaşık % 5'i makrofaj sisteminin hücreleri olan Kupffer hücreleri tarafından üretilir geri kalan bölüm ise hepatositlerde sentezlenip salgılanır.

3.1.3.2. Safra Salgılanması

Safra üretilmesi, hepatositlerin kan komponentlerini alıp, dönüştürerek safra kanalikülleri içine salgılamaları nedeniyle bir anlamda karaciğerin ekzokrin bir fonksiyonudur. Safranın içeriğini; su ve elektrolitlere ek olarak safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol ve bilirubin oluşturur. Safra asitleri sindirim sisteminde lipidlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir fonksiyon görenek bunların lipaz ile sindirilmesini ve ardından emilmesini sağlar. Büyük bir bölümü eritrositlerin parçalanması sonucu oluşan bilirubin, mononükleer fagositik sisteminde (bu sistem karaciğer sinüzoidlerinin Kupffer hücrelerini içerir) oluşur ve hepatositlere taşınır. Hepatositlerin düz endoplazma retikulumunda, hidrofobik bilirubin, glukuronik asitle konjuge edilir ve suda çözünebilen bilirubin glukuronit oluşturulur. Daha ileri aşamada bilirubin glukuronit safra kanalikülleri içine taşınır (3).

3.1.3.3. Metabolitlerin Depolanması

Lipidler ve karbonhidratlar, karaciğerde trigliseridler ve glikojen şeklinde depolanır. Metabolitleri depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemlidir. Karaciğer vitaminler için özellikle A vitamini için de depolanma yeridir.

3.1.3.4. Metabolik Fonksiyonlar

Hepatositler, lipidleri ve aminoasitleri glukoneogenez adı verilen kompleks bir enzimatik yolla glukoz haline dönüştürür. Ayrıca ürenin meydana gelmesiyle sonuçlanan aminoasit deaminasyonunun da gerçekleştiği başlıca yerdir. Bu bileşik kan yoluyla böbreklere taşınır üriner sistem aracılığıyla vücuttan atılır.

3.1.3.5. Detoksifikasyon ve İnaktivasyon

Çeşitli ilaçlar ve maddeler oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla inaktive edilebilir. Bu olaylara katılan enzimler başlıca kaba endoplazma retikulumunda bulunur. Glukuronik asidi bilirubine konjuge eden bir enzim olan glukuronil transferaz, steroidler, barbitüratlar, antihistaminikler ve antikonvülzanlar gibi başka bileşiklerin de konjugasyonunu sağlar (3).

3.1.4. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğerin fonksiyonel hücreleri hepatositlerdir (1). Polihedral 6 veya daha fazla yüzeyli ve 20-30µm çapındadır. Hematoksilin eosinle boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve düz endoplazma retikulumu bulunması

nedeniyle hepatositin sitoplazması eozinofiliktir. Portal triadlardan farklı uzaklıklarda bulunan hepatositler, yapısal, histokimyasal ve biyokimyasal farklılıklar gösterirler. İki hepatositin bitişik olduğu her yerde, hücrelerin arasında tübüler bir aralık bulunur ve bu aralık safra kanalikülü olarak isimlendirilir. Karaciğerin hem ekzokrin hem endokrin görevleri ile ilgilidirler. Safraı üreten ve salgılayan bu hücreler, karaciğer sinüzoidlerinin endotelial hücrelerinden disse aralığı (perisinüzoidal boşluk) denilen bir boşluk ile birbirinden ayrılırlar.

Safra kanal sisteminin ilk kısımları olan kanaliküller, 1-2 µm çapında tübüler boşluklardır. Bu alanlar sadece iki hepatositin plazma membranlarıyla sınırlıdır ve içinde az sayıda mikrovillus bulunur. Bu kanaliküllerin çevresindeki hücre membranları sıkı bağlantılarla sıkıca birleşmişlerdir. Hepatositler arasında gap junctionlara sık rastlanır. Bunlar hücrelerin fizyolojik aktivitelerinin koordinasyonunda önemi olan hücreler arası iletişim bölgeleridir. Safra kanalikülleri karaciğer lobülünün plakları boyunca anastomoz yapan kompleks bir ağ oluştururlar ve portal alanlarda sonlanırlar. Bu nedenle safra kanın ters yönünde, yani klasik lobülün merkezinden periferine doğru ilerler.

Disse aralığındaki yağ depo eden yıldız şeklindeki hücelere İto hücreleri denir. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptir. Ancak bu hücrelerin A vitamini metabolizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir.

Karaciğerin fagositik hücreleri olan Kupffer hücreleri, makrofajdır. Sinüzoidlerin lümenine bakan yüzünde bulunurlar. Başlıca fonksiyonları yaşlı eritrositleri fagosit etmek, hemoglobini sindirmek ve immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktır (3).

3.1.4.1. Klasik Karaciğer Lobülleri

Yetişkinlerdeki karaciğer dokusunun yaklaşık % 80'i hücresel plakların bir labirenti şekilde dizilmiş olan hepatositlerden (karaciğer epitel hücrelerinden) meydana gelen parankim yapısındadır. Geriye kalan % 20'lik kısım ise dıştan organı saran Glisson kapsülünü de meydana getiren bağ dokusunun hassas destekleyici çerçevesini oluşturan stromadır. Glisson kapsülü porta hepatisten itibaren organ içine doğru dallanan karaciğere giren hepatik arterle portal venin damar yolunu ve safra kanallarına eşlik eden bağ dokusu şeklinde devam eder. Bu üç yapının dalları, portal triadlardır. Bunlar karaciğerin içinde birarada yol alır ve tekrarlayan şekilde 17-20 dala ayrılır. Uç dallara doğru ebatları kademeli olarak azalır. Karaciğerin içindeki bağ dokusu, parankimi, yapısal birimler olan klasik karaciğer lobülleri şeklinde ayırır. İnsanlarda karaciğer lobülleri arasındaki bağ dokusu miktarı az olduğu için lobüllerin birbirinden ayrımının yapılması zordur. (4).

3.1.4.2. Portal Triadlardaki Kan Ve Safra Akımı

Herbir klasik hepatik lobül 1 cm. çapında ve 2 mm uzunluğunda 6 kenarlı bir prizma şekline sahiptir. Az miktarda interlobüler bağdokusuyla çevrili olan portal triadlar herbir lobülün köşelerinde yerleşik olan etrafları hepatosit plakalarınca sınırlandırılmış ve portal yol adı verilen yerlerde bulunur. Triadlar, aynı zamanda birbirine geçmeli bir mozaik gibi görünen komşu lobüllerin birbirleriyle buluşma noktalarını da belirler. Her bir lobül enine kesitte bir iki hücre kalınlığında olan birbirlerinden karaciğer sinüzoidleri tarafından ayrılan küçük santral venden dışa doğru ışınal şekilde seyreden hepatosit hücre

yığınlarını içermektedir. Hepatositlerin dizilimi ve aradaki sinüzoid boşlukları bir süngerin yapısını andırmaktadır. Her bir triad daha küçük dallara ayrılan safra kanalının portal venin ve hepatik arterin dallarını içerir. Küçük lenfatik damarlar sıklıkla bunlara eşlik eder. Karaciğerin bir diğer eşsiz ve mükemmel özelliği ise ikili kanlanma sistemir. Portal ven, besin maddeleri yönünden zengin kanı sindirim kanalından getirir. Karaciğer dakikada yaklaşık 1,5 lt kan alır ve hacminin en az % 20'sini kan oluşturur. Portal venlerin yaklaşık 300µm çapında olan uç dalları düzenli olarak hepatositlerle yakın temasta olan ince duvarlı ve pencereci karaciğer sinüzoidlerine boşalan iç venülere ayrışır. Hepatik arterlerin portal ven dallarıyla birlikte seyreden uç dalları venöz ve arteriyel kanların karışımını alan sinüzoid yapılarına dökülen arteriyoller şeklinde sonlanır. Sinüzoidler uç terminal venülü olarak da adlandırılan santral vene doğru uzanır ve herbir lobülün merkezinde buraya boşalır. Bir santral venin çapı 50 µm kadardır. Daha geniş santral venler daha geniş olan ve tekrarlayan şekilde dallanarak yol alan hepatik venlere dönüşen sublobüler venleri meydana getirecek şekilde biraraya gelir. Hepatik venler biraraya gelerek kanın karaciğerden ana drenaj yolu olan inferior vena kavaya katılır. Kanın ve safranın lobüller boyunca zıt yönlerde akması lobül organizasyonu ve hepatosit işlevinin anlaşılması için önemlidir (4).

3.1.4.3. Portal Yolun ve Santral Venin Histolojisi

Küçük lenfatik damarlar portal triadın üç bileşenini en uç dallarına kadar eşlik eder. Portal yol olarak da bilinen bağ dokusu stroması bunların etrafını kuşatır. Hepatik arteriyol enine kesitte 2 veya 3 tabakalı düz kas hücrelerine ve göreceli olarak küçük bir lümene sahiptir. Portal venülün daha geniş ve sıklıkla

basık bir lümeni ve daha ince bir duvarı vardır. Safra kanalcıkları tek katlı basit kübik veya prizmatik epitelle döşelidir ve hepatositlerin ekzokrin salgılarını taşır. Safra yolları hepatositlerin arasındaki ince safra kanalikülleriyle başlar. Bunlar komşu hepatositlerin arasındaki boyut benzeri girintilerden meydana gelen hücreler arası küçük kanallar olup en iyi elektron mikroskopuyla görülür. Kanaliküller her lobülün çevresine ulaştıklarında basit kübik epitelle döşeli olan ve Hering kanalları olarak da bilinen küçük kanallara açılır. Bu kanallar portal yolda yer alan daha büyük safra kanallarına boşalır. Kanallar genişledikçe lümeni döşeyen prizmatik epitel uzamaya başlar. Tipik santral venler zayıf bir endotel tabakasına sahip ince duvarlı venüllerdir. Normalde belirgin bir bağ dokusu stromasına sahip değildir. Her bir santral venin lümeni birkaç karaciğer sinüzoidinin serbestçe açılabilirdiği çok sayıda girişe sahiptir (4).

3.1.4.4. Karaciğer Parenkiminin Histolojik Yerleşimi

Karaciğerin seri kesitlerden hazırlanan üç boyutlu modelleri, karaciğer parenkiminin yerleşimine ve bunun damar ve safra kanalı sistemleriyle olan ilişkisine ışık tutmaktadır. Parenkim, birbirleriyle bağlantılı ve bir-iki hücre kalınlığında olan ve bir binanın duvarlarını andıran tabakaların ağını içerir. Her bir tabakadaki hepatositler bu duvarın tuğlalarına ve karaciğer sinüzoidleri de duvardaki boşluklara benzetilebilir. İnsan karaciğerinde en fazla bir hücre kalınlığındaki tabakalar bulunmakta olup, iki hücre kalınlığındaki tabakalar embriyoda ve yetişkinlerde yenilenme sürecinde ortaya çıkmaktadır. Damarların etrafında bulunan ve sinüzoidlerin endotel tabakasını hepatositlerin yüzeyinden ayıran içleri sıvı dolu dar boşluklar olan Disse aralığı (veya sinüzoidlerin

etrafındaki boşluklar) elektron mikroskopuyla veya özel ışık mikroskopi teknikleriyle görülebilir. Bu boşluklar, plazmanın sinüzoidlerle hepatosit yüzeyleri arasında çözünebilir madde alışverişine izin verecek şekilde akmasını sağlar. Ayrıca bu yapılar, fetusta ve kronik anemi durumunda ekstramedüller hematopoez yerleridir. Karaciğer lenfi bu boşluklardan köken alır ve portal yollardaki küçük lenf damarlarına boşalır (4).

3.1.4.5. Karaciğer Asinüsünün Yapısı ve İşlevi

Karaciğer lobül yapısının bir diğer kavramı da karaciğer parenkiminin portal venin uç dallarından ve hepatik arterden beslenmesiyle bağlantılı olarak tanımlanan ve oval elmas şekline sahip karaciğer asinüsleridir. Klasik karaciğer lobülüne göre daha küçüktürler ve daha zor görünürler fakat işlevsel yönlerden kullanışlılardır çünkü, çoğu hastalıkta görülen metabolik ve patolojik değişiklikler, en iyi bu yapılar üzerinden açıklanmaktadır. Bir karaciğer asinüsünün kısa ekseni, iki klasik karaciğer lobülünün arasında uzanırken, uzun ekseniyse iki santral ven arasında kısa eksene en yakın sanal bir çizgidir. Asinüsteki hepatositler, kısa eksenin etrafında yer alan ve aynı merkezde dış doğru yerleşime sahip (konsantrik) eliptik zonlardır. En içte yer alan Zone 1, portal venülün ve hepatik arteriyolün uç dallarına en yakın yerleşime sahiptir. Bu bölge kandaki oksijenin ve besin maddelerinin ilk alındığı yer olup, hepatositlerdeki glikojen ve plazma proteini üretiminin en fazla olduğu kısımdır. Zon 3 damar uçlarından en uzak pozisyonda olup, Zon 2 birinci ve ikinci bölgelerin arasında yer alır. Bu üç bölgede yer alan çoğu karaciğer enzimi için, metabolik etkinlik derecesi vardır. Üçüncü bölge daha az oksijen almaktadır.,

metabolizmanın değişmesi durumunda iskemik nekrozun ve yağ birikiminin ilk görülmeye başlandığı yerdir ve ilaç ve alkol için detoksifikasyon alanıdır. Klasik karaciğer lobülü ve karaciğer asins, lobllenmenin birbiriyle elişmekten çok birbirlerini tamamlayan kavramlardır.

3.1.4.6. Glisson Kapsülünün Histolojisi

Karaciğer, diyaframa tutunduğu yer hariç fibröz sıkı bağ dokusu yapısında 70-100µm kalınlığında bir kapsülle çevrilidir. Kapsülü, peritona bakan yüzünde seröz mezotel örter. Mezotel, özellikle patojen bakterilerin ve diğer zararlı maddelerin girişine karşı bir kalkan vazifesi görür. Kapsülün yapısında, düzenli olarak sıralanmış kollagen ve elastik lifler vardır. Glisson kapsülü, karaciğere dışarıdan destek vermesinin ve organın yapısını korumasının yanısıra az sayıda küçük kan damarına sahiptir ve karaciğer parenkiminin içine uzantılar gönderme yoluyla, destek stromasına katkıda bulunur. Kapsülün devamı, porta hepatitis bölgesinden içeriye geçerek kan ve lenf damarlarına, safra kanallarına ve sinirlere desteklik sağlar. Jel kıvamına sahip olan karaciğer, kısmen kapsülün ince olması dolayısıyla kolayca yaralanabilir. Karaciğer yoğun bir şekilde damarlandığı için, hasarlanması sonrasında ağır kanamalar meydana gelebilir. Kapsülün kalınlığı yaşla birlikte artış gösterir ve bazı hastalıklara cevap olarak yaygın çoğalım geçirebilir. Aynı zamanda parenkim zedelenmelerinden sonra stromada artış görülür (4).

3.1.4.7. Hepatositlerin Histolojisi:

Hepatositler, karaciğer sinüzoidlerinin arasında ışımsal şekilde sıralanmış olan ve yaklaşık 20-30µm çapında polihedral (çok yüzeyli) parenkim hücreleridir. Genelde merkezde yerleşik tek çekirdeğe sahiptirler fakat iki ve çok çekirdekli hücelere de sıklıkla rastlanmaktadır ve hücrelerin yaklaşık % 20 kadarı iki çekirdeklidir. Çoğunlukla ribozomal RNA yapımında görev alan bir veya daha fazla sayıda çekirdekçikleri vardır. Hepatosit sitoplazması, organeller ve inklüzyonlar tarafından sıkıca doldurulmuştur. Bir karaciğer epitel hücresinin üç işlevsel yüzeyi vardır: İki komşu hepatositlerin birbirine,,e bakan yan yüzlerindeki oluklardan safra kanaliküllerinin meydana geldiği bir kanaliküler yüzey, Disse aralığına bakan mikrovilluslarla kaplı bir sinüzoidal (emilim işlevli) yüzey ve iki komşu hücrenin birbirlerine temas eden yüzeyinde yer alan tutunma işlevine sahip bir yüzey.

Hepatosit sitoplazması, işlevsel durumuna bağlı olarak ince yapı ve organel/inklüzyon içeriğine göre belirgin farklılıklar gösterir. Sitoplazmadaki yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahip çok sayıda mitokondriyon, çeşitli hücre işlevlerinde kullanılmak üzere ATP (adenozin trifosfat) sentezler. Serbest ribozomlar ve bol granüllü endoplazma retikulumu yığınları, protein sentezinde görev alır. Çok sayıdaki Golgi kompleksi, tipik olarak safra kanaliküllerine veya çekirdeğe komşu olarak yerleşiktir. Tübüllerin ve sisternaların dallı bir ağı olan belirgin düz yüzlü endoplazma retikulumu (DER), sıklıkla düşük yoğunluklu lipoprotein kürecikleri içermektedir. DER, aynı zamanda ilaç detoksifikasyonu, glikojenin glukozaya çevrilmesi ve kolesterol yapımı için de enzimler içermektedir. Sitoplazmada değişik miktarlarda

depolanmış glikojen, sıklıkla DER'e yakındır. Çeşitli boyutlarda lipid damlacıkları ve sindirim enzimleriyle dolu lizozomlar boldur ve peroksizomlar Golgi kompleksine yakındır (4).

3.1.4.8. Karaciğer Sinüzoidlerinin Histolojisi

Ortalama çapları 9-15µm arasında olan karaciğer sinüzoidleri, kılcal damarlarından daha geniş ve düzensiz bir yapıya sahiptir. Son derece ince olan duvarlarında, aralarında Kupffer hücrelerinin yerleşik olduğu yassılaştırmış endotel hücreleri bulunur. Hücreler arasında yaklaşık 2 µm boşluklar bulunur. Endotel hücrelerinde 100 nm çapında, diyaframsız ve geçirgen fenestralar (pencereler) bulunur. Dış yüzlerinde devam eden bir bazal membrana sahip olmayan bu hücreler, sinüzoid endotelinin toplam yüzey alanının % 6-8'ini meydana getirirler. Endotel hücrelerinin lümenine doğru uzanan oval şekilli ve koyu görümlü çekirdekleri vardır. Kupffer hücrelerinin çekirdekleri ise, daha yuvarlak olup soluk boyanır. Elektron mikroskopisinde, Kupffer hücrelerinin lizozomlar yönünden zengin oldukları ve bu hücrelerin çok sayıda filopoda (yalancı ince ayakçıklar) endositik veziküle sahip oldukları görülür. Kandaki monositlerden köken alan makrofaj yapısındaki bu fagositik hücreler bakterileri, virüsleri, tümör hücrelerini ve parazitleri etkisizleştirme işlevine sahiptirler. Sitoplazmalarında bol miktarda lizozom, kırmızı kan hücresi parçacıkları ve sindirilen diğer maddeler bulunur. Sinüzoidler, hızlı madde değişiminin sağlanabilmesi için son derece geçirgen yapılardır. Hücreler arasında yer alan boşluklar ve endoteldeki pencereler plazma proteinlerinin geçmesine izin verirken

kan hücreleri ve trombositler bu aralıklardan geçemez. Dar Disse aralıkları sinüzoidleri etraftaki hepatositlerden ayırır.

3.1.4.9. Disse Aralığının Histolojisi

Sinüzoid lümenindeki plazma, endotel hücrelerindeki pencereler ve hücreler arasındaki boşluklar yoluyla Disse aralığıyla iletişim kurar. Böylece hepatositler, plazmayla doğrudan temas sağlar. Hepatositlerle kan arasındaki madde değişim oranını ve yüzey alanını artıran mikrovilluslar, Disse aralığına doğru uzanır. Hepatosit sitoplazmasında, geniş salgılama ve emilim yüzeyine sahip çok sayıda vezikül ve vakuol vardır. Aynı zamanda yıldız hücre olarak ta bilinen ve dış kaynaklı A vitaminini depolayan yağ içeriğine sahip İto hücreleri de, yine Disse aralığında bulunur. Bu hücreler genellikle büyütme faktörlerini, sitokinleri ve hücre dışı matriks proteinlerini salgılar. Alkolik karaciğer hastalığı gibi bazı patolojik durumlarda, fibrozisin gelişmesine yardım ederler. Disse aralığında biriken aşırı sıvı ve çözeltiler, karaciğerdeki lenf oluşumuna katkıda bulunur (4).

3.1.4.10. Karaciğer Safra Kanalı Sisteminin Histolojisi

Karaciğer içi safra kanallarının en küçüklerinin çapları 10 µm kadar olup bu kanallar tek tabakalı kübik epitele sahiptir. Sıkı bağlantılardan ve desmozomlardan meydana gelen bağlantı birimleri lümen yüzeyine yakındır ve hücreleri birbirine bağlar. Kübik epitel hücreleri olağan organel yapısına ve merkezde yerleşik yuvarlak çekirdeklere sahiptir. Sitoplazmada yer alan çok sayıda tonofilamanlardan bazıları desmozomlara bazıları ise lümen tarafında yer

alan terminal ağa tutunur şekildedir. Bu yapılar kasılabilir özellikte olup kanaliküllerdeki peristaltik hareketlere yardım ederler. Kübik epitelin apikal yüzlerinde lümeneye doğru uzanan düzenli ve kısa mikrovillusların yanısıra seyrek olarak yerleşik siliumlar vardır. Epitelin bazal yüzeyi 20-30nm kalınlığındaki bir bazal zar üzerinde oturur. Safra kanalları genişledikçe kanalı döşeyen hücreler daha prizmatik hale gelir ve çekirdekleri bazale doğru kayar. Daha geniş kanallarda müköz bezler lümen epiteliyle bağlantılıdır. Yoğun kollagen lif demetlerinde meydana gelen bağ dokusu kanalları kuşatır. Safra kanalları daima portal yollarda bulunur ve damarlara eşlik ederler.

3.1.4.11. Safra Kanaliküllerinin Histolojisi

Safra kanalikülleri yaklaşık 1 µm çapındaki ilk ve en küçük safra geçiş yollarıdır. Birbirine komşu iki hepatositin zarlarının arasındaki hücreler arası boşluk veya kanaldır. Bu hücreler kanalikül lümenine safra salgılar. Işık mikroskopu altında özel boyalarla enzim histokimyasında ATPaz etkinliğinin tespit edilmesiyle veya elektron mikroskopuyla en iyi şekilde gösterilebilen kanaliküller karaciğerden dışarıya doğru uzanan bir kesitte görüntülendikleri zaman kafes teline benzer bir ağ şeklindedir. Hepatositler tarafından her dakika yaklaşık 0,5 ml. safra üretilmektedir. Safra salgısı sindirim kanalı yoluyla uzaklaştırılmak üzere detoksifiye atıklar içerir. Genellikle kanaliküllerdeki safrayla kan dolaşımı arasında herhangi bir iletişim yoktur. Komşu hepatositlerin kısa ve düzensiz mikrovillusları kanalikül lümenine girer. Buradaki hepatositlerin yan kenarları desmozomlarla ve sıkı bağlantılarla güçlendirilmiş olup bu yapı safranın kanalikül lümeninden sızmasını engeller (4).

3.1.5. Hepatoselüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi

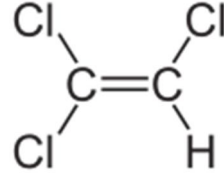
Hepatoselüler zedelenmeyle ilişkili testler serum transaminazları veya aminotransferazları olarak adlandırılan, aspartat aminotransferaz (AST, serum glutamik- oksaloasetatik asit transferaz [SGOT]), alanin aminotransferaz (ALT, serum glutamik- piruvik transaminaz [SGPT]) ile laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleridir. AST karaciğer dışında, iskelet ve kalp kaslarında, böbrekler, beyin, pankreas, akciğerler, lökositler ve eritrositlerde bulunurken ALT esas olarak karaciğerde bulunur. ALT sitosolde, AST ise hem sitosolde hem de mitokondride yer alır.

Laktat dehidrogenaz pekçok normal ve malign dokuda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Enzimin beş izoenzimi (LDH 1-5) olup, elektroforetik olarak en yavaş olanı (LDH-5) karaciğerde bulunan izoenzimidir.

Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtabilecek şekilde dolaşımda az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda zedelenme durumunda serum düzeyleri yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir ki; bu kötü prognoz belirtisidir (5).

3.2. Trichloroethylene

3.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler



Şekil 1: TCE'nin kimyasal yapı formülü

- Ticari Adı : Trichloroethylene (TCE)
- Kimyasal Formülü : C₂HCl₃
- Açık Formülü : ClC=CHCl
- Görüntü : Sıvı
- Renk : Renksiz
- Koku : Tatlımsı
- Yoğunluk (su=1) : 1.46 gr/ml
- Buhar yoğunluğu (hava=1) : 4.53 mg/m³
- Buhar basıncı : 60 mmHg/20 °C
- Donma noktası : -87 °C
- Kaynama noktası : 87 °C
- Suda çözünübilirlik : 0.1 %wt (25 °C)
- Yanma (parlama) noktası : yok

Trichloroethylene (TCE) çevrede yaygın bulunan bir kirleticidir. TCE öncelikle endüstride metalleri indirgeyen bir ajan olarak ve bir çözücü olarak

(örneğin; bilgisayar çiplerini ve elektronik aletleri temizlemek için) kullanılmaktadır. TCE, 9295 içme suyu raporunun % 25'inde tespit edilmiştir. (IARC, International Agency for Research on Cancer, 1995) ve ABD'de içme suyu kaynaklarının % 34'ünden fazlası en sık rapor edilen organik bir bileşik olan TCE ile kontaminedir. (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR, 1995) (6).

Klorinli bir hidrokarbon olan TCE, primer olarak metal parçalarının indirgenmesinde kullanılmaktadır. Yağ, parafin, resin, kauçuk, selüloz esterleri, boya ve cilalar için kullanılan genel bir çözücüdür. ABD'de üretilen TCE'nin %85'i metal temizleyicisi olarak kullanılır. TCE doğada normal şartlarda bulunmamakla birlikte atık ürün şeklinde zararlı, çevresel bir kontaminant olarak karşımıza çıkmaktadır. TCE'ye insanlar metal indirgeme işlemleri sırasındaki buharlaşma ile veya TCE ile kontamine suların kullanımı ile maruz kalabilirler. TCE; yapıştırıcılarda, leke gidericilerinde, parke temizleme solüsyonlarında bulunması itibariyle aynı zamanda ev içinde de bulunabilen zararlı bir maddedir (7).

TCE, deney hayvanlarında hepatotoksisiteye neden olan çevresel ve endüstriyel bir kirleticidir. Yaygın kullanımı, suda kısmi çözünmesi ve uçucu olması nedeniyle çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Hava ve yeraltı sularının yaygın bir kirleticisi olarak insan sağlığı üzerindeki potansiyel yan etkileri çalışmalara konu olmaktadır. TCE kemiricilerde karsinojen olarak bilinir ve Uluslararası Kanseri Araştırmaları Enstitüsü (IARC) tarafından insanlar için de olası bir kanserojen olarak kabul edilmektedir (8,9). Ayrıca TCE, bir alt metaboliti

olan kloral hidrat (CH) ile benzer bir kimyasal yapıya sahiptir ve bir karsinojen olarak bilinir (10).

Kimyasal özelliklerinin (uçuculuk ve lipofilite) bir sonucu olarak TCE biyolojik membranlardan hemen emilir. İnsanların TCE'ye maruziyetlerinde TCE'nin göz ve deri için iritan olduğu kabul edilir. İnsanlar ve laboratuvar hayvanları için en önemli TCE'ye maruziyet yolları inhalasyon, dermal veya oral yollardan olur. Maruziyet genellikle TCE buharı veya sıvı TCE ile olur. Her iki durumda da TCE akciğerlerden veya gastrointestinal sistemden hızlı ve büyük ölçüde emilir. Emilen TCE daha sonra hedef organlara (akciğerler, karaciğer, böbrekler ve sinir sistemine) dağılır.

İnhalasyondan sonra, TCE, yüksek kan/gaz değişiminden dolayı alveolar endotelyumdan hızlı ve büyük ölçüde emilir. Tüm yollardan emilimin yüksek olmasına rağmen, kan/gaz değişiminin katsayıları farkı, türler arasında anlamlıdır. İnsanlardaki kan/gaz değişimi katsayıları yaklaşık olarak 1.5 ve 2.5 kat fare ve sıçanlardan daha düşüktür. Bu durum gösterir ki TCE'nin dolaşım sisteminden hedef organlara taşınması insanlarda kemiricilere oranla daha düşük olabilir. Bu hayvan verilerinin sonuçları risk yönetiminde kullanılırken dikkate alınması gereken bulgulardır.

TCE buharının maruziyetinden kaynaklanan dermal emilim önemsizdir buna rağmen sıvı TCE'nin doğrudan deri temasıyla emilimi anlamlı olabilir. İnsanlarda TCE; büyük ölçüde dermal emildiğinde akciğerlerden değişime uğramadan atılır ve bu yol TCE'ye maruz kalmanın genel yolu değildir. TCE buharının dermal emilimi risk yönetim analizlerinde major etken olarak kabul edilmemektedir (11).

TCE; tatlı bir kokuya sahip, ağızda yakıcı bir tadı olan, yanmaz, renksiz bir sıvıdır. Esas olarak metal parçalardan gres yağını çıkarmak amacıyla kullanılmaktadır fakat aynı zamanda yapıştırıcıları, boya sökücülerini, daktilo düzeltme sıvılarını ve leke sökücülerini indirgeyici-çözücü bir ajan olarak da kullanılmaktadır. TCE'nin çevrede doğal olarak varolduğu düşünülmemektedir. Bununla beraber, yapılan analizlerde, yeraltı su kaynaklarında ve bir çok yüzey sularında kimyasal üretimi, kullanımı ve bertaraf edilmesi sonucu tespit edilmiştir.

TCE suda az çözünür fakat yeraltı sularında oldukça uzun süre kalabilir. Yeryüzü sularından oldukça hızlı bir şekilde buharlaşır bu yüzden havada gaz olarak bulunur. TCE topraktan yeryüzü sularına göre daha yavaş buharlaşır. Toprak parçacıklarında daha uzun kalabilir. TCE yeraltı sularında dip tortulara çöken parçacıklara yapışabilir. TCE'nin hayvanlarda ve bitkilerde bulunuşu ise anlamlı değildir (12).

TCE' ye maruziyet yolları:

- TCE ile kontamine olmuş banyo sularının buharı veya leke çıkarıcı, daktilo mürekkepi düzelticisi gibi ev ürünleri kullanılan ev ve çevrelerindeki havayı solumak;
- TCE ile kontamine olmuş sulardan içmek, yüzmek veya yıkanmak;
- TCE ile kontamine olmuş toprakla uğraşmak;
- TCE kullanılan ürünleri üretirken veya metallerdeki gres yağını temizlerken;

- TCE ile kontamine olmuş havayı deri veya solunum yoluyla maruz kalmak, TCE'ye maruziyet yollarından bir kaçıdır.

Az miktarlarda buharını solumak baş ağrısına, akciğer irritasyonuna, baş dönmesine, koordinasyon eksikliğine, konsantrasyonda zorlanmaya neden olabilir. TCE'ye büyük miktarlarda maruziyet ise; kalp fonksiyonlarının bozulmasına, bilinç kaybına veya ölüme neden olabilir. Uzun periyotlarla solumak ise solunum sisteminde, sinir sisteminde, üriner sistemde böbrek hasarlarına neden olabilir. Kısa periyotlarla oluşan cilt temaslarında ise döküntüler oluşabilir.

Fare ve sıçanlarda yapılan bazı çalışmalar yüksek dozda TCE'ye maruz kalındığında; karaciğer, böbrek ve akciğer kanserine neden olabileceğini ileri sürmektedir (12).

TCE ile kontamine olmuş içme suyu içilerek veya çalışma ortamlarındaki TCE ile kontamine olmuş hava teneffüs edilerek yüksek dozda TCE'ye maruz kalındığında kanser bulgularının arttığı bulundu. TCE'ye maruz kalmış insanlar ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları endişe vericidir. Bu çalışmaların sonucunda TCE'nin insanlardaki bazı etkileri hayvanlardaki etkilere benzer bulunmuştur.

Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency, EPA) TCE'nin içme suyundaki maksimum kirletici seviyesini litrede 0.005 miligram olarak belirledi (0.005 mg/L). EPA TCE'nin, taşınması ve bertarafı için düzenlemeler geliştirmiştir. Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi (The Occupational Safety and Health Administration, OSHA) TCE'nin güvenli maruziyet limitini 8 saatlik işgünü ve haftada 40 saat süre boyunca 100 ppm olarak belirledi (12).

TCE'nin akut ve kronik zehirlenmesinin klinik özellikleri iyi bilinir ve birçok araştırma raporlarında tarif edilmiştir, ancak, TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu nadir görülür. TCE'ye bağlı hipersensitivite sendromu olan hastaların tedavisi için, hastanın TCE ile maruziyetini kesip glukokortikoid tedavisine başlanması genel kabul edilen tedavi yaklaşımıdır. Genellikle hastaya glukokortikoid verilmesi TCE hipersensitivite sendromunu tedavi etmiştir. Ancak, tipik bir TCE hipersensitivite sendromu olan hastada yüksek doz glukokortikoid tedavisine rağmen direnç gelişti: 54 yaşındaki Koreli bir erkek hasta sarılık, ateş, kırmızı-ağrılı gözler, ve yaygın eritematöz makülopapüler döküntüler ile hastaneye başvurdu. Detaylı anamnezinde TCE'ye mesleki olarak maruz kaldığı saptandı. Tedavisi için intravenöz metilprednizolon başlandıktan sonra, hastanın klinik durumu oldukça düzeldi. Bunun üzerine; hastanın 60 mg/gün olan prednisolon dozu azaltıldı. Bu durumu takip eden 2 gün içinde hastanın karaciğer enzimleri ve total bilirubini yükselmeye başladı. Bu nedenle prednizolon tedavisi sonlandırılmadı. Tam iyileşme için tedavi süresinin uzatılması uygun bulundu ancak hasta tıbbi öneriye rağmen hastaneden ayrılmaya karar verdi. Hasta taburculuğundan 5 gün sonra pnömoni şikayetiyle acil servise başvurdu. Yapılan muayenede plevral efüzyonla birlikte sol akciğer infiltrasyonun neden olduğu dispne tespit edildi. Kan sayımında hemoglobin: 9.0gr/dl, beyaz kan hücre sayısı: 2,470mm³, platelet sayısı: 135,000/mm³, AST: 36 IU/L, ALT: 38 IU/L ve total bilirubin: 3.1 mg/dl olarak görüldü. Kan kültüründe MRSA (metisiline dirençli staphylococcus aureus) saptandı. Hasta acil servisten yoğun bakıma transfer edildi fakat acil servise başvurmasından 6 saat sonra resusitasyona cevap vermeyen bradikardi ve asistoli gelişti (13).

TCE; deri, sindirim ve solunum yolu ile absorbe edilebilir. Absorbe edilen TCE'nin çoğu trikloroetanol ve trikloroasetik asit olarak metabolize olur ve böbreklerden üriner yolla atılır. Yarılanma ömrü yaklaşık dört gündür. En sık mesleki maruziyet yoluyla TCE buharına maruz kalınır. Kolaylıkla inhale edilebilen TCE buharının yaklaşık % 70'i sistemik olarak absorbe edilir (13).

Klor içeren bir çözücü olan TCE, etilen veya asetilenin klorlanması yöntemiyle bir çok ülkede 1920'lerden beri ticari olarak imal edilmiştir. 1920'lerde buharı indirgeyici olarak kullanıldı. 1930'larda kuru temizlemede kullanılmaya başlandı. Ancak 1950'lerde asetat boyalarla geçimsizliği nedeniyle ABD'de kullanılmasına sınırlamalar getirildi. Şu anda TCE'nin dünya çapında % 80-90 kullanımını metalleri indirgenmesinde kullanılıyor. 1990 yılında TCE'nin tüm alanlardaki kullanımını ABD'de 225,000 tondur. TCE; hava, su, toprak, gıda ve hayvansal dokularda tespit edildi. Metal indirgenmesinde çalışıp inhalasyon yoluyla maruz kalanlar TCE'ye en yoğun şekilde maruz kalan kişilerdir (14).

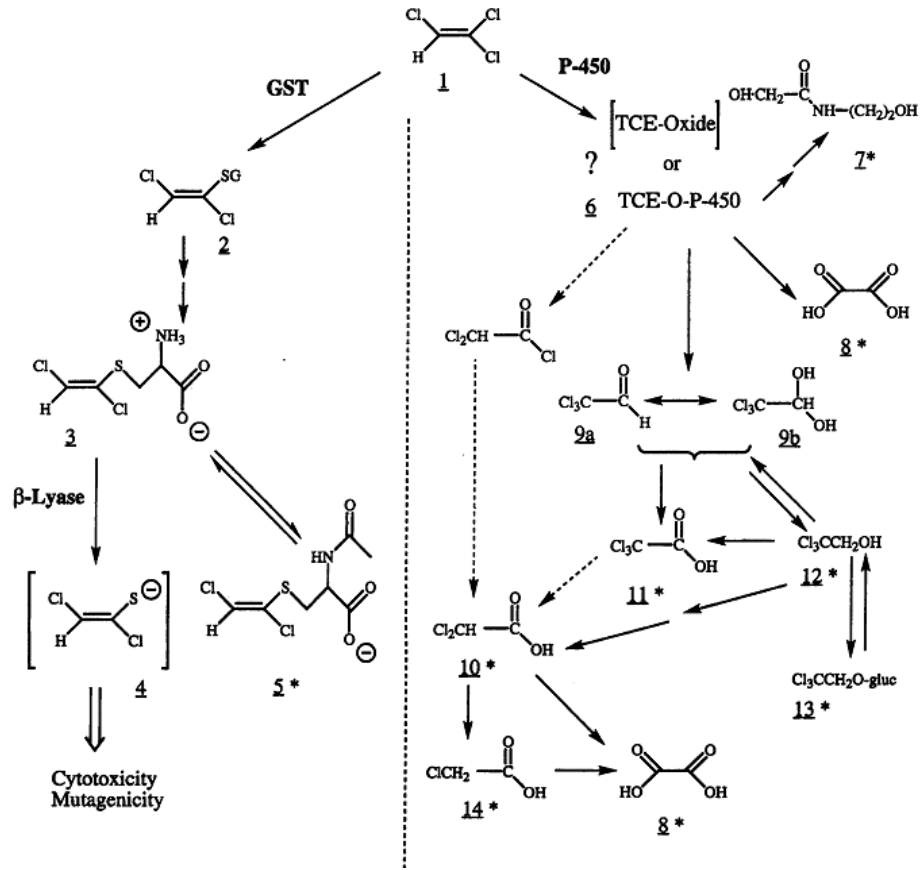
3.2.2. Trichloroethylene'in Metabolizması

TCE metabolizması öncelikle karaciğer ve böbreklerde oluşur, bununla beraber diğer dokularda da metabolize olabilir. TCE metabolizmasından sitokrom P450 ile oksidasyonu ve glutatyon ile konjugasyonu sorumludur. Oksidatif yol yüksek afinitesi olan metabolizasyon yoldur. Her iki yolda da enzimler TCE'nin metabolizmasına dahil olur (3).

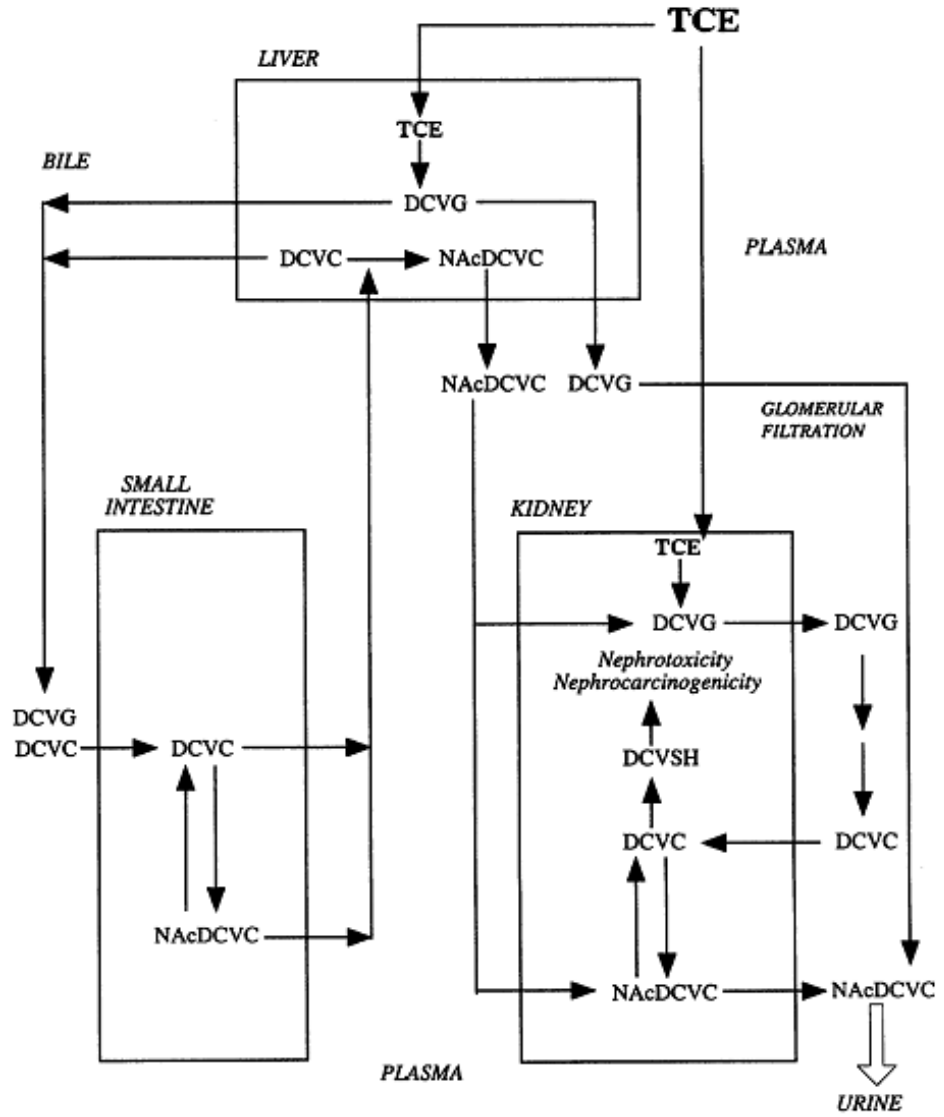
TCE, biri sitokrom P450 bağımlı oksidasyon diğeri ise glutatyon ile konjugasyon olmak üzere iki şekilde metebolize olmaktadır. TCE'nin sitokrom P450 ile bağımlı oksidasyonundan türemiş kloralhidrat, triklorasetat ve

diklorasetat metabolitlerinin hedef organları akciğer ve karaciğerdir. Glutasyon konjugatından türeyen metabolitlerinin hedef organları ise böbreklerdir.

TCE'nin emilimindeki ve dağılımındaki farklılıklarını, TCE toksisitesinin metabolizması ve duyarlılık değişikliklerini açıklayabilen faktörler: cinsiyet, tür ve emilimdeki zorluklar olabilir. Duyarlılıktaki en büyük farklılık büyük olasılıkla cinsiyet, tür ve TCE'nin ve alt metabolitlerinin metabolizmasından sorumlu enzimlerin farklılıklarına bağlıdır. TCE için insan sağlığı risk değerlendirmesinde rol oynayan bir diğer faktör de bazı enzimlerin aktivitesinin yüksek oranda değişiklik göstermesidir. TCE, iki ana yolak tarafından metabolize olur. Bunlar: sitokrom P450 bağımlı oksidasyon ve glutasyon ile konjugasyon. Bu tür karaciğer ve akciğerler gibi belirli hedef organları ile ilişkili olan TCE sitokrom P450 kaynaklı metabolitler, kloralhidrat, trikloroasetat ve dikloroasetat içerir. TCE'nin glutasyon ile konjugasyonundan elde edilen metabolitler, aksine olarak, bir hedef organ olarak sadece böbrek ile ilişkilidir. Özellikle, TCE sistein (proteinlerin hidrolizinden meydana gelen aminoasit) konjugatının reaktif metabolit üreten metabolizmasının artık ürünleri olan aminoasitler nefrotoksiktirler ve nefrokarsinojeniteye neden olabilirler. Sitokrom P450 yolağının, glutasyon konjugasyon yolağından daha yüksek bir aktiviteye ve daha yüksek afiniteye sahip olması glutasyon konjugasyon yolağının sadece yüksek dozlarda önemli bir yolak olduğu sonucuna varılmamalıdır (11).



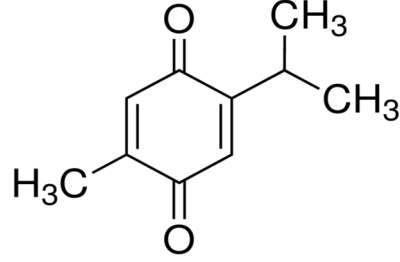
Şekil 2: TCE metabolizmasının 2 yolağı: glutatyon ile konjugasyon, P450 bağımlı oksidasyon. Metabolitler: 1=TCE; 2=DCVG(S-1,2-diklorovinyl glutatione); 3=DCVC (S-1,2-diklorovinyl-L-cystein); 4= 1,2-diklorovinylthiol; 5=NAcDCVC (N-acetyl-S-1,2-diklorovinyl-L-cysteine); 6=TCE-P450 veya TCE-oxide intermediate; 7=N-(hydroxyacetyl)-aminoethanol; 8=oxalic acid; 9a=chloral; 9b=chloral hydrate; 10=dichloroacetic acid; 11=trichloroacetic acid; 12=trichloroethanol; 13=trichloroethanol glucuronide; 14=monochloroacetic acid; GST=Glutatyon konjugasyon yolağı (11).



Şekil 3: TCE'nin glutatyon konjugasyonu yoluyla organlar arası süreci ve metabolizması (11).

3.3. THYMOQUINONE

3.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler:



Şekil 4: Thymoquinone'un kimyasal yapısı (15).

- Kimyasal Formülü : 2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinon
- Açık Formülü : C₁₀H₁₂O₂
- Görünüm : sarı-yeşil
- Form : katı
- Erime noktası : 45-47 °C
- Kaynama noktası : 230-232 °C
- Parlama noktası : 104 °C (16).

Thymoquinone (TQ), aktif bir bileşik olarak kara çörek otunun (*Nigella sativa*) uçucu yağından izole edilmiştir (17). *Nigella sativa* tohumları zengin besin değerlerine sahiptir. Siyah tohumlar glikoz, ramnoz, ksiloz ve arabinoz gibi monosakkaritleri içerir. Tohumlar nişasta olmayan, kullanışlı diyet lif kaynağı olabilecek bir polisakkarit içerirler. Yağ asidi açısından zengindir. İçinde doymamış ve esansiyel yağ asitleri vardır. İçerisinde bulunan 15 çeşit yağ asidinin 8 tanesi esansiyel aminoasittir. Kimyasal analizler, vitamin A'ya dönüşen karoten

de içerdığını göstermektedir (18). *Nigella sativa* bitkisinin tohumlarından elde edilen yağın içindeki izole bileşenleri üzerinde 1959' dan beri araştırmalar yapılmaktadır. Bu bitkinin tohumlarından elde edilen yağın içindeki etken maddeler ve onların izole bileşenleri antioksidan, antiinflamatuvar, antikanserojen, antimikrobiyal, immünomodülatör özelliklerinden dolayı araştırılmakta ve çalışmalara devam edilmektedir (19). Çalışmalar TQ'nun insan T hücrelerinde hücre koruyucu etkisini ve kardiyovasküler dokuda antioksidan etkisini göstermektedir (20).

Akciğer dokularının histolojik çalışmaları; TQ'nun alerjen ile oluşturulmuş akciğer eozinofilik inflamasyonunu ve mukus üreten goblet hücrelerini anlamlı derecede inhibe ettiğini göstermektedir. TQ' un interlökin-4 (IL-4), interlökin-5 (IL-5) ve interlökin-13 (IL-13)'ü anlamlı derecede inhibe ettiğini gösterirken; OVA antijenleri ile uyarılmış akciğer hücre kültürünün IL-4 üretimine *in vitro* etkisinin çok az olduğunu göstermektedir. Bu veriler TQ'nun alerjik solunum yolu inflamasyonunu ve havayollarındaki eozinofil infiltrasyonunu inhibe ederek alerjik solunum yolu inflamasyonunu azalttığını gösterir; böylece akciğerlerdeki alerjik yanıt sürecinde potansiyel anti-inflamatuvar rolünü kanıtlamaktadır (21).

Yapılan başka bir çalışmada *Nigella sativa*'nın aktif bir bileşiği olan TQ'nu izole sıçan hepatositlerinde tert-butyl hidroperoksit toksisitesine karşı hepatoprotektif etkisi test edilmiştir. TQ; hücre canlılığının azalmasını ve tert-butyl hydroperoxide (TBHB) ile indüklenmiş izole hepatositlerden enzim salınmasını inhibe etmiştir. Ayrıca TQ intraselüler glutatyonun korunmasına sebep olmuş böylece hepatoprotektif etkisi açıklanabilmiştir (22).

Streptomyces achromogenesten üretilen bir antibiyotik olan streptozotocin (STZ) pankreasın β hücrelerine genotoksik etkisi ile sıçanlarda deneysel diyabet oluşturmak amaçlı kullanılmış. TQ'nun oral uygulaması, streptozotocin nicotinamide (STZ-NA) ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlara glisemi seviyesinin artmasına bağlı olarak doz artırılarak 45 gün boyunca verilmiştir. Yapılan deney TQ'nun diyabetik ratlarda altı hafta oral olarak uygulanması plazma glukoz konsantrasyonunda anlamlı bir düşüşe neden olduğunu ve insülin seviyesinde yükselmeye neden olduğunu göstermiştir (23).

Yaşlanma; artmış vasküler oksidatif stres ile bağlantılı olduğundan, “TQ tedavisi orta yaşlı sıçanların mezenterik arterlerinin oksidatif stres düzeyini azaltır” ihtimali redoks duyarlı floresan prob dihidroethidin (DHE) kullanılarak değerlendirilmiştir. DHE floresans sinyali; genç sıçanlar ile orta yaşlı sıçanlar arasında karşılaştırıldığında, arter duvarı boyunca belirgin olarak artmış olarak saptandı. 2 hafta süreyle TQ alımı; orta yaşlı sıçanlar arasında mesenterik arter DHE floresans sinyalinde anlamlı bir azalma ile ilişkilidir. Böylece TQ, anjiotensin sisteminin oksidatif stres inhibisyonunu ve normalizasyon aracılığıyla, en azından kısmen, yaşlanma endotel fonksiyonunu düzeltir. TQ yaşlanma ile ilişkili vasküler hastalıklar için yeni bir tedavi yaklaşımı temsil edebilir (24).

Thymoquinone (TQ) köken olarak kara çörek otunun uçucu yağının aktif bir bileşiği olarak izole edilmiştir (20). Bitkinin tohumları fixed yağ (>% 30 wt/wt) ve uçucu yağ (% 0.40- % 0.45;) içermektedir (25). Uçucu yağ % 18.4- % 24 TQ (2- isopropil-5-metil-1,4-benzo-quinone) içermektedir (26). TQ'nun; lipid peroksidasyonunu (27) cisplatin nefrotoksitesini (28), ifosfamid Fanconi

sendromunu (29), tetraklorid hepatotoksitesini (30), doxorobucin kardiyotoksitesini (31) ve histamin salınımını (32) azalttığı gösterilmiştir. Kara çörek otunun insan T hücreleri üzerinde hücre koruyucu etkisi ve kardiyovasküler sistem dokularında da antioksidan etkisi çalışmalarla kanıtlanmıştır (33).

Sıçanlarda TQ'nun (20 mg/kg) dozu ülser indeksinde ve malondialdehit seviyesinde azalmaya ve glutatyon tükenmesini tersine çevirmeye neden olduğu bulundu. Ancak, etanol ile oluşturulan yüksek süperoksit dismutaz aktivitesinde değişime neden olduğu istatistiksel olarak saptanamadı. Bu sonuçlar TQ etanol ile oluşturulan gastrik ülser gelişimini inhibe ettiğini ve TQ'nun mide koruyucu etkisinin antioksidan özelliğinin bir sonucu olduğunu düşündürmektedir (34).

Nigella sativa'nın yağı ve tohumlarının özleri özellikle thymoquinone ve alfa-hederin; çok çeşitli kanser türlerine karşı belirgin aktiviteleri olduğu in vitro ve in vivo olarak saptanmıştır. Nigella sativa antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle neoplazmların komplikasyonlarının azaltılmasında ve neoplazmların önlenmesinde katkıda bulunabilir. Thymoquinone ve alfa-hederinin moleküler yapısında yapılabilecek uygun değişiklikler neoplastik tümörlerin tedavisi için daha etkili ve güvenli bir ilacı üretmeye yardımcı olabilir. Ayrıca, Nigella sativa'nın tohumu, yağı, thymoquinone, alfa-hederin veya analogları halihazırda kullanılan kanser ilaçları ile kombine kullanılabilir. İleri seviyedeki araştırmalar Nigella sativanın kanser hücrelerine zarar verirken sağlıklı hücrelere olumsuz etki etmediği rapor edildi (35).

TQ'nun antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi; ensefalomiyelit, diyabet, astım ve karsinogenez dahil olmak üzere çeşitli hastalık modellerinde rapor edilmiştir. Ayrıca TQ; katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz gibi

çeşitli antioksidan enzim aktivitelerini koruyucu işlevi görebildiğinin yanı sıra bir serbest radikal ve süperoksit radikallerini indirgeyici olarak da davranır. TQ'nun kanser oluşumunun engellenmesine yönelik etkileri; antiproliferasyon, apoptozun uyarılması, hücre döngüsü arresti, metastazı önleyici-anti anjiogenez dahil olmak üzere farklı etki mekanizmalarıyla aracılık eder. TQ'nun anti-tümör etkileri tümör ksenograf fare modelleri oluşturularak kolon, prostat, pankreas ve akciğer kanseri için incelenmiştir. Thymoquinone ve geleneksel kemoterapi ilaçlarının kombine kullanımını daha güçlü terapötik etkiyi üretmenin yanı sıra oluşabilecek toksisite riskini azaltabilir (36).

Diğer bir çalışmanın sonuçlarında ise 1,2-dimetilhidrazin (DMH, güçlü bir kolon karsinojeni) kolon kanserinde eritrositlerde oksidatif stres düşündüren değişmiş biyokimyasal bazı değişkenler azaltılmasında TQ ile ön uygulamasının yararlı rolü gösterilmektedir. Fakat TQ'nun çeşitli karsinomları ve enflamatuvar hastalıkların tedavisi için potansiyel bir ilaç haline getirilmeden önce daha fazla çalışma yapılması gerektiği rapor edilmiştir. Epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, deney hayvanlarında, kolon kanseri riskini azaltmada bitkilerden elde edilen bileşiklerin tümör gelişimini ve çeşitliliğini inhibe ettiğini göstermektedir. Nigella sativa, Ortadoğu halk hekimliğinde iki bin yılı aşkın süredir çeşitli hastalıklar için yaygın olarak kullanılan Ranunculaceae familyasına ait bir yıllık otsu bir bitkidir. TQ; Nigella sativa bitkisinin tohumlarından elde edilen esansiyel yağın içerisinde bulunur ve çok çeşitli tohumların antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden sorumlu aktif bir bileşik olarak bilinir. TQ'un umut vaadeden antitümör etkileri olduğu ortaya konmuştur. TQ, benzo(a)pyren ile oluşturulan

mide tümörlerini inhibe ettiği gibi farelerde 20-methylcholanthrene ile oluşturulan fibrosarkom tümörlerinin insidansını da inhibe etmiştir (37).

TQ, oksidatif stres ile oluşturulmuş toksisiteye karşı korunmada enzimatik ve enzimatik olmayan önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. TQ'nun koruyucu etkisi, serbest radikalleri indirgeyici aktivitesi yoluyla gerçekleşir. TQ'nun antioksidatif, antiinflamatuvar, antitümör, antiülserojenik ve hepatoprotektif etkisi olduğunu gösteren bir çok çalışma mevcuttur. Kemirgen modeller üzerinde yapılan çalışmalar TQ'nun karaciğer hasarına yol açan kimyasal oksidatif strese karşı etkili antioksidan ve koruyucu madde olarak çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca bazı çalışmalar TQ gibi bazı serbest radikalleri indirgeyicilerin ksenobiyotik ile oluşturulan toksisiteye karşı koruyucu olduğunu göstermiştir (38).

Yapılan çalışmalar *Nigella Sativa*'nın tohumlarından elde edilen esansiyel yağ olan TQ'nun, çeşitli tümör hücrelerine karşı *in vitro* ve *in vivo* olarak antineoplastik büyümeyi inhibe edebileceğini göstermektedir. İnsan sağlığı üzerine yapılan klinik ve pre-klinik araştırmalara artan ilgi nedeniyle TQ ve bu ilacın *in vivo* şartlarda muhtemel taşıyıcısı olan human serum albumin (HSA) arasındaki bağlantı değerlendirmeye alınan çalışmada TQ-HSA kompleksinin termodinamik analizleri bağlanma sürecinin spontan geliştiğini ve TQ-HSA kompleksini birarada tutan moleküller arası baskın hidrofobik bağlar olduğunu göstermiştir (39).

3.3.2. Dimetil Sülfoksit:

Dimetil sülfoksit (DMSO), biyolojik çalışmalarda, hidrofobik maddelerin özölmesinde sıklıkla kullanılan hem suda hem de organik maddeler de amfipatik (bazlar karşısında asit, asitler karşısında baz gibi davranan) özelliği olan bir çözücüdür (40). DMSO, güçlü hidrojen bağları olan, çift kutuplu ve polarlaşma yeteneğine sahip, moleküllere bağlanması orta derecede güçlü olan bir çözücüdür (41).

3.4. Isı Şok Protein 70

Bir çok biyolojik sistem içerisinde strese karşı tepki oluşmaktadır. Bu tepkinin en belirgin olanı ilk defa yüksek ateşe bağlı olarak hücrelerde keşfedilen ve Heat Shock Proteinleri (HSP) ailesi olarak adlandırılan bir grup protein ailesidir. Bu protein ailesi genel olarak stres proteinleri olarak adlandırılmaktadır.

Yüksek sıcaklık, pH değişiklikleri, oksijen eksikliği gibi stres faktörleri altında proteinlerin fonksiyonel yapılarının korunması oldukça zordur. Protein katlanmalarında bozulmalar meydana gelir. Yapısı bozulmuş proteinler hücrede karşılaştığı diğer proteinlere yapışabilir ve kümeler meydana getirebilirler. Konformasyon bozukluğu nedeniyle fonksiyonlarını kaybederler. HSP'ler bu denatüre proteinleri tutarak toplanmalarını engeller.

HSP'ler; kuvvetli hidrojen bağları, güçlü hidrofobik etkileşimleri ve çift kutuplu heliks stabilitesinden dolayı denatüre olmazlar. Proteinlerin stabilitesinde ve denatüre olmuş proteinlerin katlanmalarında gereklidirler.

Bu protein ailesi genel olarak stres proteinleri olarak adlandırılmaktadır. Molekül ağırlıkları 15 kDA ile 110 kDA arasında değişen bu proteinler normal koşullar altında hücrelerde bulunurlar. Ancak ani ısı değişiklikleri veya diğer stres faktörleri ile karşılaştıklarında hücrelerde seviyeleri artar. HSP'ler hücrenin strese karşı direncini güçlendiren proteinlerdir. İnsanlar, bitkiler ve bakteriler benzer HSP yapısına sahiptirler (42).

Stres proteinleri büyüme, farklılaşma, bölünme, hatta hücre ölümü dahil hücre metabolizmasının tüm evrelerinde hayati önem taşıyan bir protein ailesidir. Ortak özellikleri hücrenin ani ısı değişimleri, reaktif oksijen metabolitleri, ağır

metaller, kuraklık, tuzluluk gibi çevresel faktörlere maruz kaldıklarında üretilmektedir. Bütün canlıların hücreleri tarafından üretilen bu proteinlerin yapısı değişmemektedir. İnsandan bakteriye kadar tüm canlılarda bulunduğu artık bilinmekte olan HSP'ler ve ısı şok cevabı biyoloji ve tıpta özellikle kanser ve yaygın hastalıklarda önemli bir araştırma konusudur.

3.4.1. Tarihçe:

1962 yılında F. Rito ssaDrosophilaria melanogaster' in larvalarının tükrük hücrelerinde ısı şok cevabının spesifik gen aktiviteleri sonucu oluştuğunu bildirmiştir. Bu genlerin ilk ürünlerine Heat Shock Protein ismi 1974 yılında verilmiştir. Sonraki çalışmalar ısı şok proteinin tüm türlerde varlığını göstermiştir.

3.4.2. Isı Şok Proteinleri Çeşitleri

HSP'ler; molekül ağırlıkları, yapıları ve fonksiyonlarına göre 5 sınıfa ayrılırlar. Bunlar: HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 ve sHSP'lerdir.

3.4.2.1. HSP 100

Fizyolojik koşullar altında bu protein moleküler şaperonlar gibi fonksiyon göstererek, proteinlerin yeniden düzenlenmesinde görev alır. HSP 100 protein kümelerini ayırmak için onları eritir. Özellikle HSP 100 ailesi içinde yer alan HSP 104 yeni toplanan proteinleri kurtarma yeteneğine sahiptir. Ayrıca HSP 100 mayalarda sıcaklık toleransının kazanılmasında da görev alır. Bitkilerde HSP 100 belli bir ısı toleransından sonra kapasitesini yitirir (42).

3.4.2.2. HSP 90

HSP 90 proteinlere bağlanarak onların aktivasyonunu ve katlanmasını düzenler. Geri katlanan peptidlerin kümeleşmesini önler. Sitoplazma ve endoplazmik retikulumda bulunur. Endoplazmik retikulumda en fazla bulunan ısı şok proteinidir (endoplazmik versiyon). HSP 90, HSF 1 (Heat Shock Faktör 1)'in fizyolojik koşullarda durumunun dengelenmesinde görev alır.

3.4.2.3. HSP 70

HSP 70 sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondride protein taşınmasına katılır. Stres altında proteinleri korur. Katlanmamış proteinlerin kümeleşmesini önler. Katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinler arasındaki dengeyi sağlar. Polipeptidleri birbirine bağlar. HSP 70, HSF'nin aktivitelerini düzenler ve ısı şok proteinlerin transkripsiyonunun kontrolünü sağlar. ATP'ye bağlanır ve ATPaz aktivitesi gösterir. E. Coli' deki ve insandaki HSP 70 aminoasit zinciri % 50 birbirine benzerdir ve yüksek ısıda yaşayamaz (42).

HSP'lerin pek çoğu, oldukça korunmuş bir amino (N)-terminal adenosin trifosfat (ATPaz) ucu ve bir karboksil (C) terminal substrat bağlayıcı ucundan oluşurlar.

HSP 70'in moleküler yapısı 44 kilodaltonluk (kDA), 18 kDA, 10 kDA olmak üzere üç ana bileşenden oluşur. HSP 70'teki tekrarlayan katlanmamış polipeptidlerin bağlanması ve serbest bırakılması döngüsü HSP 40 ailesi üyeleri gibi çeşitli şaperonlar tarafından modüle edilir (43).

Heat Shock Protein ailesinden olan HSP 70; çevresel stresten hücreleri koruyan bir molekül olarak davranıp aynı zamanda kanser oluşumunda ve metastaz sırasında yükselir. Son zamanlarda bir çok çalışma bu moleküllerin sirotik karaciğerde hepatokarsinogenezisin erken bir markırı olduğunu da göstermektedir. HSP 70 hepatoselüler karsinomanın önemli bir diagnostik markırı olduğu kadar prognozun erken göstericisi olarak da görülmektedir (44).

HSP 70 sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondride protein taşınmasına katılır. Stres altında hücreleri korur. Polipeptidleri birbirine bağlar. Diğer HSP'lerin transkripsiyonunun kontrolünü sağlar. ATP'ye bağlanır ve ATPaz aktivitesi gösterir (45).

HSP 70 proteinleri moleküler şaperon hücre ağının merkezi komponentleridir ve katalistleri katlar. Proteinlere kısa hidrofobik peptid bağlarıyla bağlanarak büyük ölçüde hücrelerde katlanmasına destek olur. Proteinlere temel bağlanma ve çökelmiş protein zincirinin kırılması HSP 70 ile ATP arasında düşük afiniteli bağ kurulması ve ADP ile yüksek afiniteli bağ kurulması ile gerçekleşir. Bu nedenle ATP'ye bağlanmak HSP 70 proteinlerinin moleküler koruyucu aktivitesinin in vitro ve in vivo aktivitesi için elzemdir (46).

HSP 70 ailesinin moleküler koruyucularının hücrelerde çeşitli fonksiyonları vardır. Proteinleri organellere taşıdığı ve çökelmiş proteinleri ayırdığı gibi yeni sentezlenen ve stresten denatüre olmuş proteinlerin katlanmasına da yardımcı olur (47).

3.4.2.4. HSP 60

HSP 60, 14 alt ünitelerden meydana gelir. Mitokondri ve sitoplazmada bulunur. HSP 70 ile birlikte protein katlanmasında aracılık yapar. Stresten korunma ve protein katlanması için gereklidir. Hatalı katlanan polipeptidlere bağlanarak doğru katlanmalarına yardım eder.

3.4.2.5. Küçük Heat Shock Proteinler (sHSP)

Futbol topu görünümündedirler. sHSP monomer molekülü 15-40 kDA'lu kütleler halinde bulunur. Sitoplazma ve çekirdekte mevcuttur. Isı stresi görülen hücrelerde belirgin olarak artış gösterir. Ayrıca antioksidan özelliği vardır. Memeli hücrelerinde, sHSP'ler sadece strese karşı korunmada değil aynı zamanda diğer hücre fonksiyonlarının (apoptozis ve farklılaşma gibi) modülasyonunda görev aldığı bilinmektedir.

3.4.3. Heat Shock Proteinlerin Görevleri

HSP'lerin hem hücre içinde hem de hücre dışında fonksiyonları vardır.

3.4.3.1. Heat Shock Proteinlerin Hücre Dışı Görevleri

HSP'ler hücre içerisinde normal olarak bulunurlar. Hücre dışında ise hücrelerin öldüğü ve içeriğinin dışarı atıldığında bulunurlar. Bu dağılmış hücrelerin planlanmamış ölümü nekroz olarak adlandırılır ve hücrede hatalı eylemler meydana getirir. Hücre dışındaki HSP'ler hastalık veya enfeksiyona karşı bağışıklık sistemini uyarmak için çok güçlü indükleyici özellikleri vardır (42).

3.4.3.2. Heat Shock Proteinlerin Hücre İçi Görevleri

HSP'lerin normal görevleri hücre içerisinde proteinlerin katlanmasına yardım ederek ve proteinlerin hazırlanmasını düzenleyerek her proteinin bağlayıcı olmasını sağlamaktadır. HSP'ler hücre içerisindeki peptidleri kuşatarak sınırlandırılmalarını sağlar. Hücre içerisindeki peptidler HSP'ler ile alınır. Bu proteinler hücresel şaperonlar gibi fonksiyon görürler, protein sentezinde ve taşınmasında rol oynarlar. Çünkü bu proteinler benzersiz hücresel yerleşime sahiptir.

Stres esnasında proteinlerin hidrofobik rezidülerine bağlanmakta, ortaya çıkabilecek denatürasyon ve çökelmeleri önleyerek yeniden katlanmalarını yönlendirmektedir. Böylece hücrelerin iyileşmesine yardım eder (43,48). Ayrıca şaperonlar, matür proteinler oluşuktan sonra fonksiyonlarının olgunlaşmasında rol alırlar (45).

Ek olarak HSP 70 proteinleri, organel membranları arasında protein translokasyonuna rehberlik ederek, stabil olmayan veya anormal proteinlerin proteolitik indirgenmesini kolaylaştırarak ve regülatuar proteinlerin biyolojik aktivitelerinin kontrolünü sağlayarak, ATP bağımlı moleküler şaperonlar olarak görev yaparlar (49,50).

Stres boyunca çok sayıdaki enzimlerde ve yapısal proteinlerde zararlı yapısal ve fonksiyonel değişim meydana gelmektedir. Bu sebeple stres altında bulunan hücrelerin hayatta kalmasında, proteinlerin kendi fonksiyonel konformasyonlarını sürdürmek, doğal olmayan proteinlerin toplanmasını önlemek, denatüre proteinlerin yeniden yapılanması ve tekrar fonksiyonel yapılarına dönmeleri ayrıca fonksiyonel olmayan ama zararlı olabilecek

peptidlerin ortadan kaldırılması önemlidir. Böylece, HSP'ler hücrel korumada tamamlayıcı rol oynamak ve bazen bir arada çalışmak suretiyle proteinleri streten korumaktadır.

3.4.4. Heat Shock Proteinlerin Hastalıklardaki Rolü

Stres yanıtlarının önemi açıklanmasına rağmen, son zamanlarda yapılan araştırmalar sadece HSP'lerin hücrenin hayatta kalması ve patojenik hastalıkların kontrolü üzerindeki rolüne odaklanmıştır.

3.4.5. Heat Shock Proteinler ve Bağışıklık

Hücre dışındaki HSP'ler hastalık veya enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini uarmak için çok güçlü tehlike sinyali gönderirler. Pek çok patolojik ajanın konakta immün cevap oluşturmasında rol oynayan antijenlerdir. Stres proteinlerine karşı gelişen immün cevaplar çapraz reaksiyonlar vasıtasıyla hücrenin kendisine karşı da (anti-cell f) reaksiyon gelişimine neden olabilmektedir. Sağlıklı bireylerin, enfeksiyon veya herhangi bir şekilde strese maruz kalmış kendi hücrelerinden arınmak için, kendi stres proteinlerine karşı immün cevap verebilme yeteneklerinden yararlanabildikleri ileri sürülmektedir. İşte bu yeteneklerin düzenlenmesindeki bozukluklar bazı otoimmün hastalıklara yol açabilmektedir. Stres proteinleri immün cevapta hedef olmanın yanısıra antijen sunulmasında da önemli rol oynarlar (42).

3.4.6. Heat Shock Proteinleri ve Kanser

1981 yılında Pramod Srivastara adında bir öğrenci yaptığı bir seri deneyde tümörlü hücreleri parçaladı. Sonra her bir tümörlü hücre parçasını aşılıyarak gelişen kanserden farenin korunduğunu gördü. Daha sonra yapılan deneyler fareyi korumaktan sorumlu elementlerin Heat Shock Proteinler olduğunu gösterdi.

Çoğu kanser çeşidinde HSP'lerin üretimi artar. HSP'ler; tümör hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması, invazyonu, metastazı, ölümü ve immün sistem tarafından tanınması ile ilişkilidir. Kansere hastası bireylerin kanser hücrelerinde HSP-peptid kompleksleri oluşur. Bu anormal peptidlerin hasta hücreler içerisinde bulunuşu kanserden kansere bireyden bireye farklı şekildedir. Bu yüzden anormal peptidlerin çok düşük düzeydeki oluşumu dahi kanser düşüncesini akla getirmelidir. Ayrıca HSP'ler bazı kanser tiplerinde hücre farklılaşma derecesinin de göstergesidir. Bazı kanser tedavilerinde artan HSP üretimi tedavinin etkili olduğunu belirtir. Örneğin göğüs kanserlerinde HSP 27 ve HSP 70 kemoterapiye direncin göstergesidir (42).

Son yıllarda, bazı çalışmalar, çok çeşitli HSP'leri, bir çok tümör çeşidinde klinik biyomarkır ve kanser tedavisinde moleküler hedef olarak saptadı. Çeşitli çalışmalar HSP'nin fazla salınımının bir çok antitümör ajana ve kemoterapötiklere yönelik dirençten kısmen sorumlu olduğunu ileri sürmektedir. Bu nedenle, farmakolojik açıdan, HSP inhibitörleriyle diğer antitümör ajanların birlikte kullanımı terapötik direncin üstesinden gelebilmek için büyük önem arz etmektedir (51).

3.4.7. Heat Shock Proteinler ve Oksidatif Stres

Stres; fizyolojik, biyokimyasal moleküler kanıtları içeren çoklu cevaplara neden olmaktadır. Oksidatif stres HSP ekspresyonuna sebep olur. Stres altında ratların vasküler endotelial hücrelerinde HSP seviyesinin arttığı görülmüştür. Kan basıncındaki ani artış bu yanıtlara bağlanmıştır.

HSP'lerin hücre döngüsü ve hücre ölüm düzenleyicileri gibi çok sayıda sinyal molekülleri ile ilişkili olarak hücrel sinyal ağında anahtar rol oynadığı belirlenmiştir. Bu konuda yapılan çok sayıda çalışma; bitkiler ve diğer canlılarda etkileşim mekanizmalarının benzer olduğunu ortaya koymuştur. Memeli hücrelerinde sHSP'lerin antioksidan özellikleri ile sadece oksidatif strese karşı korunmada değil, aynı zamanda diğer hücrel fonksiyonların (apoptozis ve farklılaşma gibi) modülasyonunda görev aldığı bilinmektedir (42).

Biz planladığımız bu çalışmada gerek boya sanayiinde gerekse temizlik sanayiinde kullanılan malzemeler aracılığı ile günlük yaşantımızda maruz kaldığımız kimyasal bir ajan olan TCE'nin karaciğer üzerine olan olası toksik etkilerini ve TQ'nun TCE toksikasyonuna karşı koruyucu etkilerini belirlemeyi amaçladık.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi (F.Ü.) Hayvan Deneyleti Etik Kurulu Başkanlığı'nın onayı ve Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FUBAP) (Proje No: TF.11.78.) desteği alındıktan sonra başlatıldı. Bu çalışmada denek olarak kullanılan Wistar Albino cinsi sıçanlar F.Ü. Deney Hayvanları Merkezi (FÜDAM) biriminden temin edilmiştir. Deney, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (FÜDAM) gerçekleştirildi. Deney için 25 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. 21°C oda ısısında 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-07:00) tutulan sıçanlar, özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi. Yemler çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayii T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlanan pelet yemlerdir (Tablo 1).

Tablo 1. Deneş hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği.

Buğday (%)	: 15
Mısır (%)	: 10
Arpa (%)	: 27
Kepek (%)	: 8
Soya (%)	: 29,4
Balık Unu (%)	: 8
Tuz (%)	: 0,6
Kavimiks VM 23-Z (%)*	: 0,2
Methionin (%)	: 0,2
DCP (%)**	: 1,6

*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri; 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

**% 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flordan oluşur.

4.1. Deneklere Uygulama Planı

Çalışmada 25 adet 8 haftalık, 180-200 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Denekler her biri 5 sıçan içeren 5 gruba ayrıldı.

Grup I: Kontrol grubu olarak kullanılan sıçanlardan oluşturuldu. (n:5)

Grup II: 3 hafta süre ile oral gavajla 1000 mg/kg/gün sıvı fazda trichloroethylene (TCE Index No: 602-027-00-9, Carlo Erba Reagenti, Viale Luraghi snc, Italy) verilen sıçanlardan oluşturuldu. (n:5)

Grup III: 3 hafta süre ile, oral gavajla, 1000 mg/kg/gün sıvı fazda TCE ve 1 ml dimethyl sulfoxide (DMSO)'da çözülen 50 mg/kg/gün thymoquinone (TQ, Product Number: 274666, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) uygulanan sıçanlardan oluşturuldu. (n:5)

Grup IV: Bu gruba ait sıçanlara, 3 hafta süre ile, 1 ml DMSO'da (Product Number : 47230, CAS-No. : 67-68-5, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) çözülen 50 mg/kg/gün dozunda TQ, oral gavajla verildi. (n:5)

Grup V: Bu grup; TQ'un çözümesinde kullanılan DMSO'nun deneye etki edip etmediğini saptamak amacıyla oluşturuldu. Bu gruba ait sıçanlara, 3 hafta süre ile, oral gavajla, DMSO 1 ml/gün dozunda verildi. (n:5)

3 hafta süren deneyin sonunda, ketamin (10 mg/kg) ve ksilazin (75 mg/kg) anestezisi altında servikal dekapitasyon yöntemiyle, deney hayvanlarına ötenazi uygulandı. Batın rezeke edilip karaciğer dokuları çıkarılarak 24 saat süreyle % 10'luk formolin solüsyonunda tespit edildi. Tespit aşamasından sonra dokular çeşme suyunda 24 saat süreyle yıkandı. Daha sonra dokular sırasıyla % 70'lik, % 80'lik, % 90'lık, % 96'lık, % 100'lük etanol serilerinden geçirildi. Ksilolde parlatılıp ısısı 56 °C olan etüvde parafin infiltrasyonu yapıldı. Takiben parafin

(Sigma-paraplast embedding media, Steinheim, Germany) bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin bir kısmına Hematoksilen ve Eozin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), ve Masson'un 3'lü boyama teknikleri kullanılarak histolojik boyama yapıldı. Geri kalan doku kesitleri ise immünohistokimya teknikleri kullanılmak için ayrıldı.

4.2. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Xylolede deparafinize edilen dokular dereceli etanol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra distile suya alındı. Dokular antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750 W) 7+5 dk kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (Ultra V Block, TA-125-UB, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (HSP 70 mouse monoclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, sc-32239, California, USA) ile 60 dk inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor 30 dk (biotinli anti-mouse IgG, Diagnostic BioSystems, KP 50 A, Pleasanton, USA), streptavidin horseradish peroksidaz 30 dk inkübe edildi. Fosfat tampon çözeltisi (phosphate buffered saline, PBS) ile yıkandıktan sonra DAB (3,3' Diaminobenzidine, Lab VisionFremont, CA, USA) kromojeni uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitlere Harris hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Çeşme suyunda mavilik gidinceye kadar yıkanan kesitler distile su ile yıkayıp alkol ve xylol serilerinden geçirildikten sonra Large Volume Vision Mount (LOT: UG 15179, TA-060-UG, UK) solüsyonu ile kapatıldı. Negatif kontrol için hazırlanan

dokularda primer antikor yerine PBS kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 fotomikroskopta incelenip fotoğraflandı.

4.3. İstatistik

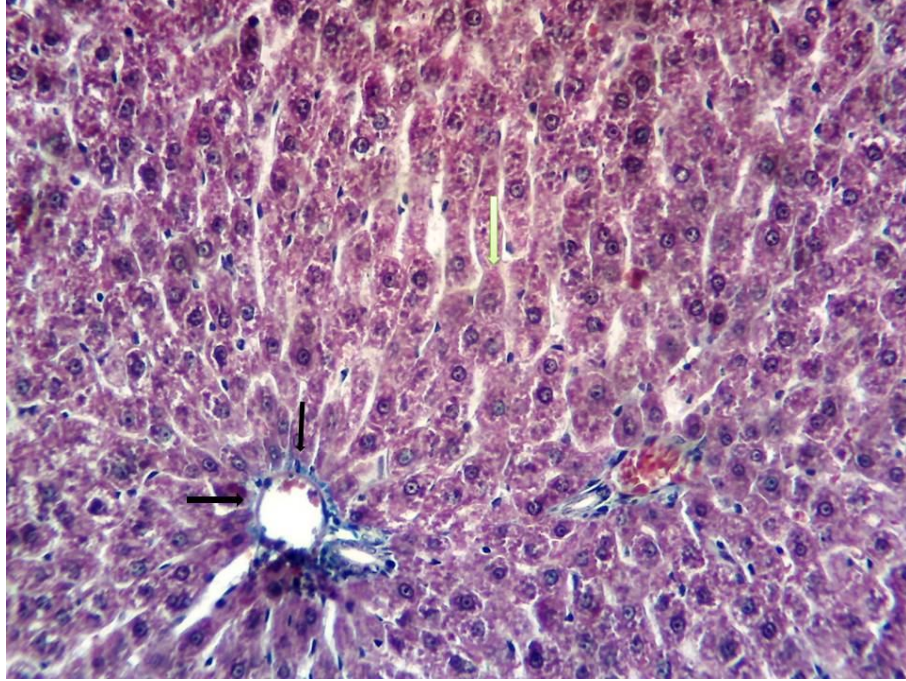
Tüm gruplara ait preparatlar HSP 70 immün reaktivitesi gösteren hepatositler baz alınarak incelenip skorlandı. HSP 70 immün reaktif hepatositler, ışık mikroskopunda “100 point graticule eyepiece” kullanılarak 200’lük büyütmede her grupta gelişigüzel seçilmiş 12 alan taranarak sayıldı. Elde edilen veriler SPSS 16.0 paket programı kullanılarak Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testine tabi tutuldu. Gruplar arasındaki farklılıklar Posthoc Tukey testi ile belirlendi.

5. BULGULAR

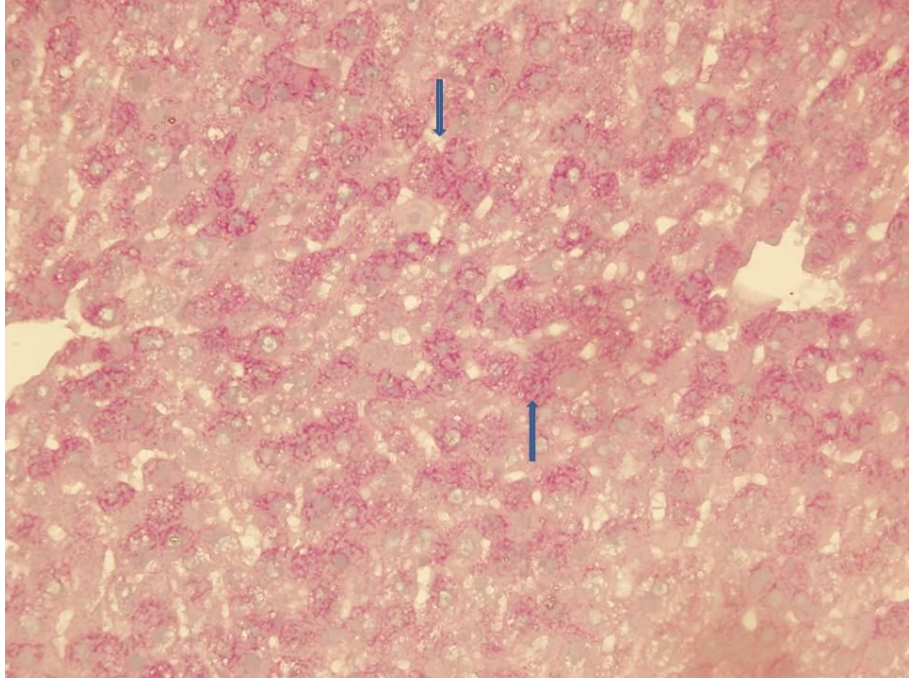
5.1. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna (Grup I) ait karaciğer doku kesitlerinde; hepatositler, hepatositlerin ışınsal dizilimi, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler, vena sentralis ve portal alan normal yapıda ayırt edildi. Her üç zonda da hepatositlerin glikojen içeriği belirgin şekilde gözlendi (Şekil 5-6).

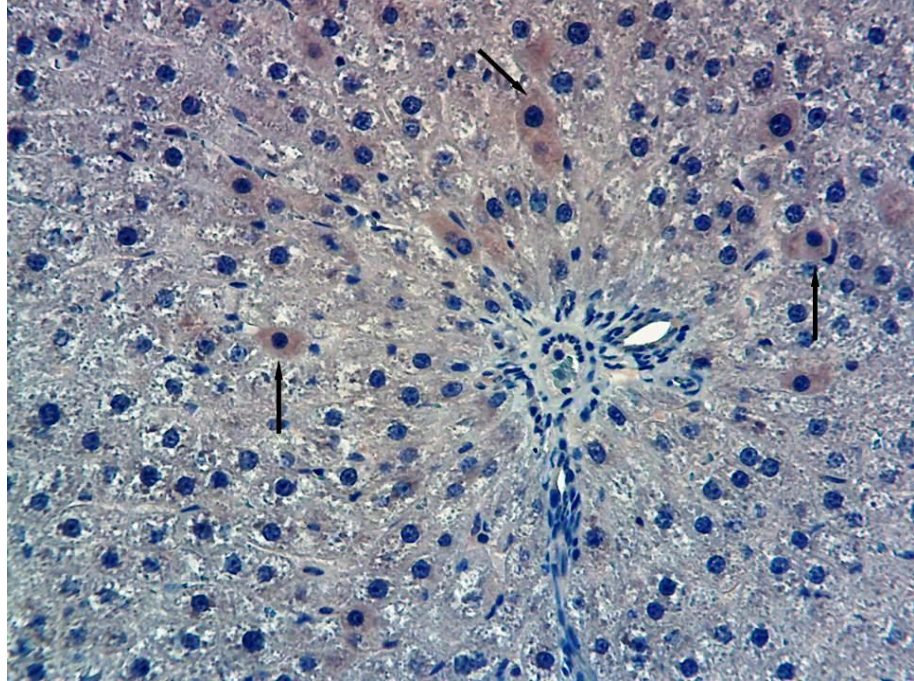
Grup I'e ait karaciğer dokuları, HSP 70 immün reaktivitesi açısından incelendiğinde az sayıda hepatositin HSP 70 proteinini ekspresse ettiği gözlendi (Şekil 7).



Şekil 5: Grup I. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda portal alan (siyah ok), hepatositler (sarı ok), sinüzoidler normal yapıda ayırt edilmekte. Masson'un üçlü boyası X 200



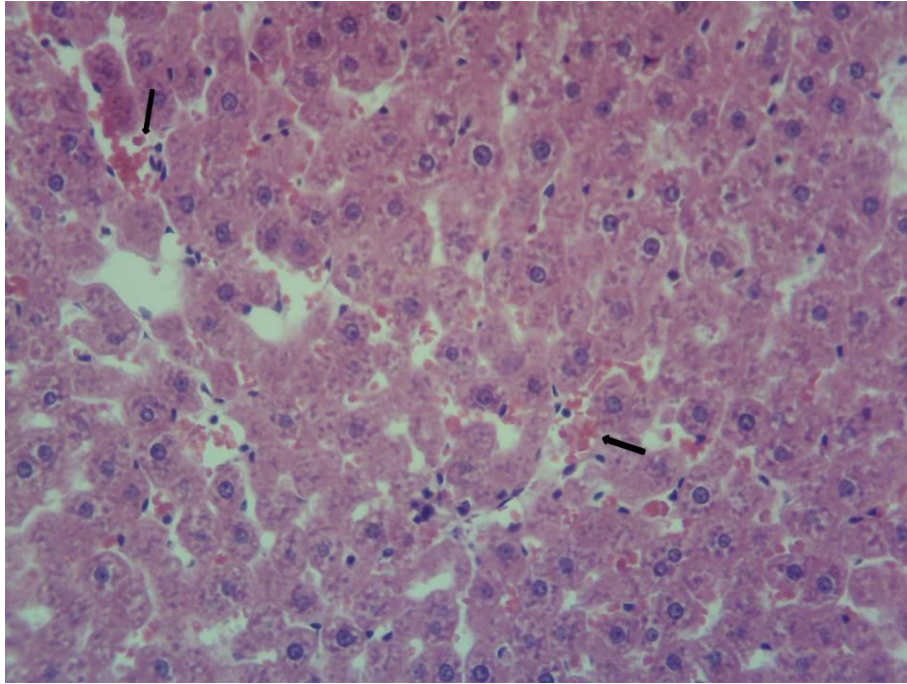
Şekil 6: Grup I. Kontrol grubuna ait kesitte, hepatositlerin belirgin glikojen içeriği (ok) gözlenmekte. Periodic Acid Schiff X 200.



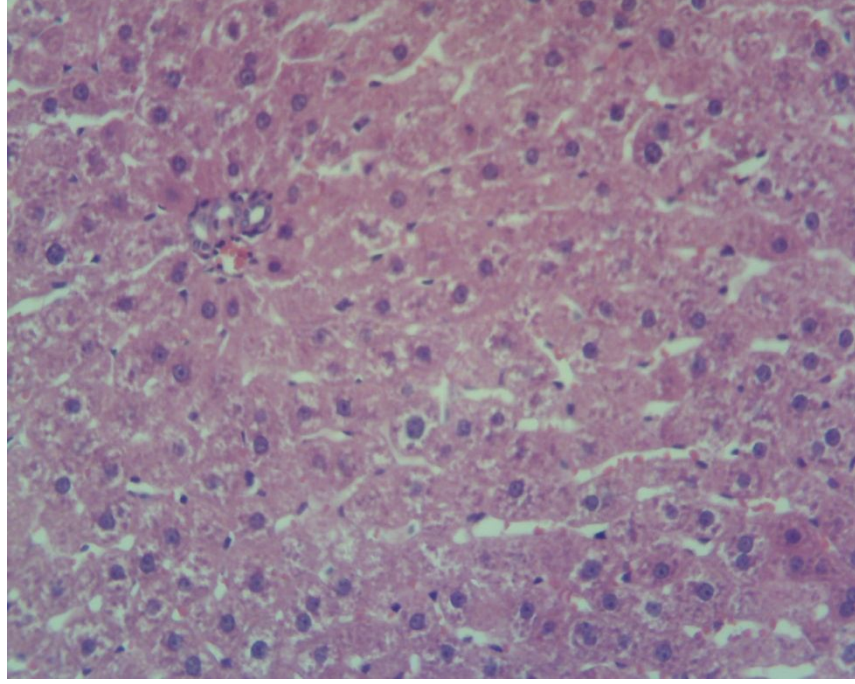
Şekil 7: Grup I. Kontrol grubuna ait kesitte HSP 70 immünreaktivitesi gösteren az sayıdaki hepatosit (ok). DAB X 200.

3 hafta süreyle, oral gavajla, 1000 mg/kg/gün dozunda trichloroethylene (TCE) verilen Grup II'ye ait karaciğer kesitlerinde; sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon, hepatositlerin ışınsal diziliminde bozulmalar, yer yer nekroze alanlar, piknotik çekirdekli hepatositler, sıklıkla gözlenen mononükleer hücre infiltrasyonu belirlendi. Bu gruba ait karaciğer doku kesitlerinde hepatositlerin glikojen depolarının oldukça belirgin bir şekilde boşaldığı ayırt edildi (Şekil 8-12).

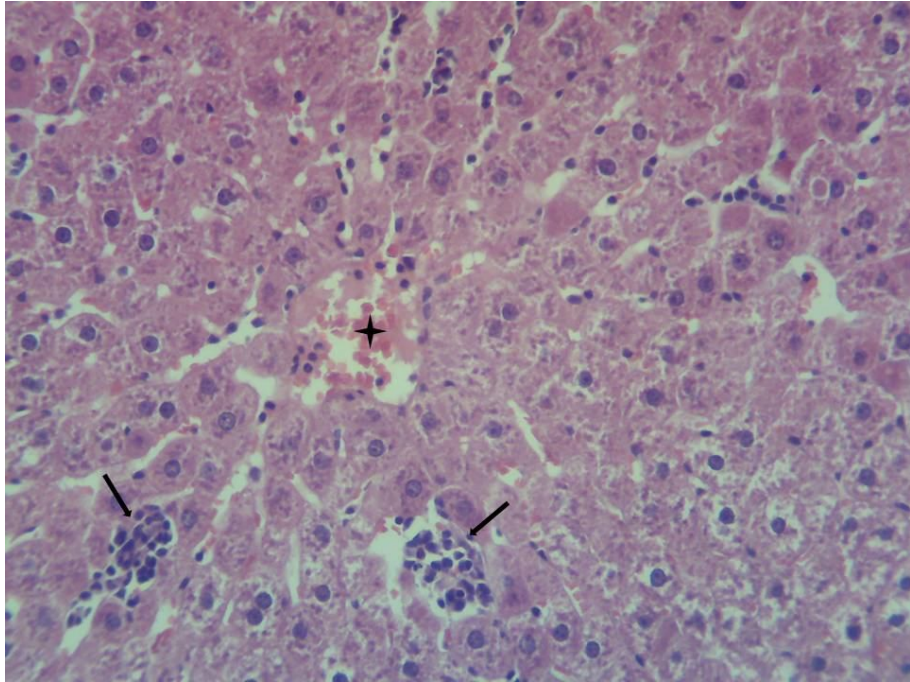
HSP 70 immün reaktivitesi bu grupta bütün zonlarda oldukça yaygın olarak tespit edildi (Şekil 13-14).



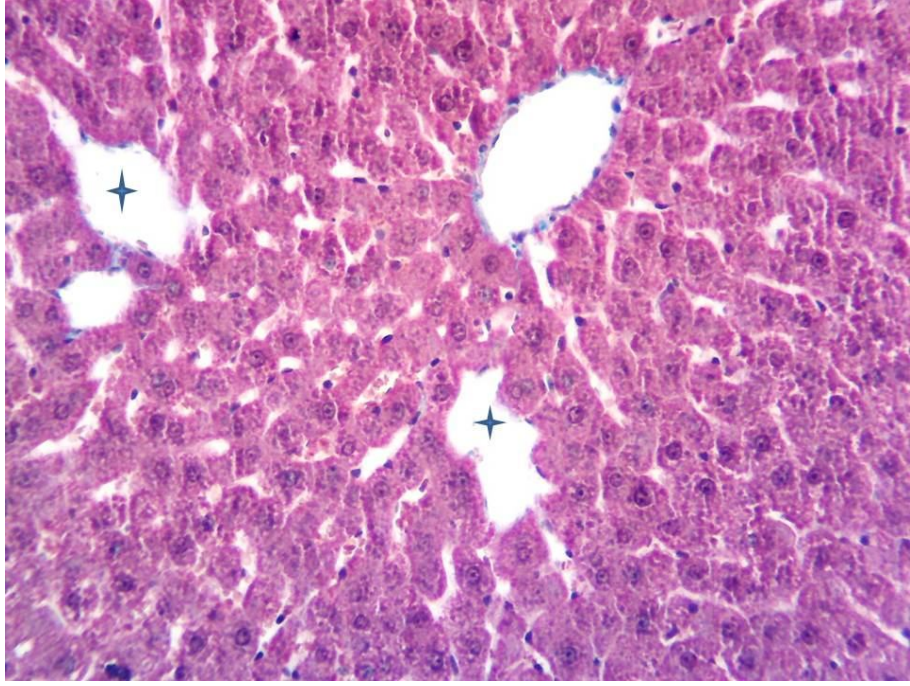
Şekil 8: Grup II. TCE uygulanan deneklerin karaciğer kesitlerindeki sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon (ok). Hematoksilen Eozin X 200.



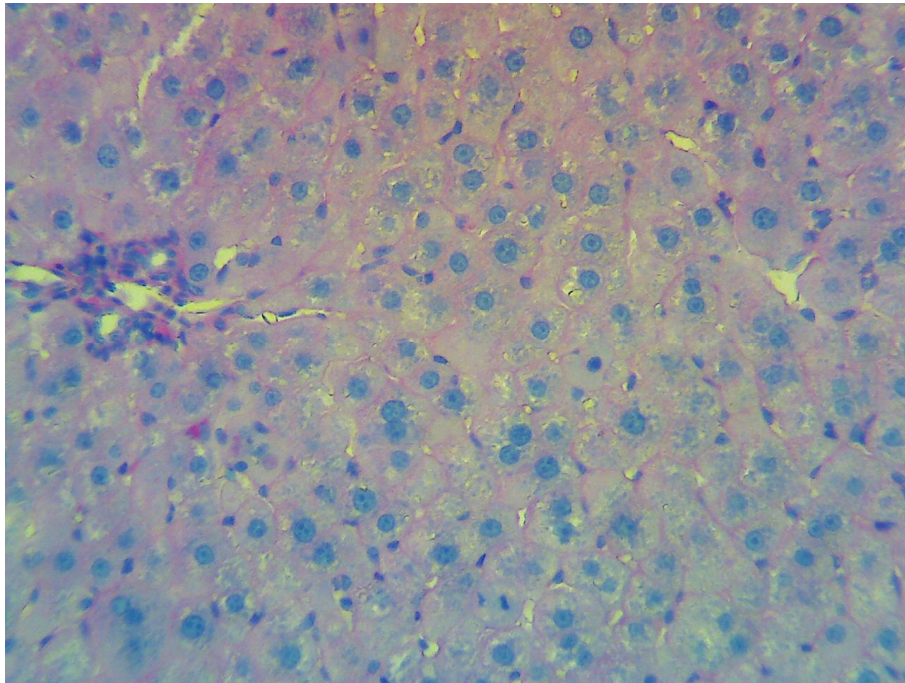
Şekil 9: Grup II. TCE uygulanmasına bağlı olarak periportal bölgede oluşan nekroze alan. Hematoksilen Eozin X 200.



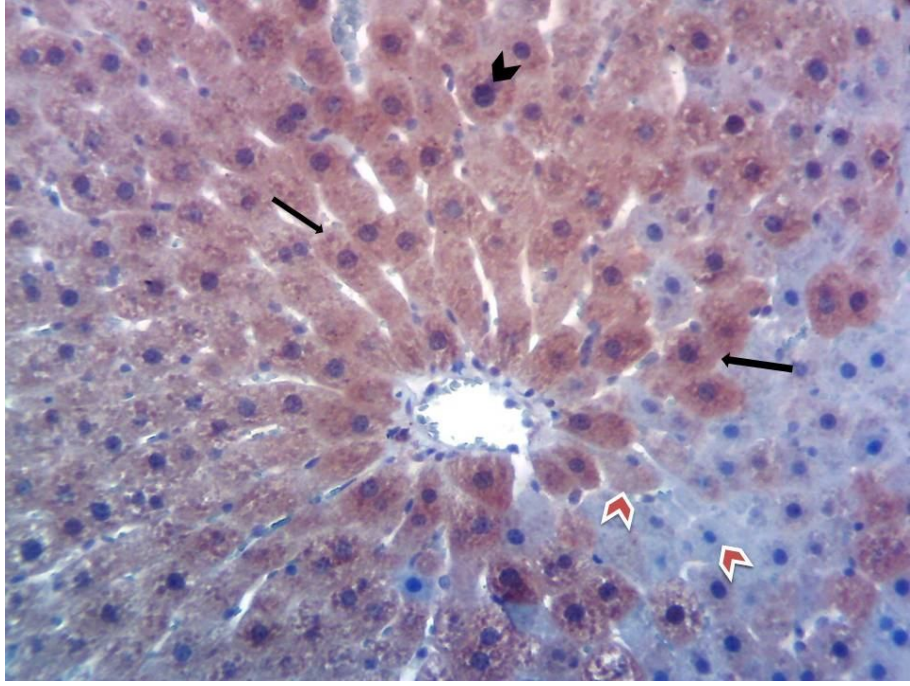
Şekil 10: Grup II. TCE uygulanan deneklere ait kesitte; mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) ve vasküler konjesyon (yıldız). Hematoksilen Eozin X 200.



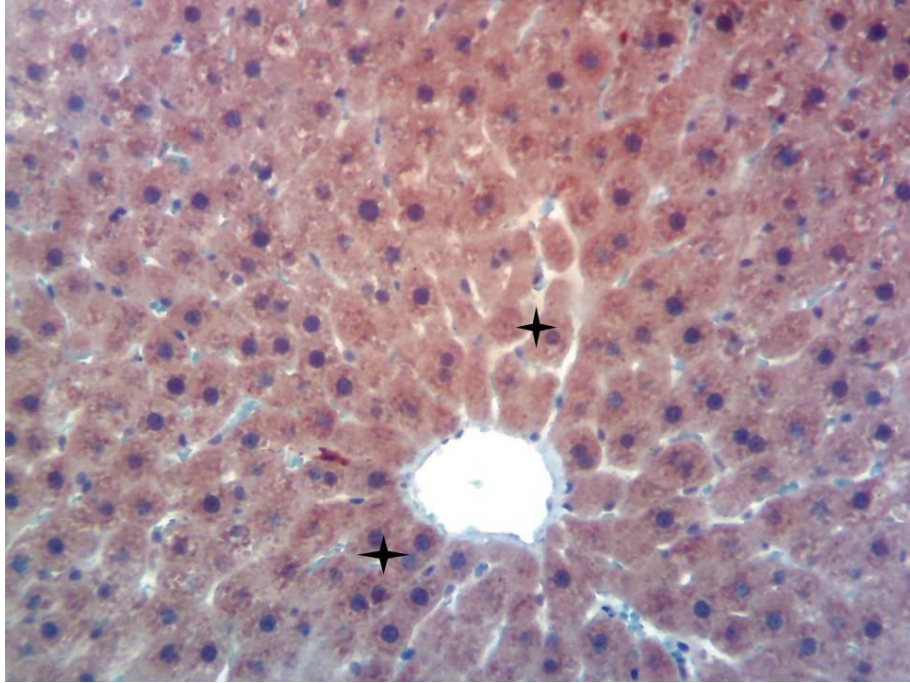
Şekil 11: Grup II. TCE uygulanmasına bağlı olarak Zon 3'te gelişen belirgin sinüzoidal dilatasyon (yıldız). Masson'un üçlü boyası X 200.



Şekil 12: Grup II. TCE uygulamasının hepatositlerin glikojen depolarını boşalttığı ayırt edilmekte. Periodic Acid Schiff X 200.



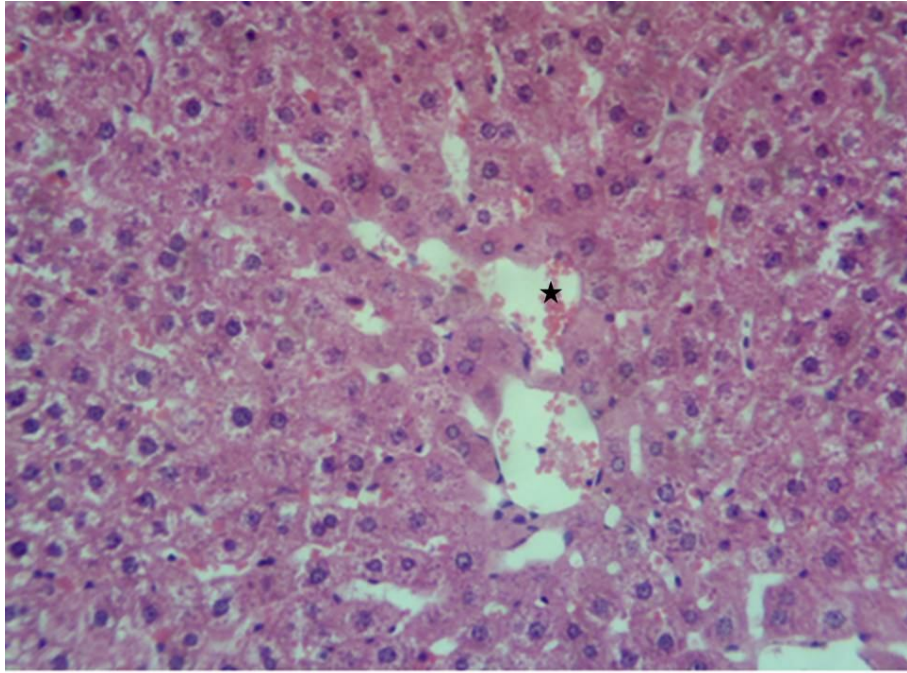
Şekil 13: Grup II. TCE verilen grupta Zon 3'te bulunan hepatositlerin yaygın HSP 70 immün reaktivitesi (ok), piknotik çekirdekli (kırmızı ok başı) ve farklı büyüklükte çekirdeklere sahip olan hepatositler (siyah ok başı) gözlenmekte. DAB X 200.



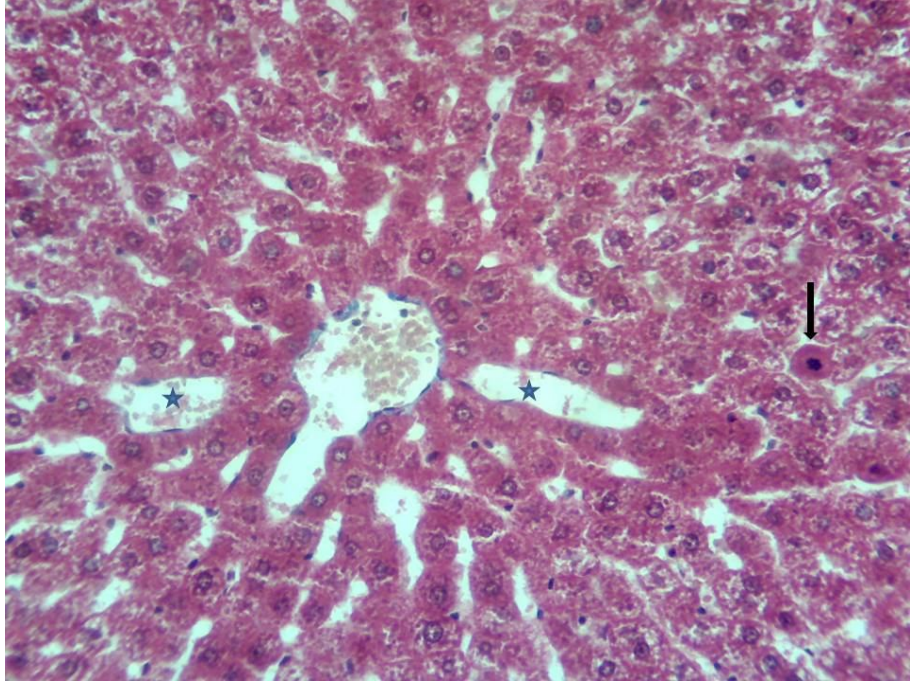
Şekil 14: Grup II. TCE uygulanan grupta vena sentralis etrafındaki hepatositlerde yaygın HSP 70 ekspresyonu (yıldız). DAB X 200.

3 hafta süresince 1000 mg/kg/gün dozunda TCE ile birlikte 50 mg/kg/gün dozunda thymoquinone (TQ) uygulanan Grup III'e ait karaciğer kesitlerinde; sinüzoidal dilatasyon ve konjesyonun devam ettiği, Grup II'ye göre hepatositlerin glikojen içeriğinin az da olsa belirgin olduğu gözlemlendi. Hepatosit çekirdeklerinin çaplarındaki farklılıklar, piknotik çekirdekli hepatositler dikkat çekici idi. Hepatositlerin ışınal dizilimi Grup II'ye göre daha düzenli olarak ayırt edildi. Bu gruba ait doku kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlanmadı. (Şekil 15-17).

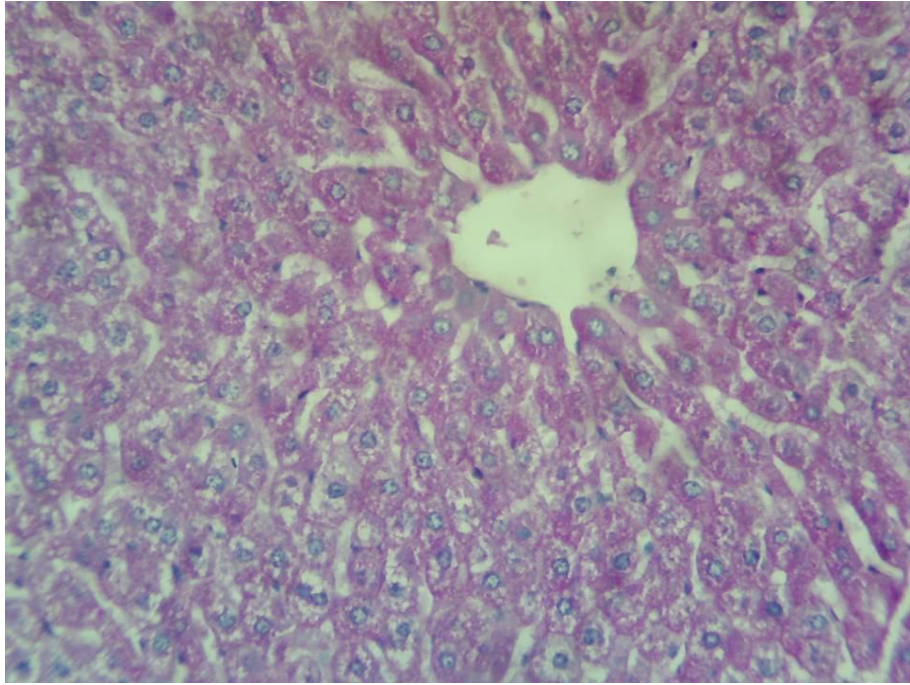
Grup III'e ait karaciğer dokularının HSP 70 immün reaktivitesi Grup II'ye göre belirgin bir azalma göstermekteydi (Şekil 18-20).



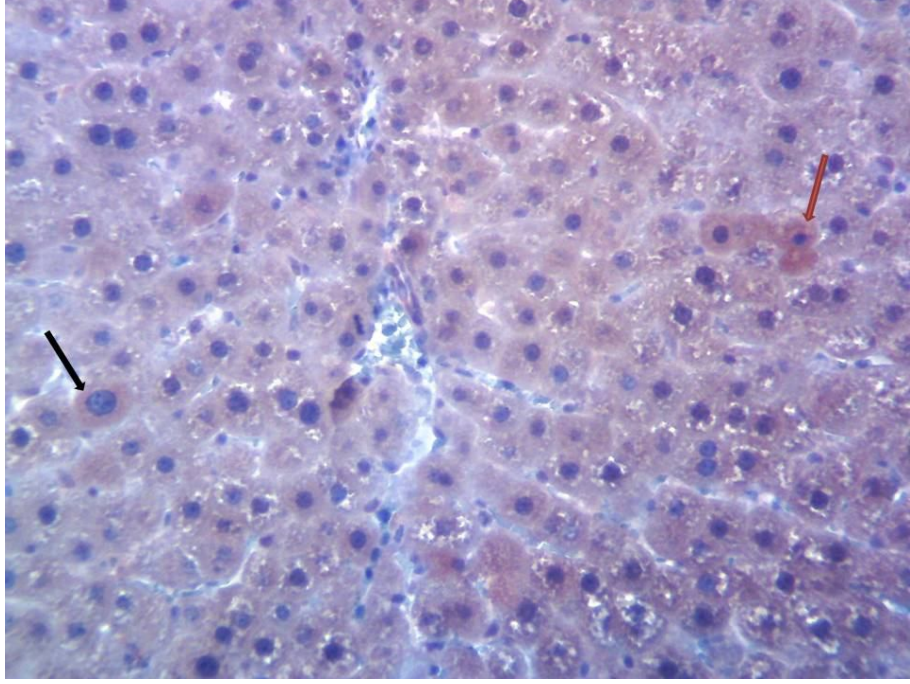
Şekil 15: Grup III: TCE ile birlikte TQ uygulanan grupta sinüzoidal dilatasyonun ve konjesyonun devam ettiği ayırt edilmekte (yıldız). Hematoksilen Eozin X 200.



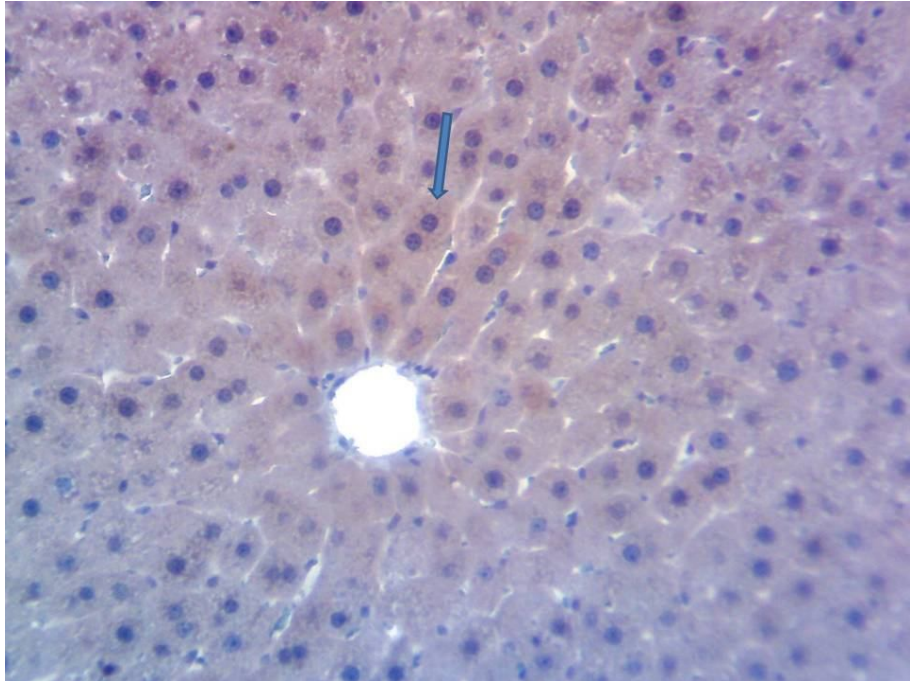
Şekil 16: Grup III. TCE ile birlikte TQ uygulanan grupta; vasküler konjesyon, sinüzoidal dilatasyon (yıldız) ve heterokromatik çekirdekli hepatosit (ok) dikkati çekmekte. Masson'un üçlü boyası X 200.



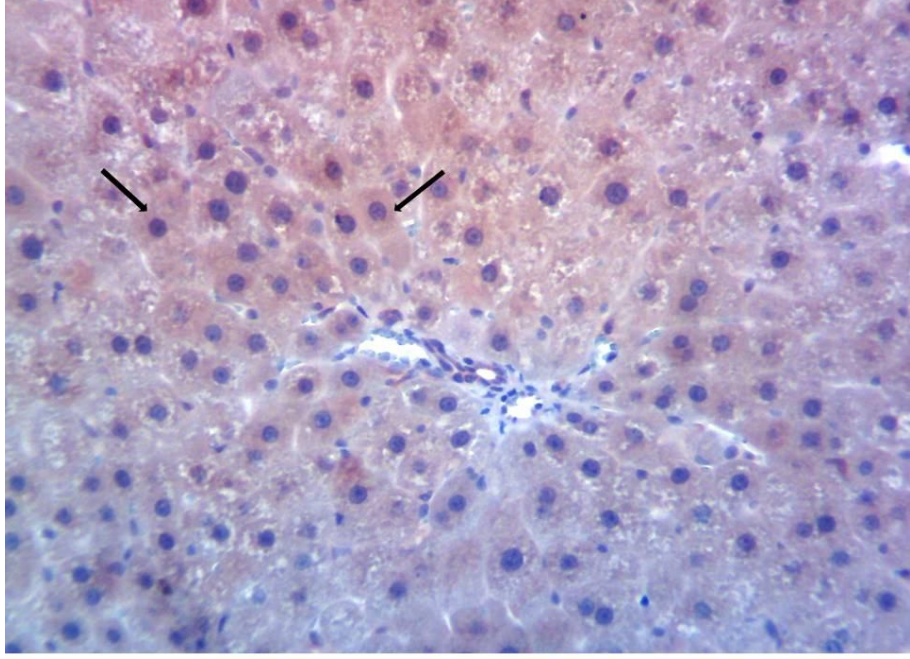
Şekil 17: Grup III. TCE ile birlikte koruyucu amaçlı TQ uygulanan grupta hepatositlerin az miktarda glikojen içerdiği ayırt edilmekte. Periodic Acid Schiff X 200.



Şekil 18: Grup III. TCE ile birlikte koruyucu amaçla TQ verilmesi sonucu; HSP 70 immün reaktivitesi gösteren hepatositlerin azaldığı belirgin olarak gözlenmekle birlikte piknotik çekirdekli (kırmızı ok) ve oldukça iri çekirdekli hepatositler (siyah ok) dikkati çekmekte. DAB X 200.



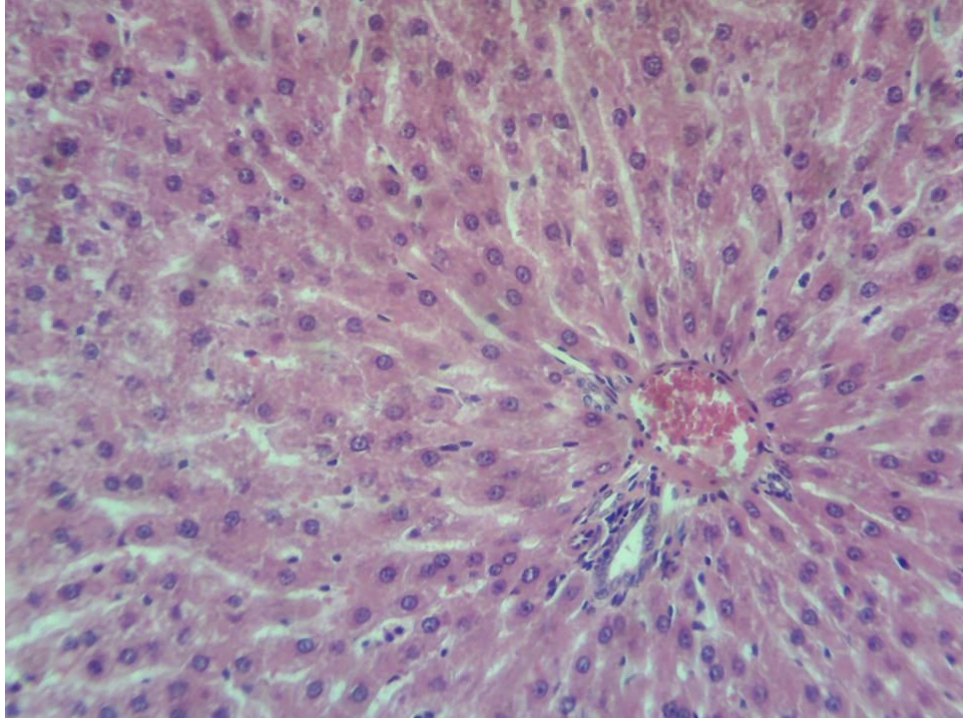
Şekil: 19: Grup III: TCE ile birlikte TQ uygulanan grupta Zon 3'te yer alan az sayıdaki hepatositin HSP 70 immün reaktivitesi (ok) gösterdiği belirgin olarak gözlenmekte. DAB X 200.



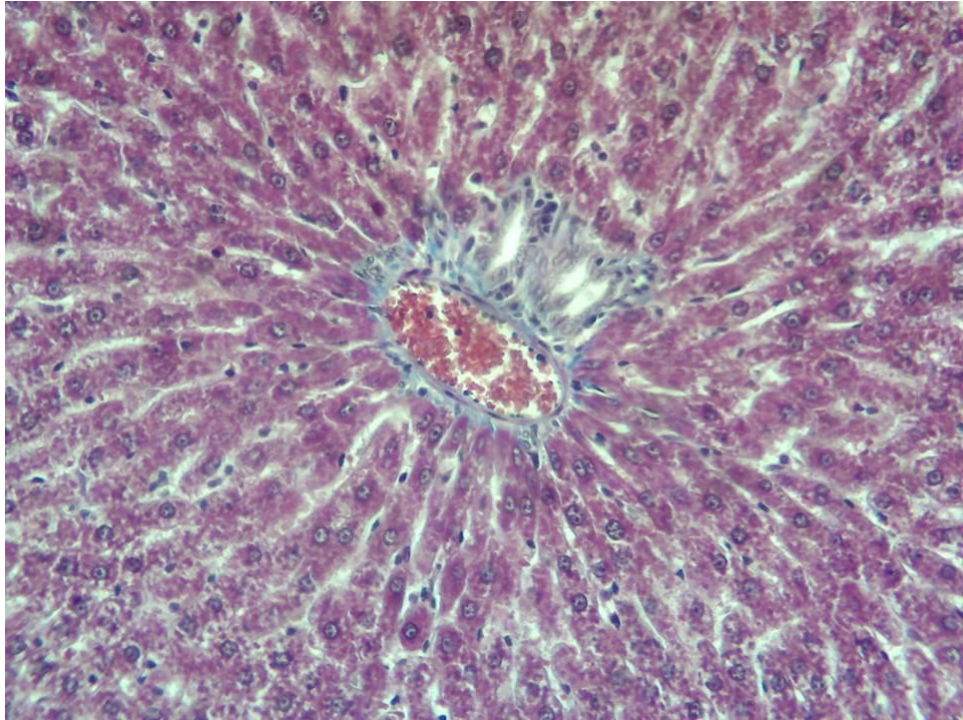
Şekil 20: Grup III. TCE ile birlikte TQ verilen grupta periportal bölgedeki hepatositlerin HSP 70 immün reaktivitesi (ok). DAB X 200.

3 hafta süresince, 50 mg/kg/gün dozda sadece TQ uygulanan Grup IV'te ise hepatositler, hepatositlerin ışınsal dizilimi, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler, portal alan ve vena sentralis kontrol grubuna benzer yapıda ayırt edildi (Şekil 21-23).

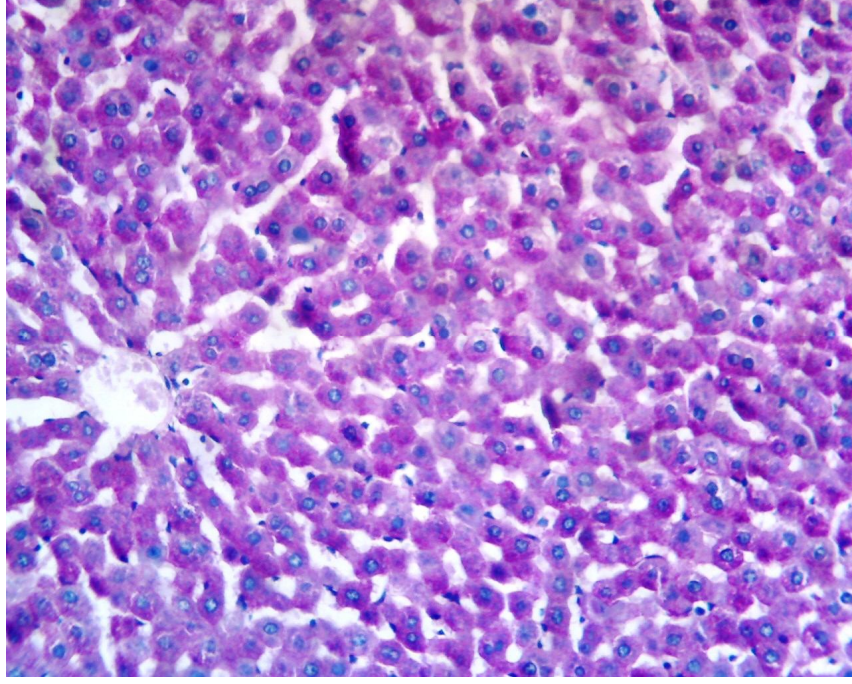
Grup IV'e ait karaciğer dokularının HSP 70 immün reaktivitesi ise Grup II ve Grup III'e göre oldukça az sayıdaki hepatositte tespit edildi. İmmün reaktivitenin yaygınlığı daha çok kontrol grubuna benzemektedir (Şekil 24-25).



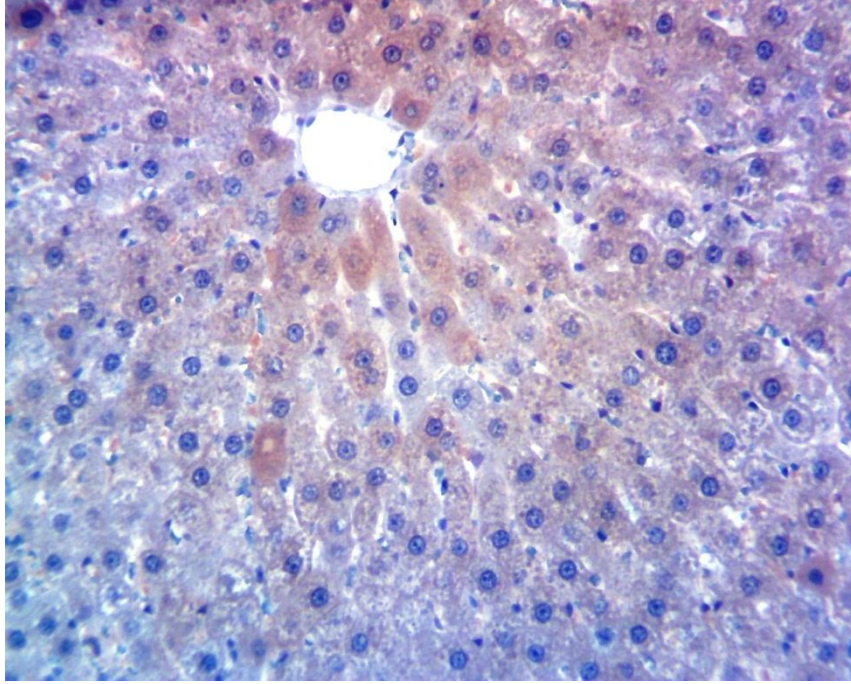
Şekil 21: Grup IV. Sadece TQ uygulanan deneklere ait karaciğer dokusunda portal alan, Zon 1'de yer alan hepatositler, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler normal yapıda gözlenmekte. Hematoksilen Eozin X 200.



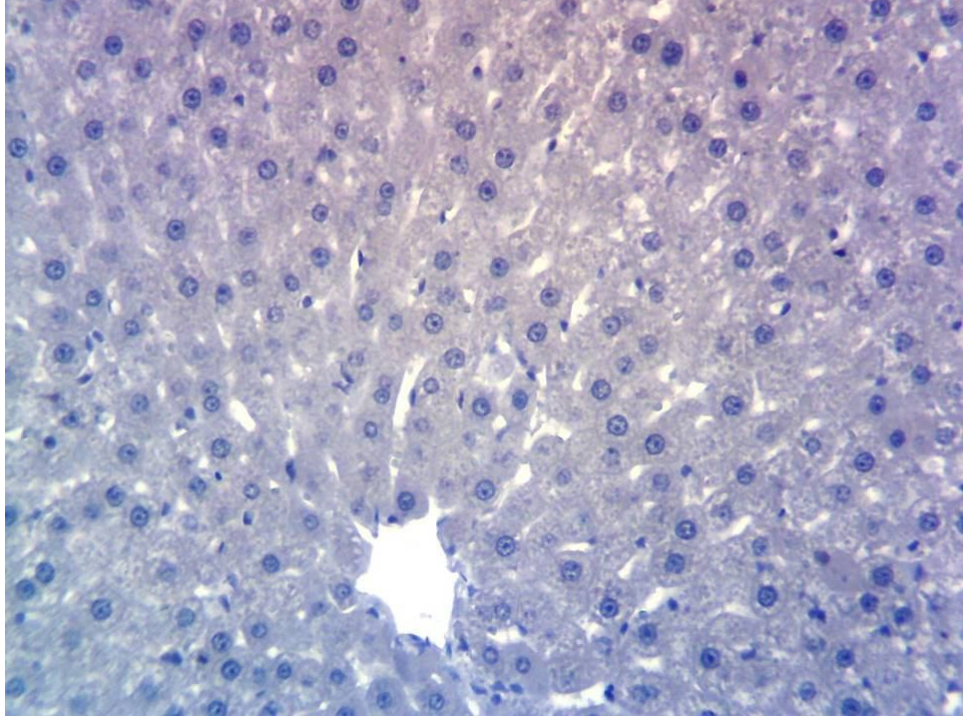
Şekil 22: Grup IV. Sadece TQ uygulanan grupta portal alan, Zon 1'deki hepatositler, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler normal yapıda ayırt edilmekte. Masson'un üçlü boyası X 200.



Şekil 23: Grup IV. Sadece TQ uygulanan grupta hepatositlerin glikojen içeriği belirgin olarak izlenmekte. Periodic Acid Schiff X 200.



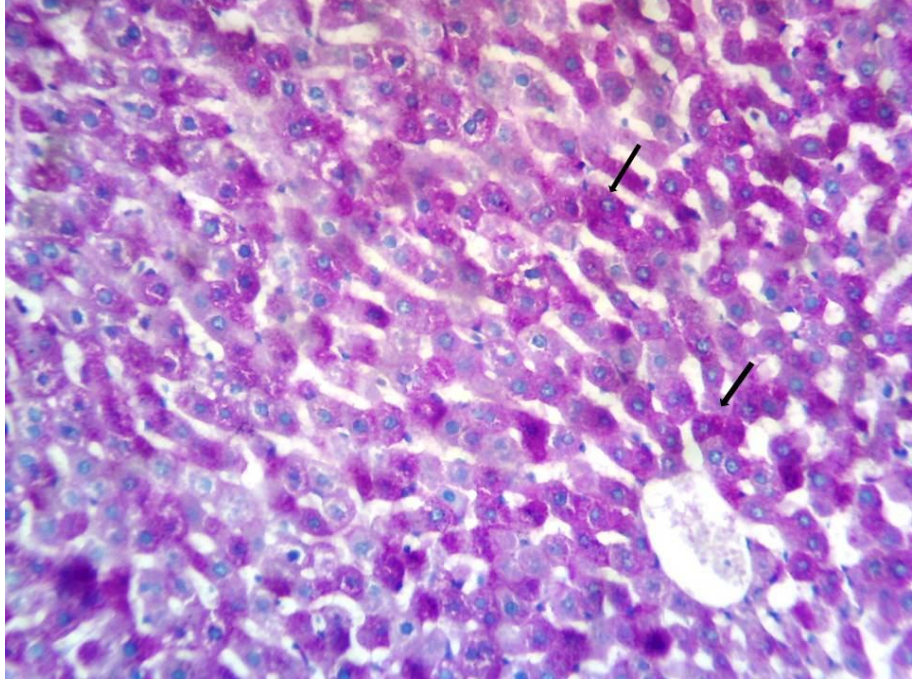
Şekil 24: Grup IV. Sadece TQ uygulanan grupta daha az sayıda HSP 70 ekspresyonu gösteren hepatositler. DAB X 200.



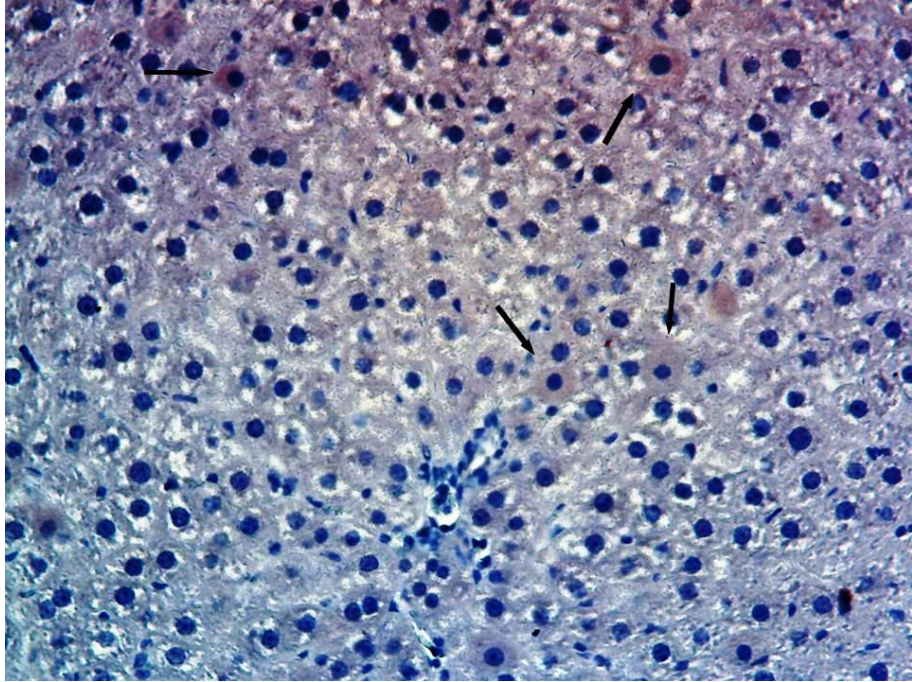
Şekil 25: Grup IV. Sadece TQ uygulanan gruba ait negatif kontrol kesiti. DAB X 200.

3 hafta süresince, 5 ml/kg/gün dozunda DMSO alan Grup V'e ait karaciğer dokularında; hepatositler, hepatositlerin ışınal dizilimi, sinüzoidler ve sinüzoidal hücreler, portal alan ve vena sentralis kontrol grubuna benzer yapıda ayırt edildi (Şekil 26).

Grup V'e ait karaciğer dokularındaki HSP 70 immün reaktivitesinin yaygınlığı kontrol grubuyla benzerlik göstermektedir (Şekil 27).



Şekil 26: Grup V. Sadece DMSO verilen deneklerin hepatositlerinde belirgin glikojen içeriği dikkati çekmekte. Periodic Acid Schiff X 200.



Şekil 27: Grup V. Sadece DMSO verilen gruba ait kesitte az sayıdaki hepatositin HSP 70 immünreaktivitesi gösterdiği ayırt edilmekte. DAB X 200.

5.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Gruplar arasındaki fark, Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) kullanılarak belirlendi. Bu amaçla SPSS 16.0 paket programı kullanıldı. Her grubun diğer gruplarla arasındaki farkı saptayabilmek için Posthoc Tukey testi uygulandı. $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Tablo 2: Gruplar arasındaki farkın ANOVA testi sonuçları

	Sum of squares	df	mean square	F	Sig.
Gruplar Arası	2195,933	4	548,858	21,856	0,00
Grup içi	1381,167	55	25,112		
Total	3576,600	59			

Tablo 3: Gruplara ait verilerin homojenite testi.

Gruplar	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
TQ Grubu	12	4,42		
Kontrol Grubu	12	4,67		
DMSO	12	4,75		
TCE+TQ Grubu	12		13,33	
TCE Grubu	12			19,33
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tablo 4: Grupların kendi aralarındaki farkın Posthoc Tukey testi sonuçları

gruplar		Ortalama Fark	Standart Hata	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Grubu	TCE Grubu	-14,667	2,046	,000	-20,44	-8,90
	TCE+TQ Grubu	-8,667	2,046	,001	-14,44	-2,90
	TQ Grubu	,250	2,046	1,000	-5,52	6,02
	DMSO	-,083	2,046	1,000	-5,85	5,69
TCE Grubu	Kontrol Grubu	14,667	2,046	,000	8,90	20,44
	TCE+TQ Grubu	6,000	2,046	,038	,23	11,77
	TQ Grubu	14,917	2,046	,000	9,15	20,69
	DMSO	14,583	2,046	,000	8,81	20,35
TCE+TQ Grubu	Kontrol Grubu	8,667	2,046	,001	2,90	14,44
	TCE Grubu	-6,000	2,046	,038	-11,77	-,23
	TQ Grubu	8,917	2,046	,001	3,15	14,69
	DMSO	8,583	2,046	,001	2,81	14,35
TQ Grubu	Kontrol Grubu	-,250	2,046	1,000	-6,02	5,52
	TCE Grubu	-14,917	2,046	,000	-20,69	-9,15
	TCE+TQ Grubu	-8,917	2,046	,001	-14,69	-3,15
	DMSO	-,333	2,046	1,000	-6,10	5,44
DMSO	Kontrol Grubu	,083	2,046	1,000	-5,69	5,85
	TCE Grubu	-14,583	2,046	,000	-20,35	-8,81
	TCE+TQ Grubu	-8,583	2,046	,001	-14,35	-2,81
	TQ Grubu	,333	2,046	1,000	-5,44	6,10

- $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlıdır.

6. TARTIŞMA

Trichloroethylene (TCE)'e primer olarak maruz kalmak; TCE ile kontamine olmuş içme suyunu içmek veya buharını solumak şeklinde olur (52). Sadece 1993 yılında 30.2 milyon poundluk TCE'nin, atmosfere salındığı bildirilmektedir (53). TCE'nin insan üzerindeki karsinojen etkisini araştıran yayınlanmış makalelerde, işçi sağlığına yönelik 20'den fazla kohort araştırmasında, 40 vaka kontrol çalışmasında TCE toksisitesi hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir (54). Ergin deney hayvanlarında, TCE inhalasyonunun en yaygın etkileri; nörotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisitedir (55,56). Deney hayvanlarında, kimyasal yolla genetik mutasyon ile oluşturulmuş tümörlerde, TCE veya TCE'nin alt metabolitlerinin etkisi yokmuş gibi rapor edilmiştir. Bunun nedeninin ise TCE'nin genotoksisiteye yol açabilmesi için çok yüksek dozda olması gerektiği şeklinde ifade edilmiştir (57). Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda, TCE inhalasyonuna bağlı olarak; lenfoma, karaciğer ve akciğer tümörleri saptanmıştır. Mesleki olarak TCE'ye maruz kalan insanlarda; non-Hodgkin lenfoma, Hodgkin lenfoma, multipl miyelom olduğu kadar karaciğer, böbrek ve serviks kanserlerinin insidansının da arttığı rapor edilmiştir (54).

Axelson ve ark. 1994'te yaptıkları bir çalışmada, 1955'ten 1987 yılına kadar mesleki olarak TCE inhalasyonuna maruz kalan 1,424 erkek ve 249 kadında TCE'nin mesleki maruziyetinin, inhalasyon yoluyla ortalama olarak 20 ppm olduğunda insanlar için karsinojen olduğuna dair bir kanıt bulamamışlardır. Ortalama kanser oranı beklediklerinden daha düşük oranda bulunmuştur (58).

Ertle ve ark. TCE'ye maruz kalmanın neden olduğu; huzursuzluk, genel halsizlik, görme sıkıntıları ve nörolojik anomaliler gibi rahatsızlıklarla karakterize

"psiko-organik sendromu" tanımlamışlardır (59). Havadaki TCE partikül oranı yaklaşık 100 ppm olduğunda, kişilerde, nörolojik toksisitenin bulguları olan; baş ağrısına, uyku haline, yorgunluğa veya uyuşukluğa neden olduğunu bildirmişlerdir (55,56). 1-4 saat süreyle TCE'ye maruz kalan gönüllü insan deneklerinde baş ağrısının 27 ppm'de ve uyku halinin ise 81 ppm'de olduğu rapor edilmiştir (60).

TCE inhale edildiğinde kan yoluyla dokulara dağılır, metabolize olur ve üriner yolla atılır (61). TCE'nin toksik etkileri büyük ölçüde; trichloroacetaldehyde, chloral hydrate, dichloroacetate, trichloroacetate de içeren alt metabolitlerine bağlıdır (55). TCE maruziyetinin en yaygın sonuçlarından olan böbrek ve karaciğer kanserleri TCE'nin alt metabolitlerinin etkisiyle oluşmaktadır. Vücutta TCE'nin 2 major metabolizasyon yolağı vardır: sitokrom p450 ile oksidasyon ve glutatyon ile konjugasyon. TCE metabolizmasının ikinci ana yolu aminoasit peptidini TCE'ye bağlayan glutatyon konjugasyonudur. Bu durum üriner atılım için önceliklidir. Ancak, bu konjugasyon sonucu böbreklerde meydana gelen alt metabolitleri böbrek kanseri ile ilişkili bulunmuştur. P450 yolağı, glutatyon konjugasyon yolağından daha yüksek aktiviteye ve afiniteye sahiptir (11).

Alkol bağımlılığı ve sigara içmek gibi davranışlar, TCE maruziyetinin sebep olabileceği kanser riskini indükleyebilir. Alkol metabolizması, TCE'nin alt metaboliti olan ve kanser ile ilişkili olduğu düşünülen trikloroetanol oluşumunu arttırabilir. Bu nedenle, özellikle, alkollü içecekler tüketen kişiler, TCE hassasiyeti yüksek olan bir grup oluşturmaktadırlar (55). Sigara içmek TCE maruziyetinin genotoksik etkilerinin riskini arttırmaktadır (62).

500-1500 mg/kg dozda, 10 gün boyunca oral gavaj yoluyla TCE verilen farelerin karaciğerlerinde, kontrol grubuna oranla, organ ağırlığının % 170 arttığı, DNA konsantrasyonunun % 66 azaldığı, DNA sentezinin ise % 500 arttığı saptanmıştır. DNA sentezi esnasında, TCE'nin bozulmuş DNA sentezine yol açtığına yönelik bir etkisi olduğunu kanıtlayan bulguya rastlanmamıştır. Nekroz bulgusu bulunmadığından, farelerde, artmış DNA sentezinin rejeneratif hiperplaziden kaynaklandığı yönünde bir kanıt rastlanmamıştır. TCE alımına bağlı karaciğer büyümesi; sıçanlarda, hücre hipertrofisine, farelerde ise hem hipertrofiye hem de hücre hiperplazisine bağlı olarak meydana geldiği saptanmıştır. Bir diğer önemli gözlem ise, farelerde, TCE ile oluşturulan peroksizomal enzim aktiviteleri; kontrol grubuna göre katalaz enziminde % 147 ve siyanit duyarlı palmitol-CoA oksidasyonunda % 786 oranında artmaya neden olmuştur. Ayrıca, TCE alan farelerde, peroksizom hacminin dansitesinde kontrol grubuna oranla % 110'dan fazla bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, sıçan ve fare türleri arasında görülen TCE'ye bağlı hepatokarsinogeneze farklılıklarının, muhtemelen, peroksizom proliferasyonunun ve hücre çoğalmasının türler arasındaki farktan kaynaklandığını düşündürmektedir (63).

Karaciğerde, DNA'nın tek zincirinde kırılmalara neden olan TCE ve bağlı alt metabolitlerinin, alkaline unwinding assay tekniği kullanılarak in vivo şartlarda B6C3F1 fare ve Sprague-Dawley sıçan türlerinde değerlendirilen bir çalışmanın sonuçlarında; sıçanlarda TCE dozunun 22-30 mmol/ kg olmasının DNA zincirinin kırılmasına yol açması için yeterli olduğu gözlenmiştir. Aynı deney, bir başka seri olarak, TCE metabolitleri ile muamele edilerek tekrar yapılmış ve trikloroasetat, dikloroasetat ile oluşmuş karaciğer DNA'sındaki zincir bozulmalarının, fare ve

sıçanlarda, doza bağımlı olduğu saptanmıştır. DNA zincirinde bozulmalara yol açan TCE dozunun, serum aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimlerinin düzeyleri ölçülerek saptanabilen hepatotoksik etkilerinin oluşması için yeterli olmadığı gözlemlenmiştir (64).

Sıçanlarda, 1ml/kg dozunda TCE verilmesini takip eden 24 saatin sonunda, karaciğerin histolojik bulguları normal olarak değerlendirilmiştir. 64 µl/kg dozunda karbon tetra klorid uygulanmasının ardından bir kaç hepatositin nekroza uğradığının görülmesi normal olarak değerlendirilmiştir. Fakat her iki çözücünün birden verildiği grupta, hepatosit lobüllerinde geniş alanlarda nekroz saptanmıştır. İn vitro şartlarda, TCE, lipid peroksidasyonunu başlatmaz fakat karbon tetra klorid ile başlatılan lipid peroksidasyonunda indükleyici etkisinin olduğu görülmüştür. Karbon tetra klorid uygulanmasının ardından 5 saat sonra TCE uygulanması, karbon tetra klorid ile oluşturulmuş in vitro lipid peroksidasyonunu ve karbon tetra kloridin yol açtığı hepatotoksisite etkisini güçlendirerek arttırmasına neden olmuştur. Karbon tetra kloridin 5 saatten daha önce uygulandığı durumlarda lipid peroksidasyonunun oluşmasında ve TCE'nin karbon tetra kloridin, hepatotoksisite oluşturabilme potansiyelini arttırmasında yetersiz olduğu görülmüştür. Bu durum, karbon tetra kloridin muhtemel lipid peroksidasyonunu arttırmadaki ve hepatotoksisite oluşturma potansiyelinin TCE tarafından tetiklendiği yönünde sonuca varılmasına neden olmuştur (65).

TCE'nin; 0, 500, 1000 ve 2000 mg/kg/gün dozunda günde bir kez erkek farelere, 28 gün boyunca haftanın 5 günü verilmesinin ardından bulunan veriler; karaciğer organ ağırlığında artış, hepatositlerde nekroz ve dejenerasyon, karakteristik hepatik sinüzoidlerinin endotelial hücrelerinde önemli ölçüde artmış

proliferasyon olarak saptanmıştır. Günde 2000 mg/kg/gün dozunda TCE alan farelerin böbrek dokularında; organ ağırlığında artış, glomerüler nefroz, tübüler epitelyumda dejenerasyon ve dökülme ve glomerulilerde karakteristik amiloid birikimi gözlemlendiği bildirilmektedir. Bu değişiklikler, sıklıkla, total proteinde anlamlı artış ve asit fosfotaz ve asit katalaz enzimlerinin aktivitelerinin artmasıyla beraber delta aminolevulinik asit dehidratazın (delta-ALAD) azalması ile TCE toksisitesinin hedef organları olan karaciğer ve böbrek hassasiyetini oluşturur. Hematolojik çalışmalar, TCE'ye maruz kalan farelerde, alyuvar sayısındaki anlamlı artış ile akyuvar sayısında azalmayla beraber; istatistiksel olarak bir farklılık saptanamayan; hemoglobin, üre nitrojen, kreatinin ve ürik asit değerlerini göstermektedir. Hematolojik değişikliklerden sorumlu olan kemik iliğinde, TCE'ye maruz kalan farelerde, doza bağlı olarak değişen, hücre dansitesindeki yükseliş ve Delta-ALAD aktivitesindeki anlamlı düşüşle paralel olarak, asit fosfotaz aktivitesindeki düşüş gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar; farelerde kısa süreli TCE maruziyetini takip eden erken metabolik, patolojik ve hematolojik tedirginlikler, TCE'nin; kan diskrazisi ve kansere neden olabilen potansiyel kronik etkilerini kanıtlayabildiğini göstermektedir (66).

Biz yaptığımız bu çalışmada 3 hafta süreyle 1000 mg/kg/gün dozda TCE uyguladığımız deneklerin karaciğer dokularında; vasküler konjesyon, sinüzoidal dilatasyon, yer yer nekroze alanlar, sıklıkla rastlanan mononükleer hücre infiltrasyonu, piknotik çekirdekli hepatositler gözlemledik. Stresin indüklemesiyle ekspresyonunda artış olduğu bilinen HSP 70, yapılan bu çalışmada TCE uygulamasına bağlı olarak da belirgin bir artış gösterdi. Bu artışın TCE'nin toksik

etkisinin indüklemesiyle oluşan strese karşı organizmanın, kendini korumaya yönelik bir tepkisi sonucu oluştuğunu düşünmekteyiz.

Salomi ve ark. (1991) *Nigella sativadan* elde edilen ekstraktı, farelerde, topikal olarak uygulamalarının ardından; Grade 2 cilt kanseri oluşumunu inhibe ettiğine yönelik verilere ulaşmışlardır. Aynı çalışmada *Nigella sativanın* intraperitoneal uygulanmasının ardından, farelerde yumuşak doku sarkomu oluşumunu, kontrol grubundaki % 100 kanser oluşumuna karşılık % 33 tedavi alan grup şeklinde, azalttığına yönelik araştırma sonuçlarını yayımladılar (67).

Salomi ve ark. 1992 yılında yaptıkları başka bir çalışmada, *Nigella sativa* tohumlarından elde edilen ekstraktın antitümör etkisini araştırdıkları in vivo çalışmada her fareye günde 2 mg dozunda verdiklerinde malignansi gelişimini tamamen inhibe ettiğini kanıtladılar. (68)

Nigella sativadan elde edilen ekstrakt, Ehrlich Ascites karsinomayı tedavi etmesi için, farelere tek doz (160 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyon uygulanmıştır. Tedavi alan farelerin % 37,5'inde yaşam süresi 1 ay artmış ve % 25'nde ise hayatta kalma oranı 2 ay artmıştır. *Nigella sativa* verilmeyen tüm deney hayvanları 14. güne kadar ölmüştür. Ayrıca uygulanan doz; karaciğer dokusuna ait DNA ve RNA'nın seviyesini arttırdığı gibi; kan glikozu, kolesterol, AST ve ALT, total protein ve albumin seviyelerinde de yükselmeye neden olduğu belirlenmiştir (69).

Bu denli önemli geleneksel kullanımlara sahip olan *N. sativa* üzerinde yapılmış çok sayıda fitokimyasal araştırmalar mevcuttur. Farmakolojik etkilerden daha çok sabit (70, 71, 72) ve uçucu yağ (72, 73) sorumlu olduğu için çalışmalar bu iki etken madde grubu üzerinde yoğunlaşmıştır.

Tohumlarında bulunan sabit yağın özellikle çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin olması nedeniyle antioksidan (74, 19), antiallerjik (19, 75), antiinflamatuvar (76, 19, 75), immünmodülatör (19), antibakteriyel (77, 78, 79), antiviral (19), antitümör (80, 19), antidiyabetik (80, 81, 77), hepatoprotektif (77, 82) etki göstermekte ve kardiyovasküler sistem (80, 83, 84) ve gastrointestinal sistem (80) üzerine olumlu etkileri olduğu rapor edilmektedir.

Biz de yaptığımız bu çalışmada TCE ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerine *Nigella sativana*'nın etken maddesi olan TQ'nun olumlu etkilerini gözlemledik. TCE grubunda tespit ettiğimiz nekroz ve inflamasyon bulgularını koruyucu amaçla TQ uyguladığımız grupta gözlemlemedik. Yine bu grupta TCE grubuna göre glikojen depolarının az da olsa belirginliğini koruduğunu saptadık. TQ'nun bu olumlu etkilerinin antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. TQ uygulaması sonucu, stres şartlarında organizmada düzeyinin arttığı bilinen HSP 70 proteininin ekspresyonundaki azalma, istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu durum tezimizi doğrular nitelikteydi.

Yapılan bu çalışmanın sonucunda, deterjanlar aracılığıyla evimize kadar giren yine boya sanayiinde bu meslek grubunda çalışan insanların oldukça yoğun bir şekilde karşı karşıya kaldığı TCE'ye karşı koruyucu önlemlerin alınmasının gerekliliği ortaya çıktı.

Bu çalışma, TCE ile oluşturulmuş karaciğer hasarı üzerine TQ'un koruyucu etkilerinin belirlenmesi ve HSP 70 ekspresyonundaki değişikliklerin saptanması açısından yapılan ilk çalışma niteliğinde olup yapılacak başka çalışmalar için referans oluşturma potansiyeline sahiptir.

7. KAYNAKLAR

1. Ozan H., Ozan Anatomi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 287-291.
2. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H (Çeviren) Nobel Tıp Kitabevleri, 2009; 218-220
3. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, Temel Histoloji. Aytekin Y (Çeviren) Barış Kitabevi, 1995; 307-319
4. Ovalle WK, Nahirney PC, Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S (Çeviren) Güneş Tıp Kitabevleri, 2009; 312-322.
5. Batman F, Aydınlı M, Sayek İ. Karaciğer Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi. Temel Cerrahi. Güneş Tıp Kitabevleri, 2004;1295-1301.
6. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp19.pdf>. Erişim tarihi: 02.09.2012
7. Wu KL, Berger T. Trichloroethylene metabolism in the rat ovary reduces oocyte fertilizability. Chem. Biol Interact. 2007; 17; 20-30
8. Cunli H, Liping J, Chengyan G, et al. Possible involvement of oxidative stress in trichloroethylene induced genotoxicity in human HepG2 Cells. Mutat Res. 2008; 652:88-94
9. Bradford BU, Lock EF, Kosyk O, et al. Interstrain differences in the liver effects of trichloroethylene in a mutistrain panel of inbred mice. Toxicol Sci, 2011; 120; 206-217
10. Ho YS, Ma HY, Chang HY, et al. Lipid peroxidation and cell death mechanisms in rats and human cells induced by chloral hydrate. Food Chem Toxicol. 2003; 41: 621-629.
11. Lash LH, Fisher JW, Lipscomb JC, Parker JC: Metabolism of Trichloroethylene. Environ Health Perspect. 2000; 108: 177-200.
12. <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts19.pdf>. Erişim tarihi: 02.09.2011
13. Jung HG, Kim HH, Song BG, Kim EJ. Trichloroethylene hypersensitivity syndrome: a disease of fatal outcome. Yonsei Med J, 2012; 53:231-235.
14. International Agency for Research On Cancer (IARC), Dry cleaning, some chlorinated solvents, and other industrial chemicals, IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1995; 63:75-158
15. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/274666?lang=en®ion=TR>. Erişim tarihi: 10.06.2012
16. <http://www.sigmaaldrich.com/large/structureimages/02/mfcd00001602.png>. Erişim tarihi: 12.07.2012
17. Kanter M, Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure. Neurochem Res. 2008; 33:2241–2249.
18. Schleicher P, Saleh M. Black Cumin: The Magical Egyptian Herb for Allergies. Asthma and Immun disorders. 1998: 18-35
19. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa seed. International Immunopharmacology. 2005; 5:1749-70

20. Mahfouz M, El-dakhakhny M. Isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* seeds. *J. Pharmacol Sci.* 1960;1-9
21. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC et al. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology.* 2006; 6:1135-1142
22. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett.* 1998; 95: 23-29
23. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci.* 2009; 85: 830-834
24. Idris-Khodja N, Schini-Kerth V. Thymoquinone improves aging-related endothelial dysfunction in the rat mesenteric artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2012; 385: 749-758
25. El-Alfy TS., El-Fatary HM, Toama MA. Isolation and structure assignment of an anti-microbial principle from the volatile oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Pharmazie.* 1975; 30: 109-111.
26. Aboutabl ER, El-Azzouy AA, Hammer-Schmidt FJ. Aroma volatiles of *Nigella sativa* L. Seeds. *Proceedings of the 16th International Symposium on essential oils.* Berlin: DeGruyer, 1986; 49-55.
27. Nagi, MN, Alam K, Badary OA, Al-Sawaf HA, Al-Bekairy AM. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via antioxidant mechanism. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1999; 47, 153–159.
28. Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol.* 1999; 67: 135–142.
29. Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, et al. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997; 75: 1356–1361.
30. Al-Gharably M, Badary OA, Nagi MN, et al. Protective effect of thymoquinone against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Res Comm Pharmacol Toxicol.* 1997, 2:41–50.
31. Al-Shabanah OA, Badary OA, Nagi MN, et al. Thymoquinone protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity. *J Experimental Clin Cancer Res.* 1998, 17: 193–98.
32. Chakravarty N. Inhibition of histamine release from mast cells by Nigellone. *Annals of Allergy.* 1993, 70: 237–242
33. Kanter M, Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Industrial Health,* 2010; 5:387-395.
34. Arslan OS, Gelir E, Armutçu F ve ark. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nut Res.* 2005; 25: 673-680.
35. Randhawa MA and Alghamdi MS. Anticancer Activity of *Nigella Sativa* (Black Seed)- a Review. *Am J Chinese Med.* 2011; 6:1075-1091.

36. Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KHB. Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol.* 2012; 83: 443-451.
37. Harzallah HJ, Grayaa R, Kharoubi W et al. Thymoquinone, the *Nigella sativa* bioactive compound, prevents circulatory oxidative stress caused by 1,2-Dimethylhydrazine in erythrocyte during colon postinitiation carcinogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume. 2012; doi:10.1155/2012/854065.
38. Zafeer MF, Waseem M, Chaudhary S, Parvez S. Cadmium-induced hepatotoxicity and its abrogation by thymoquinone. *J Biochem Mol Toxicol.* 2012; 26:199-205.
39. Lupidi G, Scire A, Camaioni E, et al; Thymoquinone, a potential therapeutica agent of *Nigella sativa*, binds to site 1 of human serum albumin. *Phytomed.* 2010; 17:714-720.
40. Weidong Q, Dalian D , Richard JS. Cytotoxic effects of dimethyl sulphoxide (DMSO) on cochlear organotypic cultures. *Hearing Res.* 2008; 236:52–60.
41. Thushara Karunasekara, Colin F. Poole. Models for liquid–liquid partition in the system dimethyl sulfoxide–organic solvent and their use for estimating descriptors for organic compounds. *J Chromatography A.* 2011; 1218: 4525–4536.
42. Aşkar TK., Ergün N, Turunç V. Isı şok proteinler ve fizyolojik rolleri. *Kafkas Üni. Vet. Fak. Derg.* 2007; 13: 109-114.
43. Rylander MN, Feng Y, Bass J, Diller KR. Thermally induced injury and heat –shock protein expression in cells and tissues. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1066:222-242.
44. Shin E, Ryu HS, Kim SH, et al. The Clinicopathological significiance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carsinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2011;18:544-50.
45. Glover JR, Lindquist S, HSP 104, HSP 70 and HSP 40: a novel chaperone system that rescues previously aggregated proteins. *Cell* 1998; 94:73-82.
46. Mayer MP and Bukau B. Review. HSP 70 Chaperones: Celluler functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sci.* 2005; 62: 670-684.
47. Young JC. Mechanisms of the HSP 70 chaperone system. *Biochem. Cell Biol.* 2010; 88:291-300.
48. Milani V, Noessner E, Ghose S, ve ark. Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. *Int J Hyperthermia.* 2002;18:563-575.
49. Bukau B, Horwich AL, The HSP 70 and HSP 60 chaperone machines. *Cell* 1998; 92:351-366.
50. Kasar T. Demir eksikliği anemisi ve tedavisinin Ghrelin Obestatin ve ısı şok proteini 70 üzerine etkisi. Uzmanlık tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
51. Khalil AA, Kabapy NF, Deraz SF, Smith C. Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets? *Biochim Biophys Acta.* 2011;1816:89-104.
52. Wu C, Schaum J. Exposure assessment of trichloroethylene. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 359-363.

53. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=173&tid=30>. Erişim tarihi: 01.07.2012.
54. Watenberg D, Reyner D and Scott SC. Trichloroethylene and cancer: epidemiological evidence. *Environ Health Perspect.* 2000; 108: 161-176.
55. Barton, HA, Flemming CD and Lipscomb JC. Evaluating human variability in chemical risk assessment: hazard identification and dose-response assessment for noncancer oral toxicity to trichloroethylene. *Toxicology*,1996; 111: 271-287.
56. Barton HA and Clewell HJ. Evaluating Noncancer effects of Trichloroethylene: dosimetry, mode of action and risk assessment. *Environ Health Perspect.* 2000; 108: 323-334.
57. Moore MM and Harrington-Brock K. Mutagenicity of trichloroethylene and its metabolites: implications for the risk assessment of trichloroethylene. *Environ Health Perspect.* 2000;108: 215-223.
58. Axelson O, Anderson K. et al. Updated and expanded Swedish cohort study on trichloroethylene and cancer risk. *J Occupational Med.* 1994; 36: 556-562.
59. Ertle T, Henschler D, Muller G and Spassowski M. Metabolism of trichloroethylene in man I. The significance of trichloroethanol in long-term exposure conditions. *Archeological Toxicol.* 1972; 29:171-188.
60. Nomiyama K, Nomiyama H. Dose-response relationship for trichloroethylene in man. *International Arch Occupational and Environ Health.* 1977; 39: 237-248.
61. Dobrev ID, Andersen ME and Yang RSH. In silico toxicology: simulating interaction thresholds for human exposure to mixtures of trichloroethylene, tetrachloroethylene and 1,1,1-trichloroethane. *Environ Health Perspect.* 2002; 110: 1031-1039.
62. Seiji K, Jin C, Watanabe T, et al. Sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of workers exposed to benzene, trichloroethylene, or tetrachloroethylene, with references to smoking habits. *International Arch Occupational and Environ Health.* 1990; 62:171-176.
63. Elcombe CR, Rose MS, Pratt IS. Biochemical, histological, and ultrastructural changes in rat and mouse liver following the administration of trichloroethylene: Possible relevance to species differences in hepatocarcinogenicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985; 79: 365–376.
64. Nelson MA, Bull RJ. Induction of strand breaks in DNA by trichloroethylene and metabolites in rat and mouse liver *in vivo*. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1988; 94: 45–54.
65. Pessayre D, Cobert B, Descatoire et al.. Hepatotoxicity of trichloroethylene-carbon tetrachloride mixtures in rats. A possible consequence of the potentiation by trichloroethylene of carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and liver lesions. *Gastroenterology.* 1982; 83:761-72.
66. Goel SK, Rao GS, Pandya KP, Shanker R. Trichloroethylene toxicity in mice: a biochemical, hematological and pathological assessment. *Indian J Exp Biol.* 1992;30: 402-6.
67. Salomi N, Nair S and Panikkar K. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and Saffron (*Crocus sativas*) on chemical carcinogenesis in mice. *Nutrition and Cancer.* 1991; 16: 67-72.

68. Salomi N, Nair S, Jayawardhanan K, Vorghese C and Panikkar K. Antitumor principles from *Nigella sativa* seeds. *Cancer Lett.* 1992; 63: 41-46.
69. Abdel-Salam I, Abdel-Wahab S, l-Aaser A and El-Merzabani M. Biochemical and cytotoxic effects of *Nigella sativa* L. *The Egyptian J Biochem.* 1992; 12: 348-355.
70. Türker L, Bayrak A. Çörek otu (*Nigella sativa* L.)'nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standart*, 1997; 430: 128-137.
71. Kökdil G, Yılmaz H. Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (Ranunculaceae) in Turkey. *Biochem. Systema. Ecol.* 2005; 33:1203-1209.
72. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli AMR. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *N. sativa* L. from Iran. *Z. Naturforsch.* 2003; 58: 629-631.
73. Wajs A, Bonikowski R, Kalemba D. Composition of essential oil from seeds of *Nigella sativa* L. cultivated in Poland. *Flavour Fragr. J.* 2008; 23:126-132.
74. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res.* 2000; 14:323-328.
75. Kalus U, Pruss A, Bystron J, et al. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother Res.* 2003; 17: 1209– 1214.
76. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* 1995; 61: 33–36.
77. Khan MA. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology.* 1999; 7: 15-35.
78. Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cummin). *J. Ethnopharmacol.* 1991; 34: 275–278.
79. Aboul Ela MA, El-Shaer NS, Ghanem NB. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie.* 1991; 51: 993-994.
80. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res.* 2003; 17: 299– 305.
81. Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cummin (*Nigella sativa* L.): an overview. *Internat J Food Sci Technology.* 2007; 42: 1208–1218.
82. El-Dakhkhny M, Mady NI, Halim MA. *Nigella sativa* L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung.* 2000; 50: 832–836.
83. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, et al. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 79: 23–26.
84. Ibraheim ZZ. Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicinvolunteers. *Saudi Pharmaceutical J.* 2002; 10: 54–59.

8. ÖZGEÇMİŞ

06.06.1985 tarihinde Samsun Vezirköprü'de doğdum. İlk ve ortaöğrenimimi Vezirköprü'de tamamladım. Vezirköprü Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'ni 2002 yılında birincilikle bitirdim. Aynı yıl Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hemşirelik Yüksekokulu'nda lisans eğitimime başladım. Mezuniyetimin ardından, 2007 yılında GATA Çocuk hastalıkları ve Çocuk Cerrahisi Hemşireliği stajı yaptım. Sonrasında ilk görev yerim olan Elazığ Asker Hastanesi'ne Hemşire ünvanıyla atandım. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimine başladım. Halen, Elazığ Asker Hastanesi'nde Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi olarak çalışmaktayım.