



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**ÇÖREK OTUNUN(NİGELLA SATİVA) YAPISI VE
AKCİĞERLER ÜZERİNE İMMÜNOMODÜLATÖR EKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Mustafa GÖZÜOĞLU

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ**

**SAMSUN
2021**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



ÇÖREK OTUNUN (NİGELLA SATİVA) YAPISI VE
AKCİĞERLER ÜZERİNE İMMÜNOMODÜLATÖR EKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Mustafa GÖZÜOĞLU

Danışman

Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

SAMSUN
2021

TEZ KABUL VE ONAYI

Mustafa GÖZÜOĞLU tarafından, **Doç. Dr. Şerife TÛTÛNCÛ** danışmanlığında hazırlanan **ÇÖREK OTUNUN(NİGELLA SATİVA) YAPISI VE AKCİĞERLER ÜZERİNE İMMÜNOMODÛLATÖR EKİSİ** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 5.3.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan (Danışman)	Doç. Dr. Şerife TÛTÛNCÛ		<input checked="" type="checkbox"/>
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD		Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Dr. Öğrt. Üyesi Tuncay İLHAN		<input checked="" type="checkbox"/>
	Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD		Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Dr. Öğrt. Üyesi Tuğrul ERTUĞRUL		<input checked="" type="checkbox"/>
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD		Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY
... / ... / ...
Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım yüksek lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklarda gösterilenlerden oluştuğunu, enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

İmza

05 /03 / 2021

Mustafa GÖZÜOĞLU

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : Çörek Otunun (Nigella Sativa) Yapısı ve Akciğerler Üzerine İmmünomodülatör Etkisi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 19/01/2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 8

Tek kaynak oranı : % 5 çıkmıştır.

İmza

05 /03 / 2021

Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

ÖZET

ÇÖREK OTUNUN(NİGELLA SATİVA) YAPISI VE AKCİĞERLER ÜZERİNDEKİ İMMÜNOMODÜLATÖR ETKİSİ

Mustafa GÖZÜOĞLU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Mart/2020

Danışman: Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

Son zamanlarda bitki antioksidanları, yan etkilerinin az olması ve iyi bir besin takviyesi olmaları nedeni ile oldukça önem kazanmıştır. Timokinon, *Nigellasativa* L. (çörek otu) tohumunun uçucu yağından elde edilen ana aktif fenolik bir bileşik olup yüksek antioksidan özellikleri nedeni ile birçok hastalıkta geleneksel olarak yaygın kullanılmaktadır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda, timokinonun antienflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser gibi birçok faydalı etkilere sahip olabildiği ileri sürülmektedir. Timokinontoksitesitesi üzerine yapılan çalışmalarda, toksik etkileri ancak çok yüksek dozlarında gösterilebilmiştir. Timokinon, bilim dünyasında yüksek biyolojik etkinliği ve düşük sistemik toksitesitesi nedeni ile çok fazla ilgi çekmektedir. Bu nedenle timokinon klasik terapötik ilaçlara alternatif bir madde olabilmektedir. Timokinon büyük olasılıkla birçok moleküler hedefi değiştirmektedir, ancak timokinonun etkileri altında yatan bu moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bu geniş etkilerine rağmen timokinonun çeşitli metabolik yollar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi açısından daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir. Çörek otu (*Nigellasativa*) bitkisi ve yağı asırlar boyunca, Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da; günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da milyonlarca insan tarafından "sağlığı desteklemek için" kullanılmaktadır. Bilimsel araştırmalar sonucunda çörek otu tohumu yapısında bulunan vitaminler, etken maddeler ve önemli yağ asitleri nedeni ile bilim adamları tarafından tüketilmesi tavsiye edilen bir ürün olmuştur. *Nigellasativa*'nın total lenfosit miktarını önemli derecede artırdığı, bu yönüyle hem insanlarda hem de hayvanlarda immunomodülatör bir etkiye sahip olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. Sağlıklı yaşamı destekleme konusunda ön planda tutulan çörek otu tohumu yağının, önemli bir bileşeni olan timokinon'un (TQ) potansiyel tıbbi özellikleri sayesinde şifa kaynağı olarak tercih edilmiştir. Yapılan bilimsel araştırmalarda çörek otu tohumu yapısında bulunan vitaminler, etken maddeler ve elzem yağ asitleri nedeni ile tüketilmesi faydalı olabilecek ürünlerin başında gelmektedir. Bu çalışmada, çörek otunun aktif bileşenlerinden biri olan timokinonun akciğerler üzerindeki immunomodülatör etkisinin kapsamlı değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Çörek otu (*Nigellasativa*) yağı, immunomodülatör, timokinon, immunhistokimya, akciğer

ABSTRACT

STRUCTURE OF BLACK SEED (NIGELLA SATIVA) AND IMMUNOMODULATOR PLANT ON LUNGS

Mustafa GÖZÜOĞLÜ

Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Histology and Embryology, March/2020

Supervisor: Associate Professor Şerife TÛTÛNCÛ

Plant antioxidants have recently gained popularity due to their important role as dietary supplements with minimal side effects. Timokinon, the main active phenolic compound from the volatile oil of *Nigella sativa* L. seeds has been commonly used traditionally for several diseases due its high antioxidant properties. In in vitro and in vivo studies, timokinon has suggested to have many beneficial effects such as antiinşamatory, antimicrobial, and anticancer effects. In the studies on timokinon toxicity, its toxic effects could only be demonstrated at very high doses. Timokinon has attracted noteworthy scientific attention for its high biological activity and low systemic toxicity, which might be a promising alternative to conventional therapeutic drugs. It is likely that timokinon modifies a number of molecular targets; however, the molecular mechanisms underlying the effects of timokinon remain not fully understood. Despite these wide effects, it seems that the further study is needed to better understand the effects of timokinon on various metabolic pathways. *Nigella* (*Nigella sativa*) plants and oil for centuries in Africa, Asia and the Middle East today is by the United States and millions of people in Europe "to promote health" was a plant used and has been a material referenced in terms of health. As a result of scientific research, it was suggested that the seeds of vitamins, active substances and essential fatty acids should be consumed by scientists due to acid. *Nigella sativa* has significantly increased the total lymphocyte amount and has been supported by studies that have an immunomodulatory effect on both humans and animals. Healthy life support issues to the forefront of popular Cumin seed oil, which is an important component of thymoquinone (TQ) has been preferred due to potential medicinal properties as a source of healing. In the scientific researches, seedlings of black seed, vitamins, active substances and essential fatty acids may be useful to be consumed due to the products. In this study, the aim of this study is to evaluate the immunomodulatory effect of thymokinone which is one of the active components of black seed on lungs.

Keywords: *Nigella sativa* oil, immunomodulatory, timokinon, immunohistochemistry, lung

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Şerife TÛTÛNCÛ'ye teşekkür ederim.

Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana yardımda bulunarak yol gösteren değerli hocam Tuğrul ERTUĞRUL'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda desteğini ve bana olan güvenini benden esirgemeyen ve beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, bu hayattaki en büyük şansım olan eşim ve aileme sonsuz teşekkürler.

Mart 2021, SAMSUN

Mustafa Gözüoğlü

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Çörek Otunun Genel Özellikleri	3
2.1.1. Çörek Otunun Yapısı	3
2.1.2. Çörek Otu Tohumunun Geleneksel Kullanımı	4
2.2. Timokinonu Genel Özellikleri	5
2.2.1. Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.2.2. Timokinonun Farmakokinetik Özellikleri.....	5
2.2.3. Timokinonun Moleküler Etki Mekanizmaları	7
2.2.4. Timokinonun Solunum Yolu Hastalıklarına Karşı	7
2.3. İmmün Sistem	7
2.3.1. Spesifik (Edinsel) İmmünite	8
2.3.2. Non-spesifik (Kalıtsal) İmmünite	9
2.3.3. Antijenler	9
2.3.4. İmmün Hücreler	10
2.3.4.1. Farklılaşma Kümeleri.....	10
2.3.4.2. Doku Uygunluk Kompleks Molekülleri	10
2.3.4.3. Monositler, Makrofajlar ve Dentritik Hücreler.....	11
2.3.4.4. T Lenfositler.....	12
2.3.4.5. B Lenfositleri	13
2.3.4.6. Doğal Öldürücü Hücreler.....	13
2.3.5. İmmünoglobulinler.....	14
2.3.6. Sitokinler ve Smmün Yanıt.....	16
2.3.6.1. İnterlökin 1 ve 2	17
2.3.6.2. İnterferonlar	17
2.3.6.3. Tümör Nekroz Faktörü	18
2.3.6.4. Hematopoetik Koloni Uyarıcı Faktörler	19
2.4. Akciğerlerin Histolojisi.....	20
2.4.1. Havayı İleten Borular.....	21
2.4.2. Bronş.....	21
2.4.3. Bronşçuklar.....	22
2.4.4. Respiratorik Doku.....	22
2.5. Timokinonun Akciğerler Üzerindeki Etkisi.....	23
2.5.1. Timokinonun İmmünmodülatör Etkisi.....	24
3. MATERYAL ve METHOD	25
3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları	25

3.2. Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması	26
3.3. Hayvanların Canlı Ağırlık Ölçümü, Organların Alınması, Tespit ve Takip	26
3.4. İmmunohistokimyasal Boyama.....	27
3.4.1. Gereçler.....	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Histolojik Bulgular.....	30
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	38
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ.....	56
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

BCGF-1	:B Hücre Büyüme Faktörü 1
BSF-1	:B Hücre Uyarıcı Faktör 1
BFUM	:Patlama Oluşturan Birim Makrofaj
CD	:Yüzey Farklılaşma Antijenleri
CFU-G	:Koloni Oluşturan Birim Granülosit
GM-CSF	:Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
G-CSF	:Granülosit Koloni Stimulan Faktör
HP	:Hidroksiprolin
IG	:İmmünglobulin
IFN	:İnterferon
LAK	:Lenfokin ile Aktive Edilen Katil Hücre
MCSF	:Makrofaj Koloni Uyarıcı
MHC	:Major Histocompatibility Complex Molecules
NF-Kb	:Nuclear Factor kappa B
NK hücreleri	:Doğal Öldürücü Hücre
OVA	:Ovalbümin
PBMC	:İnsan Periferel Kan Mononükleer Hücreleri
PQ	:Parakuat
TCR	:T Hücre Reseptörü
Tc hücreleri	:Sitotoksik T Hücreleri
TNF	:Tümör Nekrozis Faktör
TQ	:Timokinon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Çörek Otu Tohumu Yağının Aktif Bileşenleri.....	4
Şekil 1.2 NigellaSativa L. Bitkisi ve Tohumu.....	5
Şekil 2.1 Timokinonun Kimyasal Yapısı.....	6
Şekil 3 Kontrol Grubu Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 10'luk Objektif.....	31
Şekil 4 Kontrol Grubu Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 20'lik Objektif.....	31
Şekil 5 1ml/kg (ip) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 10'luk Objektif.....	32
Şekil 6 1ml/kg (ip) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 20'lik Objektif.....	33
Şekil 7 2 ml/kg (ip) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 10'luk Objektif.....	34
Şekil 8 2ml/kg (ip) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 20'lik Objektif.....	34
Şekil 9 10 mg/kg (gavaj)Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 10'luk Objektif.....	35
Şekil 10 10 mg/kg (gavaj) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 20'lik Objektif.....	36
Şekil 11 20 mg/kg (gavaj) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 10'luk Objektif.....	37
Şekil 12 20 mg/kg (gavaj) Timokinon Akciğer Genel Görünüm, Üçlü Boyama x 20'lik Objektif.....	37
Şekil 13 Negatif Kontrol x10'luk Objektif	38
Şekil 14 Kontrol Grubu IL-2 Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	39
Şekil 15 Kontrol Grubu IL-2 Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	40
Şekil 16 1 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	41
Şekil 17 1 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	41
Şekil 18 2 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	42
Şekil 19 2 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	43
Şekil 20 10 mg/kgTimokinon (gavaj) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	44
Şekil 21 10 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	44
Şekil 22 20 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	45
Şekil 23 20 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu IL-2 Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	46
Şekil 24 Kontrol Grubu, IFN Gama Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	47
Şekil 25 Kontrol Grubu, IFN Gama Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	47
Şekil 26 1 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IFN Gama Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	48
Şekil 27 1 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IFN Gama Ekspresyonu x20'lik Objektif.....	49
Şekil 28 2 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IFN Gama Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	50

Şekil 29 2 ml/mg Timokinon (ip) Grubu IFN Gama Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	50
Şekil 30 10 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu,IFN Gama Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	51
Şekil 31 10 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu,IFN Gama Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	52
Şekil 32 20 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu,IFN Gama Ekspresyonu x 10'luk Objektif.....	53
Şekil 33 20 mg/kg Timokinon (gavaj) Grubu,IFN Gama Ekspresyonu x 20'lik Objektif.....	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1 Çörek otunun (blackcuminoil, Nigella sativa) kimyasal bileşimi.....	1
Tablo 2 Çörek otu uçucu yağının kimyasal bileşimi.....	2
Tablo 3 IL-2'nin ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri.....	54
Tablo 4 IFN gama'nın ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri.....	54

1. GİRİŞ

Ranunculaceae familyasına ait *Nigellasativa* (*N. sativa*) Güneybatı Asya, Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'ya özgü yıllık bir bitki olmasına rağmen dünyanın farklı yerlerinde yetiştirilerek kullanılmaktadır. İngilizce'de kara tohum olarak bilinen bu bitki, Arapça'da Habbat al-barakah ve Farsça'da Siah-Daneh gibi farklı folklorik isimler almaktadır. *Sativa* tohumları gıdaları lezzetlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Unani geleneksel tıbbında, *N. sativa*, birçok hastalık için doğal bir çare olarak kabul edilmekteydi (Tembhurne et al., 2011)

Ülkemizde 12 farklı türü yetiştirilen çörek otu çeşitleri ve kimyasal bileşimleri, günümüzde gıdalarda koruyucu olarak kullanılabilir özelliklere sahip doğal kaynaklı maddelerden biridir. Bunlardan *Nigellasativa*, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*'sin tohumları halk hekimliğinin yanı sıra baharat olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çörek otu ülkemizde yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur, Konya yörelerinde üretilmektedir. Ülkemizde tarımı yapılan ve ticarete konu olan tek tür *Nigella sativa*'dır (Kar ve ark., 2007).

Çörek otunun kimyasal bileşimi; bitkinin hasad mevsimine, çeşidine, yetiştirildiği iklim ve bölgeye göre farklılık göstermektedir (Al-Jassir, 1992; Sultan et al., 2009). Shah ve Kasturi, (2003)'ye göre çörek otunun kimyasal bileşimi Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çörek otunun (blackcuminoil, *Nigellasativa*) kimyasal bileşimi

Çörek Otu Bileşenleri (%)	Bileşenlerin Konsantrasyonları (%)
Su	7
Protein	23
Nişasta	15
Yağ	39
Ham lif	5.4
Diyet lifi	16
Kül	4.3

Muhammad ve ark., (2009)'na göre çörek otu uçucu yağının kimyasal bileşimi Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çörek otu uçucu yağının kimyasal bileşimi

Çörek Otu Uçucu Yağ Bileşenleri (%)	Bileşenlerin Konsantrasyonları (%)
Timokinon	23.25
Dihidrotimokinon	3.84
p-Simen	32.02
Karvakrol	10.8
α-Thujen	2.4
Timol	2.32
α-Pinen	1.48
β-Pinen	1.72
t-Anethol	2.10
Minör Bileşenler	23.81

Çörek otunda bulunan antioksidanların kullanımı ve gıdalardaki önemi

Çörek otu uçucu yağı, gerek gıdalarda oksidasyonu engellemek amacıyla gerekse insan vücudunda ortaya çıkabilecek hücre hasarlarını onarması nedeniyle kullanılan önemli maddelerden biridir. İnsanlar özellikle bitkilerde bulunan bu antioksidan maddeleri mutlak suretle dışarıdan almak zorundadır. Yapılan birçok çalışmada, çörek otu uçucu yağlarının antimikrobiyal, antikanserojen, antiinflamatuvar, antidiyabetik özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir (Sultan, 2009; Lutterodt et al., 2010; Bourgouet et al., 2012).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çörek Otunun Genel Özellikleri

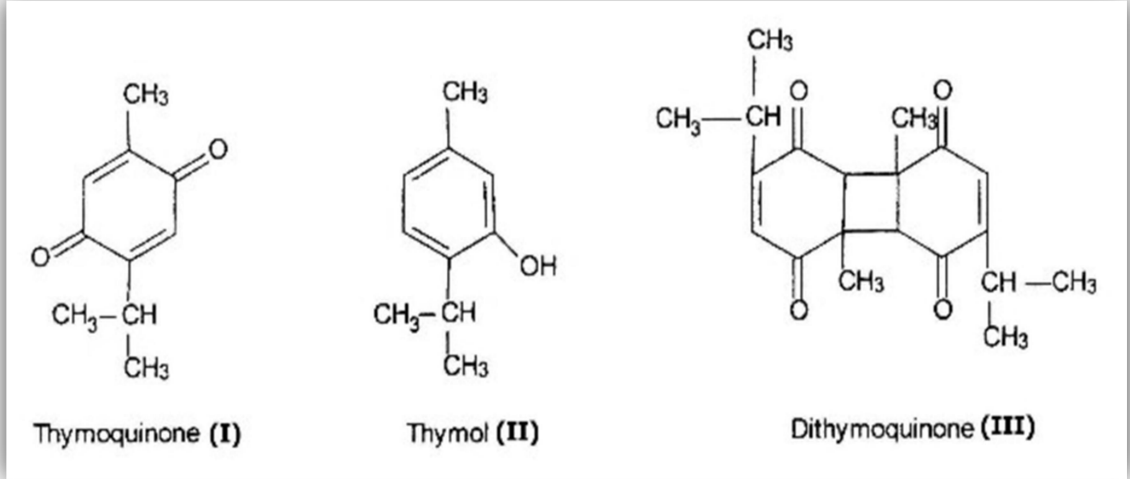
2.1.1.Çörek Otunun Yapısı

Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) ailesinde yer alan, Güney Batı Asya, Avrupa, Kuzey Afrika'da yetişen ve ülkemizde çoğunlukla Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde yetiştirilen "çörek otu" olarak bilinen *Nigella sativa* L., 20-30 cm uzunluğunda,doğrusal mızrak şeklinde yapraklara sahip çiçekli, yıllık bir bitkidir (Forouzanfar et al., 2014; Khader and Eckl, 2014).

Tohumları baharat olarak ve geleneksel tıpta farklı formlarda birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Khader and Eckl, 2014). Orta Doğu ve Uzak Doğu ülkelerinde geleneksel tıpta; astım, öksürük, bronşit, inflamatuvar hastalıklar, ateş, ağrı, baş dönmesi, böbrek ve karaciğer işlev bozuklukları, sinir sistemi hastalıkları, diyabet, ekzema, mide-barsak sistemi problemleri, hipertansiyon, kanser dâhil çeşitli semptomların ve hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (Darakhshan et al., 2015). Kanser hastalarında kemoterapi ile birlikte tamamlayıcı tedavi olarak ve alternatif tıpta tedavi amacı ile kullanılabilceği de bildirilmektedir (Khader and Eckl, 2014).

Çörek otu tohumunun besin değeri yüksek olup, çeşitli aktif kimyasal bileşenler içermektedir. Çörek otu tohumunun yapısında başlıca doymuş/doymamış sabit yağlar (%31,0,-35,5), uçucu yağlar (%0,4-0,45), karbonhidratlar (%33,0-34,0), proteinler (%16,0-19,9), aminoasitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, mineraller (kalsiyum, çinko, fosfat) ve vitaminler (askorbik asit, tiyamin, niasin, pridoksin ve folik asit) bulunmaktadır (El-Tahir and Bakeed, 2006).

Nigella sativa tohumunun uçucu yağlarından çeşitli farmakolojik aktif kimyasal bileşenler izole edilmiştir; başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timolünün yanı sıra; p-simen, d-limonen, α ve β -pinen, trans-anetol, karvakrol ve nigellon yer almaktadır (Forouzanfar et al., 2014; Gerige et al., 2009; Khader and Eckl, 2014; Shafiq et al., 2014;).



Şekil 1.1. Çörek otu tohumu yağının aktif bileşenleri

2.1.2.Çörek Otu Tohumunun Geleneksel Kullanımı

Çörek otu tohumu ve yağı yüzyıllardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde dünyanın farklı yerlerinde; özellikle Asya, Afrika, Orta Doğu'da geleneksel olarak kullanılmıştır. Antitussif, antienflamatuar, antifungal, hipoglisemik, antihipertansif, diüretik, antinosiseptif ve antihistaminik etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Abdel-Fattah et al., 2000; Forouzanfar et al., 2014; Mollazadeh and Hosseinzadeh, 2014; Shafiq et al., 2014). Çörek otu tohumunun halk arasında astım, öksürük, bronşit, romatizma, dispepsi, ishal, dizanteri, ateş, ağrı, şişkinlik, sarılık, paralizi, basur ve diğer rahatsızlıklarda geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar ile çörek otunun kardiyovasküler, sindirim, bağışıklık, üriner ve solunum sistemi problemlerinin iyileştirilmesinde faydalı olabileceği tespit edilmiştir (Darakhshan et al., 2015; Khader and Eckl, 2014). Ayrıca çörek otu tohumundan yapılan tentürün ishal, ağrılı âdet görme, hazımsızlık, iştah kaybı, kurt ve deri döküntüsünün tedavisinde kullanıldığı; kusmanın önlenmesinde ise çörek otu tohumların kavru olarak dâhilen verildiği, yağının ise haricen antiseptik olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Mollazadeh and Hosseinzadeh, 2014).



Şekil 1.2.Nigellasativa L. bitkisi ve tohumu

2.2.Timokinonun Genel Özellikleri

2.2.1. Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri

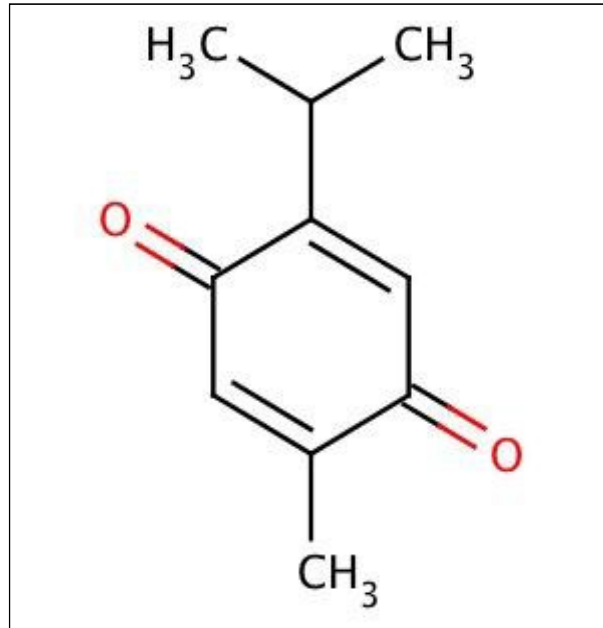
Çörek otu tohumunun farmakolojik etkilerinin birçoğundan, içerdiği kinin bileşenleri, özellikle timokinon sorumludur (Darakhshan et al., 2015; Forouzanfar et al., 2014; Khader and Eckl, 2014;). Timokinon (2-izopropil-5-metilbenzo-1,4-kinon) (%18,4-24), çörek otu tohumu uçucu yağının ana biyolojik aktif bileşenidir (Şekil 2). Enol ve keto form dâhil tautomerik formlarda bulunmaktadır. Keto formu büyük kısmını oluşturmaktadır (yaklaşık %90) ve bileşiğin farmakolojik özelliklerinden sorumludur. Hidrosfobik bir molekül olan timokinon, ışığa maruz kaldığında degranulasyona uğramaktadır. Timokinonun artan pH'lerde stabilitesi azalmakta, asidik pH'de ise minimum degradasyon görülmektedir (Darakhshan et al., 2015).

2.2.2. Timokinonun Farmakokinetik Özellikleri

Timokinonun hidrofobik özelliği çözünübilirliğini etkilediği için ilaç formulasyonları sınırlandırılabilir (Salmani et al., 2014). Son girişimler ile biyoyararlanım ve aktiviteleri artırılmış timokinonun yeni analogları sentezlenmiştir (Örneğin; katı lipit nanopartiküller, timokinon-yüklü lipozomlar, timokinon-yüklü nano-yapılı lipit taşıyıcılar gibi) (Darakhshan et al., 2015; Kahilaet al., 2017; Odeh et al., 2012). Timokinonun intravenöz (iv), intraperitoneal (ip), oral, subakut ve subkronikolarak farklı uygulamalarının olduğunu gösteren birçok çalışma

bulunmaktadır (Darakhshan et al., 2015). Timokinonun farmakokinetik özellikleri iv ve oral uygulamalar ile tavşanlarda incelenmiştir. Oral uygulamadan sonra görülen klerens değeri 12,30 mL/dk/kg ve Vss 5109,46 mL/kg'dır. Yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık 274 dk'dır. Timokinonun 5 mg/kg (iv) uygulamalarında plazma konsantrasyonu linear kinetik göstermiştir. Oral uygulama eliminasyon ile karşılaştırıldığı zaman, yavaş absorpsiyon göstermiştir ve mutlak biyoyararlanımı düşük bulunmuştur. Mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %58 olarak bildirilmiştir. Timokinonun oral uygulamadan sonra yavaş absorpsiyon ve hızlı eliminasyon gösteren bir bileşik olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Alkharfy et al., 2015). Timokinonun ağız yolu ile alınmasını takiben karaciğer enzimleri [DT-diaforaz (kinin redüktaz)] ile metabolize edilerek hidrokinona indirgendiği ve hidrokinonunkonjuge edilip daha sonra merkaptürik asite dönüştürülerek idrarla atıldığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Darakhshan et al., 2015).

Protein-ilaç etkileşimleri, ilacın farmakokinetik ve farmakolojik özelliklerinden önemli bir faktördür. Timokinon-protein bağlanmasının tahmini yüzdesi tavşanlarda %99,19, insanlarda %98,99 olarak bildirilmiştir (Alkharfy et al., 2015).



Şekil 2.1. Timokinonun kimyasal yapısı

2.2.3. Timokinonun Moleküler Etki Mekanizması

Timokinonun patofizyolojik durumlarda birden fazla faktörü hedef aldığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Başlıca etkileri; hücre döngüsü ve çoğalması, anjiyogenez, apoptoz, migrasyon, invazyon, metastaz, inflamasyon ve oksidatif stres üzerinedir.

2.2.4. Timokinonun Solunum Yolu Hastalıklarına Karşı Etkisi

Çörek otu tohumları astım ve dispne dâhil solunum yolu problemlerine karşı terapötik etkilere sahiptir. Timokinonun sıçanlarda akut respiratuvar sendromu tedavisinde faydalı olabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Isik et al., 2005). Timokinonun, antiapoptotik etki göstererek sıçanlarda kronik tolüen maruziyeti kaynaklı akciğer hasarını azalttığı ve siklofosamid kaynaklı pulmoner hasara karşı koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir (Kanter, 2011; Suddek et al., 2013). Timokinonun; sıçanlarda bleomisin indüklediği pulmoner fibröz ilerleyişini azalttığı, akciğer alveollerinde amfizemi, antienflamatuar hücre infiltrasyonunu, bronş etrafındaki lenfoid hiperplastik hücre aktivasyonunu ve bleomisin kaynaklı akciğer dokusunda NF- κ B'nin aktif form over-ekspresyonunu önlediği ve glutatyon S-transferaz ve SOD antioksidan enzim aktivitesini normal değerlere getirdiği bildirilmektedir (El-Khouly et al., 2012). Timokinonun ip enjeksiyonu OVA duyarlı farelerde allerjik havayolu inflamasyonunu azaltmaktadır. Ovalbumin ise besin ve depo proteini tipinde yumurta akı proteinidir. Bronşiyal astım, kronik hava yolu infamasyonu ile karakterize bir hastalıktır ve lökotrienler astım patolojisinde rol oynayan etkili inflamatuvar mediyatörlerdir. Yapılan çalışmalarda, timokinonun lökotrien biyosentezinde ana enzim olan 5-lipoksijenaz ekspresyonunu inhibe ederek LT-B4 ve LT-C4 seviyelerini düzenlediği gösterilmiştir (El Gazzar et al., 2006; Hayat et al., 2011).

2.3. İmmün Sistem

Lenfoid sistem, vücut yüzeylerini ve içindeki sıvı kompartımanlarını kontrol eden hücre, doku ve organlardan oluşan sistemdir. Sistemde diffuz lenfoid doku, lenf düğümleri, dalak, kemik iliği ve timus bulunur. Lenfoid organlar ve lenfoid dokular birlikte immün sistem (bağışıklık sistemi) olarak tanımlanabilmektedir. Lenfoid

dokular lenfositlerin proliferasyon, farklılaşma ve olgunlaşma bölgeleri olarak görev yapmaktadırlar (Abbas et al., 1996; Abbas and Lichtman, 2007; Ross et al., 2006).

Antijen, spesifik immün yanıtı indükleyebilen herhangi bir maddedir. İmmün sistem, organizmayı antijenlere ve patojenlere karşı korumakla görevli olan; kendine ait olanı ve yabancı olanı ayırt etmekle sorumlu olan sistemdir. Sistem, vücuda giren veya vücutla temasta bulunan her yabancı maddeyi tarar ve onları canlılığın sağlıklı vücut hücrelerinden ve dokularından ayırt eder. Vücutta belli aralıklarla ortaya çıkan anormal hücre ve molekülleri saptayıp bunlara yanıt vermek suretiyle kanser gibi hastalıkların gelişmesine engel olmak da immün sisteminin görevlerindedir (Chinen et al., 2006; Porth, 2004). Yabancı maddelerin, mikroorganizmaların ve organizmada gelişen kanser hücrelerinin yıkılmasını, immün sistem içindeki organlar (lenf düğümü, dalak vs.), kan, lenf, bağ dokusunda bulunan lenfosit, granülosit, makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından yapılır (Özer, 2018). İmmün sistemin uygun bir şekilde fonksiyon görmesinde esas olan, immün hücrelerin yabancı bir ajanı tanımasını, amplifikasyonunu ve yabancı ajanlara yanıt vermesini düzenleme yeteneğidir. İmmün sistem bir yabancı patojeni tanıyıp bir diğerinden ayırt etmeli, aynı zamanda da vücuttaki normal hücreler ile proteinleri bu yabancı moleküllerden ayırabilmelidir. İnsan vücudu, bakterilere, virüslere ve diğer yabancı maddelere karşı pek çok farklı mekanizma ile koruma sağlar. Bu koruma fiziksel bariyerleri, kan ve dokulardaki fagositik hücreleri ve kan kaynaklı çeşitli molekülleri içermektedir.

Vücudun yabancı maddelere ve değişime uğramış hücrelere karşı iki savunma hattı bulunmaktadır. Bu mekanizmalar birbiri ile bağlantılı iki savunma sistemine ayrılabilir: Spesifik (edinsel) immün sistem ve Non-spesifik(kalıtıl) immün sistem (Paul, 2003).

2.3.1. Spesifik (Edinsel) İmmünite

Spesifik veya edinselimmünite, bireyin yaşam süresi boyunca gelişir; yabancı ajanı ayırt eder, farklı patojenlere ve yabancı moleküllere spesifik biçimde yanıt verir. Spesifik immün savunmada lenfositler önemli bir yapıtaşdır. Bu hücreler, hücrel immüniteye katkıda bulunan T lenfositleri ve humoral immüniteye katkıda bulunan B lenfositleri içerir. Hücrel immünite, antijen taşıyan hücreleri yok etme yeteneğine sahip Tc hücrelerinin üretilmesini kapsar. Humoral immünite ise B hücrelerinin antijen-spesifik aktiviteye sahip immünoglobulinleri salgılayan plazma hücrelerine dönüşümü ile karakterizedir.

İmmun sistem hücreleri lenfositler ve destek hücreleridir. Lenfositler T ve B lenfositler olarak sınıflandırılırken; destek hücreleri daha fazla sayıdadır. Monositler, makrofajlar, bazofiller, eozinofiller, retiküler hücreler, folikülerdendritik hücreler, dendritik hücreler, Langerhans hücreleri ve epitelioyoretiküler hücreler immün sistem destek hücreleri olarak sayılabilmektedir.

2.3.2. Non-spesifik (Doğal, doğuştan) İmmünite

Savunma sisteminin ilk aşaması olan non-spesifik immün sistem, yabancı ajanı ayırt edebilir ancak bir patojen tipini diğerinden ayırt edemez (Litman et al., 2005). Non-spesifik direnç iki genel savunma hattından meydana gelmektedir. Mikroorganizmalar deride epitel doku, solunum, sindirim ve ürogenital sistemlerdeki mukoz membranlara maruz kaldıklarında ilk direnç hattı ile karşılaşmaktadırlar (Fairclough et al., 1976). Savunmanın ikinci aşaması ise, kimyasal sinyalleri, antimikrobiyal peptidleri, antifagositik ve doğal öldürücü hücreleri ve inflamasyona yanıt ile ilişkili ateşi kapsamaktadır (Agerberth and Gudmundsson, 2006).

2.3.3. Antijenler

Antijen, spesifik immün yanıtı indükleyebilen herhangi bir madde olarak tanımlanabilmektedir. Antijenler veya immünojenler konakta immün yanıt üretebilen yabancı maddelerdir. İmmün yanıt spesifik bir antijene karşı oluşturulmaktadır. Bu madde enfeksiyöz bir organizma, çözünebilen bir madde ve yabancı doku olabilmektedir. Bu yabancı moleküller antikor veya immüno globulin olarak adlandırılan reseptörler tarafından tanınırlar. Bakteri, mantar, virüs, protozoa ve parazitleri dışında polen, böcek zehiri ve transplante organlar da antijen olarak tanınabilir. Antijenler üzerinde belirgin biçimde yer alan, immünolojik olarak aktif bölgelere antijenik belirleyici veya epitop adı verilir. Bir tek antijen birkaç epitop içerebilmekte olup her biri yanıt oluşturacak farklı bir lenfosit klonunu stimüle edebilir. Çok küçük maddeler (molekül kütleleri < 10.000 Dalton) genellikle kendi başlarına yeterli bir yanıt oluşturamazlar. Hapten olarak bilinen bu düşük molekül ağırlıklı bileşikler daha büyük protein molekülleriyle birleştiklerinde, antijen olarak işlev görürler. Proteinler, antijenik hapten-taşıyıcı kompleksler oluşturmak üzere haptentler için taşıyıcı moleküller gibi davranırlar. Örneğin penisiline karşı ortaya çıkan alerjik yanıt, tıbbi açıdan önemli bir hapten-taşıyıcı kompleksidir. Penisilin (molekül kütlesi yaklaşık olarak 350 Dalton) kendi başına bir immün yanıt uyandıracak kapasitede değildir. Bununla birlikte, penisilin daha büyük bileşikler

oluşturmak üzere vücut proteinleriyle birleşebilir ve bazı kişilerde penisilin epitopuna yönelik bir immün yanıt oluşturabilir.

2.3.4. İmmün Hücreler

Spesifik (edinsel) immün sistemin primer hücreleri lenfositlerdir ancak spesifik immün yanıtların tanınması ve aktivasyonu, destek hücreler olarak adlandırılan ve antijene spesifik olmayan hücrelere bağlıdır (Abbas et al., 2007; Bachmann et al., 2002). Lenfositler, kan lökositlerinin %25 ile %35'ini temsil ederler ve diğer kan lökositleri gibi kemik iliğindeki kök hücrelerden üretilirler. Bu farklılaşmamış hücreler lenfoid dokularda toplanmakta ve burada belirgin lenfosit tipleri (B ve T lenfositler) olarak olgunlaşmaktadırlar. Lenfositlerin aktivasyonu, antijen sunan hücreler tarafından antijenin uygun bir şekilde işlenmesine ve T lenfositlere sunulmasına bağlıdır. Antijenin tanınmasından sonra, T ve B lenfositleri hücre klonları oluşturmak üzere bölünürler ki bunlar da antijenleri yok eden efektör hücrelere ve bellek hücrelere farklılaşmaya devam ederler.

2.3.4.1. Farklılaşma Kümeleri (Farklılaşma Dizisi Molekülleri)

Farklı lenfoid ve hematopoetik doku hücreleri özgün hücre yüzey moleküllerine sahiptirler. Bu spesifik belirteçlere farklılaşma dizisi molekülleri (CD) denir. Bu moleküller bir sistem dahilinde hücreleri, değişik farklılaşma evrelerinde ifade edilen antijenlerle ilişkilendirilen sayılarla gösterilmektedir. Bu moleküller monoklonal antikorlar kullanılarak immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilebilirler. Bu moleküller aynı zamanda lenfoid ve hematopoik hücrelerin spesifik alt tiplerinin saptanmasında kullanılmaktadırlar. Olgun T ve B lenfositler farklılaşma kümeleri (Clusters of Differentiation, CD) olarak adlandırılan yüzey moleküllerini sergilerler. Bu moleküller fonksiyonel olarak CD4⁺ T yardımcı hücreler (TH) ve CD8⁺ T sitotoksik hücreler (TC) gibi farklı T-hücre alt gruplarını tanımlama görevini görürler (Tunalı, 2018, Chinen et al., 2006; Baker et al., 1995). Hücrel immünitede, CD4⁺ TH hücreleri diğer T ve B hücrelerinin yanıtını artırırken; CD8⁺ TC hücreler, virüsle enfekte hücreleri ve tümör hücrelerini öldürmektedirler (Tunalı, 2018).

2.3.4.2. Doku Uygunluk Kompleks Molekülleri

Spesifik immünitinin temel bir özelliği, organizmaya ait olan moleküller ile yabancı antijenler arasında ayırım yapma özelliğidir. Bunun için önemli olan

moleküller hücre yüzeyi doku-uygunluk kompleks molekülleri (Major Histocompatibility Complex Molecules, MHC) antijenleridir (Remington et al., 1995). MHC molekülleri hücre yüzeylerinde, sindirilmiş yabancı proteinlerin kısa parçacıklarını bulundurlar. Bu proteinlerde hücre içinde MHC moleküllerine bağlanırlar ve sonrasında hücre yüzeyine taşınırlar. İnsanlarda 6. kromozom üzerinde yakın ilişkili genler tarafından kodlanan bu moleküller ilk kez organ ve doku naklindeki rolleri sayesinde tanımlanmışlardır.

MHC I tüm çekirdekli hücrelerin ve plateletlerin yüzeyinde ekspresedilmektedir. Bu moleküller anormal konakçı hücrelerin ortadan kaldırılmasına olanak sağlayan hedef olarak davranırlar. MHC I molekülleri bu fonksiyonlarını yüzeylerinde hücre tarafından aktif olarak sentezlenen tüm peptidlerin kısa parçacıkları sayesinde gerçekleştirirler. Bu nedenle, tüm endojen peptidler tüm vücut hücrelerinin yüzeylerinde bulunurken, virüs ve benzeri yabancı maddelere özgü peptidler sadece enfekte olmuş ya da transforme olmuş hücrelerin yüzeylerinde bulunmaktadır. MHC II ise tüm antijen sunan hücrelerin yüzeyinde eksprese edildiği için daha sınırlı bir dağılım göstermektedir (Tunalı, 2018).

2.3.4.3. Monositler, Makrofajlar ve Dentritik Hücreler

Monositler ve doku makrofajları, retiküloendotelyal sistemin parçası olan mononükleer fagositik sisteme ait hücrelerdir (Zen et al., 2003). Monositler, kemik iliğinden köken alan ve mononükleer fagositer sistem hücrelerinin prekürsörleri olan hücrelerdir. Monositler, çeşitli dokulara göç ederek immün sistemde antijen sunan hücreler olarak görev yapan makrofajlara dönüşürler. Doku makrofajları bağ dokularında dağılmış halde veya küme halinde organlarda bulunurlar (akciğerlerde alveolar makrofajlar, karaciğerde Kupffer hücreleri, merkezi sinir sisteminde mikrogial hücreler vs.)

Makrofajlar hem non-spesifik hem de antijen-spesifik immün yanıtlarda önemli fonksiyonlara sahiptirler. Fagositik hücreler olarak, spesifik immünite devreye girinceye kadar enfekte ajanları bünyelerinde tutarak immüniteye katkıda bulunurlar. Ayrıca, konak yanıtının erken safhasında inflamasyon yanıtını arttırılması ve spesifik immünitenin başlaması esnasında işlev görür. Makrofajlar yabancı partikülleri yutmak ve sindirmek için antijen varlığı ile aktive edilirler. Aktive makrofajlar kompleks antijenleri MHC II molekülleri ile birleşebilen peptid fragmanlarına parçalarlar. Makrofajlar humoral ve hücrel immün yanıtlarda

fagositik hücreler olarak da işlev görebilmektedirler. Antijen-antikor agregatlarını uzaklaştırabilir veya T-hücre sitokinlerinin etkisi altında, virüsle enfekte hücreleri veya tümör hücrelerini yok edebilirler. Dentritik hücreler, antijenleri T lenfositlerine sunma gibi önemli bir görevi makrofajlar ile paylaşmaktadırlar. Bu hücreler, sitoplazmik membranlarının uzun uzantılarıyla MHC II moleküllerinden zengin olan geniş bir yüzey sağlarlar ki bu edinsel immün yanıtın başlaması için gereklidir (Guermontprez et al., 2002). Dentritik hücreler lenfoid dokularda ve vücudun antijen ile temas ettiği bölgelerde bulunurlar. Bu farklı ortamlarda, dentritik hücreler, makrofajlarda olduğu gibi, özel fonksiyonlar ve görünümler kazanırlar. Langerhans hücreleri ise, deride bulunan özelleşmiş dentritik hücrelerdir. Follikülerdentritik hücreler lenf nodlarında yer alan hücrelerdir. Deri dentritik hücreleri ve makrofajlarında derinin gecikmiş alerjik kontakt hipersensitivite gibi hücrel immün reaksiyonlarında görev alırlar (Tunalı, 2018).

2.3.4.4. T Lenfositler

Uzun yaşam süreleri olan T hücreleri hücre-aracılı bağışıklıkta görev alırlar. T hücreleri, T-hücre reseptörleri (TCR) olarak adlandırılan hücre yüzeyi tanıma proteinleri ile karakterizedirler. Bu proteinler T hücrelerinin çoğunluğunda α ve β TCR zincirleri adı verilen iki glikoprotein zincirinden oluşmaktadır.

T lenfositler, viral enfeksiyonların kontrolünde, yabancı doku greftlerinin reddinde, gecikmiş hipersensitivitede ve diğer T ve B hücrelerinin aktivasyonunda görev alırlar. Bu immün yanıtların hepsine birden hücrel immünite adı verilmektedir (Agerberth et al., 2006). Antijene yönelik TCR, spesifik olarak antijen sunan hücrelerin ve hedef hücrelerin yüzeyindeki antijen-peptit-MHC komplekslerine bağlanarak T hücreleri arasındaki farklı antijen spesifitesini oluşturmaktadırlar. Timusta olgunlaşan T hücreleri periferik lenfoid dokulara göç ederler. Bu dokularda antijen ile karşılaştıkları zaman çoğalırlar ve bellek T hücreleri ile çeşitli efektör hücreleri şeklinde farklılaşırlar. T hücreleri yüzeylerinde CD2, CD3, CD5 ve CD7 proteinlerini ekspres etmektedirler. Ancak CD4 ve CD8 proteinlerinin varlığı temel alınarak alt sınıflandırma yapılmaktadır. CD4+ T lenfositler, CD4 belirteciye sahiptirler ve MHC II molekülüne bağlanan antijenleri tanırlarlar. CD8+ T lenfositler ise, CD8 belirteciye sahiptirler ve MHC I molekülüne bağlanan antijenleri tanırlarlar. CD4+ yüzey reseptörü taşıyan yardımcı T hücreleri, immün sistemin temel yapıtaşlarından. Yardımcı T (TH) lenfositler,

aktivasyonlarını takiben, immün sistemin neredeyse hücrelerinin fonksiyonunu etkileyen sitokinleri salgılamaya başlarlar (Abbas et al., 1996.). Bu sitokinler B hücrelerini, sitotoksik T hücrelerini (TC), doğal öldürücü hücreleri, makrofajları ve diğer immün hücrelerini aktive ve regüle etmektedirler (McHeyzer-Williams et al., 2006).

2.3.4.5. B Lenfositler

Yaşam süreleri değişkenlik gösteren B hücreleri dolaşımdaki antikorların üretiminden sorumlu olan hücrelerdir. Dolaşımdaki olgun B hücreleri yüzeylerinde IgM, IgD ve MHC II moleküllerini ekspres ederler. CD9, CD19, CD20 ve CD24 B hücrelerinin spesifik belirteçleridir. Olgunlaşmış B hücresi kemik iliğini terk ederek, dolaşıma katılır ve spesifik bir antijene yanıt vermesi için stimüle edileceği çeşitli periferik lenfoid dokulara göç ederler. Yüzey immünoglobulin reseptörlerini tamamlayan antijen ile karşılaşan ve T hücrenden yardım alan B hücreleri, kendilerini antikor salgılayan plazma hücrelerine veya B bellek hücrelerine dönüştüren bir dizi değişikliğe uğramaktadırlar. Bölünen ve plazma hücrelerine dönüşen aktive B hücresi saniyede binlerce antikor molekülü üretebilmektedir. Üretilen antikorlar kan ve lenf dolaşımına salınarak kendilerine özgü antijenlerini bağlayıp uzaklaştırırlar. Daha uzun ömürlü olan bellek B hücreleri ise, bir sonraki antijen karşılaşmasına hazırlık olarak periferik dokulara yerleşmektedirler (Chinen et al., 2006; Remington et al., 1995).

2.3.4.6. Doğal Öldürücü Hücreler

Doğal öldürücü (Natural Killer, NK) hücreler fonksiyon, genotip ve fenotip bakımından T hücrelerinden, B hücrelerinden ve monosit-makrofajlardan bağımsız lenfositlerdir. NK hücreleri gelişimleri sırasında virüs ile enfekte olmuş belirli hücreleri ve tümör hücrelerinin bazı tiplerini öldürmek üzere programlanmış hücrelerdir. Antiviral bir ajan olan interferon gama (IFN γ)'yı da salgılayan bu hücrelerin spesifik yüzey belirteçleri CD16, CD56 ve CD94'tür. Bu tip lenfositlerin doğal öldürücü hücreler olarak adlandırılmasının sebebi; uyarılmadan önce spesifik bir antijene ihtiyaç duymamalarıdır. NK hücreler, sitotoksik olmak için aktive edilmeye ihtiyaç duyan CD8+ TC hücrelerinin tersine, yabancı hücreleri öldürmeye otomatik olarak programlanmışlardır (Vosshenrich et al., 2005). NK hücrelerinin sitotoksitesinin mekanizması, por oluşturan proteinlerin, enzimlerin ve toksisitokinlerin üretimine dayalı olması bakımından T hücre toksitesinin

mekanizmasına benzemektedir. NK hücrelerinin aktivitesi, in vitro ortamda interleükin-2 (IL-2) ile karşılaştırıldığında artırılabilir ki bu lenfokin ile uyarılmış öldürme aktivitesi olarak adlandırılmaktadır (Papamichail et al., 2004). Bu şekilde aktive edilmiş NK hücreleri kanser tedavisinde kullanılmaktadır.

2.3.5. İmmüoglobulinler

İmmüoglobulinler, plazma hücreleri tarafından salgılanan fonksiyonel bir immün-sistem molekül sınıfı olan antikorlardır. Benzer yük ve çözünürlük özelliği gösteren glikoprotein yapıda olan immüoglobülinler bifonksiyonel moleküllerdir. (Antijeni tanıma bağlama, efektör fonksiyon gösterme).

Tüm immüoglobulinler aslında birbirlerinden farklı yapılarda olmalarına rağmen, hepsi benzer ana yapı üzerine kurulmuştur. İmmüoglobulinlerin temel yapıları iki eş hafif zincir (23kD) ve iki eş ağır zincirden (50-70kD) olmak üzere dörtzincirden oluşmaktadır.

İmmüoglobulinler, her biri ayrı işlev gören IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. İmmüoglobulinler, antijen bağlayan en az iki özdeş bölgeden oluşan karakteristik “Y şekilli” bir yapıya sahiptir. İmmüoglobülin molekülünün iki çatal ucu antijeni bağlamakta olup Fab (antijen bağlayıcı) fragmanları olarak adlandırılırken, molekülün Fc fragmanı olarak adlandırılan kuyruk kısmı immüoglobulinin belli bir grubunun karakteristiği olan biyolojik özellikleri belirlemektedir. Ağır ve hafif zincirlerin aminoasit dizilimi, sabit (C) bölgelerini ve değişken (V) bölgelerini gösterir. Sabit bölgeler immüoglobulinin belli bir sınıfına ait antikorlar arasında çok az değişiklik gösteren aminoasit dizilimine sahiptirler. Değişken bölgeler molekülün antijen bağlayan bölgelerini içermektedir. Bu bölgelerin aminoasit diziliminde antikordan antikora görülen büyük değişkenlik, değişken bölgenin antijen bağlayan bölge olarak işlev görmesine olanak tanır. Bu bölgedeki özgün aminoasit dizilimi, antijeni tamamlayıcı nitelikteki bir bölgeyi belirler, antijenin tanınmasına ve bağlanmasına izin verir. İmmün yanıt süreci boyunca, sınıf değiştirme (örn IgM den IgG'ye) meydana gelebilmekte ve B-hücre klonunun antikor türlerinden birini üretmesine neden olabilmektedir.

IgG (gama globulin); Serumda %80 oranında bulunan en küçük immüoglobülin sınıfıdır. Dört alt sınıfı olan IgG kan, lenf, periton ve omurilik sıvılarında bol miktarda bulunmaktadır. Fötüste çok fazla miktarda bulunan IgG,

yeni doğanı ilk aylarda enfeksiyonlara karşı korur. Komplemanı aktive eder, fagositik hücreler için opsonizasyon yapar, sitotoksik hücreler için antikora bağlı sitotoksisiteye aracılık eder (Tunalı, 2018).

IgA; Serumla %15 oranında bulunan IgA'nın iki alt sınıfı vardır (IgA1 ve IgA2) (Tunalı, 2018). Tükürük, gözyaşı, kolostrum, bronşiyal, gastrointestinal, prostatik ve vajinal sekresyonlarda bulunan salgısal immüoglobulindir. IgA, virüslerin ve bakterilerin epiteliyal hücrelere tutunmasını önlemekte ve mukozada lokal enfeksiyonlara karşı primer savunma olarak görev yapmaktadır.

IgM; Serumda %15 oranında bulunan antikor pentamer yapıya sahip en büyük immüoglobulindir (Tunalı, 2018). Antijene yanıt olarak dolaşımda ilk beliren ve fötüs tarafından da sentezlenen bir immüoglobulindir. B lenfositlerin hücre membranında yer alan immüoglobülinin serumda yüksek konsantrasyonlarda bulunması antijen ile yeni temasa geçildiğini ya da geçirilmekte olan enfeksiyona işaret etmektedir. Aynı şekilde yenidoğanda anneden geçmiş olan IgG'den ziyade spesifik bir patojene karşı oluşmuş IgM'nin belirlenmesi bir intrauterin enfeksiyonun ya da bir yenidoğan enfeksiyonunun göstergesidir. IgM, komplemanı aktive edebilmesine rağmen toksin ve virüs nötralizasyonunu yapamamaktadır.

IgD; Serumda %0,2 oranında bulunan immüoglobülin B lenfositlerin yüzeyinde IgM ile birlikte bulunmaktadır. B hücrelerinin farklılaşmasının başlamasında bir antijen reseptörü olarak işlev görür.

IgE; Serumda çok küçük oranlarda bulunan immüoglobülin, deri ve diğer dokulardaki alerjik olaylarda görev almaktadır. Parazitlere karşı oluşan IgE'ler antikora bağımlı hücrel immün cevap ile parazitin yok edilmesini sağlar. Mast hücrelerine ve bazofillere bağlanabilmektedir. Antijenin mast hücrelerine veya IgE'nin bazofile bağlanması, bu hücreleri histamin ile birlikte inflamasyon ve allerjilerde önemli olan diğer araçları açığa çıkarmalarını tetiklemektedir (Tunalı, 2018).

2.3.6. Sitokinler ve İmmün Yanıt

Sitokinler, immün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artışı veya azalışını sağlayan, uyarılan T, B lenfositler, monositler, makrofajlar ve diğer hücrelerden salınan hormon benzeri etkileri olan moleküller olarak tanımlanabilmektedirler (Tunalı, 2018). İmmün yanıtın tüm evreleri boyunca üretilen

düşük molekül ağırlıklı düzenleyici proteinlerdir. Sitokinler, aktive olmuş TH hücreleri ve makrofajlar başta olmak üzere pek çok hücre tipi tarafından sentezlenmektedirler. Sitokinlerin üretimi, genellikle bir sitokin, ardışık diğer sitokinlerin veya reseptörlerinin üretimini etkilemesi şeklindeki bir tepkime zinciri içinde meydana gelmektedir. Bu geri besleme paterni, sitokin sentezinin ve dolayısı ile de immün yanıtın uygun kontrolünü sağlamaktadır. Aşırı sitokin üretiminin septik şok, gıda zehirlenmesi ve kimi kanser tiplerinde olduğu gibi ciddi yan etkileri olabilmektedir. Sitokinler yanıtlarını hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlerine bağlanarak meydana getirmektedirler. Bir grup sitokin fagositleri çekip onları aktive ederek ateş ve akut-faz yanıtı oluşturarak inflamasyona aracılık ederken diğerleri beyaz ve kırmızı kan hücrelerinin hematopoezine yönelik olgunlaşma faktörleri olarak işlev görürler. İnterlökin sitokinlerin çoğu T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar ve diğer immün hücreleri arasında hücre iletişim molekülleri olarak işlev görürler. Rekombinan sitokinlerin varlığı, immün yanıtın stimülasyonu veya inhibisyonunun istendiği bazı klinik tedaviler için imkân sağlamaktadır. Sitokinler, organizmada immün sisteminin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Lenfositlerin meydana getirdiği sitokine lenfokin, monositlerin meydana getirdiği sitokine ise monokin denir. Sitokinler yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynarken aynı zamanda hücreler arası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta önemli rol oynamaktadırlar. Sitokinler hormona benzemekle beraber özelleşmiş bir dokudan değil de çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon kabul edilemezler ve etkilerini otokrin veya parakrinşekilde gösterirler. Bazı hücreler kültür ortamında spontan olarak sitokin salgılayabilirse de sitokinlerin çoğu hücrenin aktivasyonundan sonra salgılanmaktadır. İstirahat halindeki hücrelerden sitokin salgılanmamaktadır. Sitokinler peptid veya glikoprotein yapısında olup molekül ağırlıkları 6000 ile 60.000 KDa arasında değişmektedir. Çok küçük miktarları dahi etkili olan bu maddeler oldukça aktiftirler. Çeşitli sitokinlerin genleri bulunup klonlanmış olup, bu sayede sitokinlerin daha fazla miktarda yapımı mümkün olmuştur. Bu sitokinlerden biri diğer sitokinlerin salgılanmasına neden olabildiği için sitokinlerin etkisi birbirine benzeyebilmektedir. İmmün sistemden salgılanan sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinler olup başlıca görevleri immün sistem hücrelerini uyarmaktır. Kemokinler, interferonlar, interlökinler, lenfokinler, tümör nekroz faktörü, ancak

genellikle hormonlar veya büyüme faktörleri olmayan pek çok sitokin türü vardır. Tüm bu tip sitokinler, makrofajlar, B lenfositleri, T lenfositleri ve mast hücreleri gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra endotel hücreleri, fibroblastlar ve çeşitli stromal hücreler de dahil olmak üzere geniş bir hücre yelpazesi tarafından üretilirler (Tunalı, 2018).

2.3.6.1. İnterlökin 1 ve 2

IL-1 başlıca monosit ve makrofajlar olmak üzere tüm çekirdekli hücrelerden salınabilmektedirler. IL-1'ler TH hücrelere ulaşarak etkili olurlar. IL-1'in başlıca fonksiyonu inflamatuvar yanıtı aracılık etmektir.

IL-1, bir akut faz yanıtının üretimini stimüle edebilir, nötrofilleri mobilize edebilir, ateş meydana getirebilir ve vasküler epiteli aktive edebilir. IL-1 aynı zamanda CD4+ TH hücrelerinin aktivasyonunda, B hücrelerinin gelişme ve farklılaşmasında öncü sinyal olarak işlev görür. Keratinositler, Langerhans hücreleri, normal B hücreleri, kültüre edilmiş T hücreleri, fibroblastlar, nötrofiller ve düz kas hücreleri tarafından da üretilmelerine rağmen, IL-1 in başlıca kaynağı makrofajlardır. IL-2'nin daha önceleri T hücre büyüme faktörü olarak adlandırılmış olsa da, TH, TC, B ve NK hücrelerinin çoğalması ve fonksiyonu için gerekli olduğu ortaya konmuştur. IL-2, aktive edilmiş T hücrelerinde bulunan spesifik membran reseptörlerine bağlanarak T lenfositler ile etkileşir. T hücre çoğalmasının idamesi IL-2 ve IL-2 reseptörlerinin mevcudiyetine bağlıdır, eğer bunlardan biri yoksa hücre çoğalması durur ve hücre ölür. Bu sitokin antijen varlığında immün yanıtın en üst düzeye yükselmesini sağlar. Kalp, böbrek ve karaciğer transplantlarının reddini önlemek için kullanılan sikloporin ve takrolimus gibi ilaçlar, esas olarak IL-2'nin sentezini inhibe ederek işlev görürler (Tunalı, 2018).

2.3.6.2. İnterferonlar

İnterferon (IFN) ailesi hücreleri; virüsler, riketsialar, malarya parazitleri ve diğer organizmalar gibi hücre içi parazitlere karşı koruyan bir sitokin grubudur. Bakteriyel toksinler, kompleks polisakkaridler ve diğer bazı kimyasal maddeler IFN üretimini indükleyebilmektedir. IFN üretimini indükleyen her madde antijenik değildir. İnterferonların alfa (α), beta (β) ve gama (γ) olmak üzere üç tipi bulunmaktadır. IFN α , lökositler tarafından; IFN- β , fibroblastlar tarafında; IFN- γ ise T ve NK hücreleri tarafından üretilmektedirler. İnterferonların etkileri patojene özgü

olmayıp farklı türde virüslere ve hücre içi parazitlere karşı etkili olabilmektedirler. İmmün reaksiyon esnasında üretilen IFN primer olarak IFN- γ 'dır. IFN- γ , makrofajları aktive etmek, sitotoksik lenfositleri üretmek ve NK hücre aktivitesini arttırmak üzere fonksiyon görür. IFN'ler, virüsler, bakteriler, parazitler ve ayrıca tümör hücrelerinin varlığına tepki olarak konakçı hücreler tarafından üretilen ve salgılanan bir grup sinyal proteinleridir. Glikoprotein yapısında olan maddelerdir ve virüsle karşılaşan her türlü canlı hücre tarafından sentezlenebilirler. IFN'ler günümüzde de özellikle kanser tedavisinde dikkatleri yeniden üzerine çekmiştir. İnterferonların en önemli etkileri, virüslerin çoğalmasını önlemesidir. Virüsler vücuda girdikten 12-48 saat sonra çoğalarak en yüksek sayıya ulaşırlar. Bu sayı artışıdan sonra virüsler tarafından enfekte olan konak hücreler interferon üretmeye başlarlar ve virüslerin çoğalmasını engellenerek virüslerin sayı artışı IFN'ler tarafından durdurulur. Her canlı kendisine özgü interferon üretmektedir. IFN çeşitleri; Alfa (α), Beta (β), Gama (γ)'dır. Bu üç interferon tipinden hangisinin üretileceğini, interferon üreten hücre ile interferon üretimini uyaran virüs tipi belirler. α ve γ interferonları lenfositler tarafından üretilirken, β interferonları vücut hücrelerinin çoğu tarafından üretilir. İnterferon gama bir dimerik proteindir ve yoğun şekilde iç içe geçen iki özdeş zincirden oluşur. Reseptörünün iki kopyası IFN gamanın her iki tarafına da bağlanır. Bunlardan IFN- γ hücrel immünitede önemli rol oynar. IFN- γ , immün yanıt regülasyonunu, fagositler hücre aktivasyonu sağlar ve Th1 aktivite artışı, hücrel immünite artışı, Th2 ve B lenfosit inhibisyonu ile humoral immünitede baskılanma yapar (Meagher et al., 2001).

2.3.6.3. Tümör Nekroz Faktörü (TNF)

Tümör nekroz faktörü (TNF, kaşeksin veya kaşektin; önceleri tümör nekroz faktörü alfa veya TNF- α olarak da adlandırılabilir); sistemik inflamasyonda yer alan ve akut faz reaksiyonunu oluşturan sitokinlerden biridir. CD4+ lenfositler, NK hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller ve nöronlar gibi diğer birçok hücre tipi tarafından üretilmesine karşın, esas olarak aktif makrofajlarca üretilir. TNF, homolog bir TNF alanına sahip çeşitli transmembran proteinlerden oluşan TNF süper ailesinin bir üyesidir. TNF'nin birincil rolü bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesidir. Bir endojen pirojen olan TNF; ateşi, apoptotik hücre ölümünü, kaşeksiyi, inflamasyonu tetikleyebilmekte, viral replikasyonu (virüs çoğalmasını)

baskılabilmekte ve IL-1 ile IL-6 üreten hücreler yoluyla sepsise yanıt verebilmektedir (Tunalı, 2018).

TNF- α , endotel hücrelerinin adezyon moleküllerini üretmek üzere uyararak ve sitokinler için kemotaktik olan kemokinleri üreterek enfeksiyon bölgelerine nötrofil ve makrofajların yapışmasına aracılık eder. TNF- α , aynı zamanda, ateş oluşumu için hipotalamusa etki eder ve akut faz protein üretimini kolaylaştırır.

IL-1 gibi, TNF- α da çoklu immünolojik ve inflamatuvar etkileri olan bir sitokindir. TNF, aktive edilmiş makrofajlar ve T hücreleri gibi aktive edilmiş diğer hücreler tarafından üretilir. İnflamatuvar yanıtta önemli bir aracı olarak davranması ve ateş yanıtını dolaylı yoldan etkilemesinin yanında, TNF T hücreleri için bir ko-stimülator olarak fonksiyon görebilmektedir. Bu sitokin özellikle IL-1, IL-6 ve IL-8 için güçlü bir stimülator olarak görev yapmaktadır (Vassali, 1992).

2.3.6.4. Hematopoetik Koloni Uyarıcı Faktörler

Koloni uyarıcı faktörler, çok sayıda trombosit, eritrosit, nötrofil, monosit, eozinofil ve bazofil üretmek için, kemik iliğinde pluripotent kök hücreleri ve progenitor veya prekürsör hücreleri uyaran sitokinlerdir. Üzerine etki ettikleri hedef hücre tipine göre adlandırılırlar. GM-CSF granülosit-monosit progenitor hücreler üzerinde etki ederek monositleri, nötrofilleri ve dentritik hücreleri uyarır; GCSF daha spesifik olarak nötrofil üretimini teşvik eder; MCSF ise spesifik olarak mononükleer fagosit progenitoru yönlendirir. IL-1, IL-2, IL3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7 ve IL11 gibi diğer sitokinler de hematopoezi uyarabilirler.

Interlökin 4 (IL-4), aktif T lenfositler ve mast hücreleri tarafından sentez edilir. B hücre büyüme faktörü 1 (BCGF-1) veya B hücre uyarıcı faktör 1 (BSF-1) olarak da bilinmektedirler. 20kd ağırlığında olup kodlayan genler 5. kromozom üzerindedir. Bu bölge IL-3, IL-5, GM-CSF, M-CSF ve M-CSF reseptör genlerini de bulundurduğundan hemopoezde önemlidir (Jansen et al.,1990). IL-4, fibroblast proliferasyonunu artırırken, hematopoezde "colony forming unit granulosit" (CFU-G) ve "burst forming unit makrofaj" (BFUM) üzerine ise inhibitör etki oluşturur. Monositleri aktive eder, MCH II belirmesini, M-CSF ve GCSF oluşumunu artırır, mast hücrelerini, B ve T lenfositleri proliferere eder, B lenfositlerde IgE sentezi ile MHC II belirmesini uyarır ve Lenfokin ile aktive edilen katil hücre (LAK) hücre oluşumuna neden olur. IL-4, B lenfositler ve monositler üzerinde IgE'nin düşük

afiniteli reseptörünün (CD23) belirmesini artırır (Takeda et al.,1996). Makrofajların tümör hücrelerine karşı sitotoksitesini, parazitlere karşı etkinliğini, C2 proteini ve doku plazminojen aktivator yapımı üzerine uyarıcı etkisini artırır. T lenfositler, NK ve LAK gibi sitotoksik hücrelerin fonksiyonel aktivitelerini ve proliferasyonunu artırır. IL-4'ün hücreler üzerinde oluşturduğu proliferasyon IL-2'ye bağımlı olmadığından siklosporin-A ile bloke edilemez. Buna karşılık NK ve LAK hücre aktivitesi IL-4 ile bloke edilebilir. IL-4'ün bu özelliklerinden başka antikoagulan etki de oluşturduğu da gösterilmiştir (Tortalan et al.,1995).

2.4. Akciğerlerin Histolojisi

Solunum sisteminin en temel organı olan akciğerler göğüs boşluğunu çevreleyen seröz zar (plöyra) ile sarılı olarak göğüs kafesi içerisine yerleşmiştir. Plöyranın boşluğa bakan yüzünde tek sıralı yassı mezotel hücreleri bulunmaktadır. Mezotel hücrelerinin altında ise subseroza adı verilen gevşek bir bağ doku bulunur. Subseroza katmanında kollajen ve elastik iplikler ile düz kas hücreleri bulunmaktadır. Akciğer kapsülünü oluşturan bu bağ doku organ içerisine girerek akciğeri lop ve lopçuklara ayırır. Organ içerisinde intersitisyum olarak adlandırılan bu bağ doku loplar arasında daha geniş, lopçuklar arasında daha dar bir alanda bulunur. Kan ve lenf damarları, sinirler ve solunum borucuklarının hepsi intersitisyum içerisinde yer almaktadır. Akciğerler yapısında bulunan oluşumların fonksiyonlarına göre havayı ileten borular ve respiratorik doku olmak üzere iki ana bölümde incelenir (Junquera et al., 2009; Özer, 2018; Ross et al., 2006).

2.4.1.Havayı İleten Borular

Havayı ileten borular, trekeyanın göğüs boşluğuna ikiye ayrıldığı yerden başlayıp respiratorik dokuya kadar devam eder. Trekeyanın ikiye ayrıldığı bu bölgeye bifurkasyon noktası adı verilir. Bifurkasyon noktasından akciğerlerin dışına kadar bronşlar, ekstrapulmoner bronşlardır. Akciğer girdikten sonra dallanarak devam eden bölüm ise intrapulmoner bronşlar olarak adlandırılmaktadır (Junquera et al., 2009; Ross et al., 2006).

2.4.2.Bronş

Bronşlar bifurkasyon noktasından itibaren, akciğerin hilusuna kadar olan ilk bronşlar, akciğer dokusu dışında yer alan ekstrapulmoner bronşlardır. Akciğerlere hilusdan girdikten sonra organ içinde dallanarak seyreden bölümü ise intrapulmoner

bronşlardır. Bronşlar, akciğerler içersine girdikten sonra çapları küçülerek dallanırlar. Bronşların lümenini respiratorik mukoza kaplar. Lamina epiteliyalisi kadeh hücreli, yalancı çok katlı prizmatik epitel yapısında olup, kinosilyumlara sahiptir. Lamina propriyasında bol miktarda elastik ve kollajen iplikler bulunur. Bu katmanda lenfositlere infiltrasyon ve follikül tarzında rastlanabilmektedir. Lenf folikülleri, vücudun farklı bölgelerinde bulunan mukozal immun sistemin bronş sistemindeki öğeleridir ve bronş ilişkili lenfoid doku (BALT) olarak adlandırılmaktadır. Lamina muskularis katmanı sirküler seyirli birkaç sıralı kas hücrelerinden oluşur. Submukozada glandula bronkalis diye isimlendirilen bezler bulunur. Bronş çapı küçüldükçe bezlerin sayıları da azalmaktadır. Mukoza katmanının dışında başlangıçta parçalı olarak bulunan hiyalin kıkırdaklar, bronş çapı küçüldükçe azalır. Bronşları dışarıdan çevreleyen bağ doku adventisyanın karşılığıdır ve içerisinde bol miktarda kan damarı, lenf damarı ve sinir telleri bulunmaktadır (Eşrefoğlu, 2009; Özer, 2018; Ross et al., 2006).

Bronşların bitmesi ile havayı ileten boruların duvar yapısında bir takım değişimler meydana gelir. Parçalı kıkırdak ve bez yapısının tamamen kaybolması gibi değişiklikler meydana gelir. Bezlerin kaybolduğu yerden itibaren kanal artık bronşçuk adını alır (Eşrefoğlu, 2009; Junquera et al.,2009; Kierszenbaum, 2006; Ovalle et al., 2009; Ross et al., 2006)

2.4.3. Bronşçuklar

Epitel katmanının karakteri değişerek tek katlı prizmatik epitele dönüşür. Kinosilyumlara sahip olan prizmatik hücrelerin arasında kadeh hücreleri bulunur. Bronşçuklar ilerlemeye devam ettikçe prizmatik epitel yerini kübik hücrelere bırakır, kadeh hücreleri ise azalarak kaybolur (Eşrefoğlu, 2009; Junquera et al., 2009). Bronşçukların son bölümlerinde silyumsuz epitel hücreleri artar ve surfaktan madde salgılayan clara hücrelerine dönüşürler. Epitel altındaki bağ doku da oldukça incelik, altında ise elastik iplik ve düz kas hücrelerinden oluşan lamina muskularis kalır. Lamina muskularis ise dışarıdan ince bir bağ dokulu ile sarıdır. Bronşçukların bronşlardan sonraki ilk bölümü bronkulus verus (bronkulus terminalis/kapalı bronşçuk); respiratorik dokuya yakın olan bölümü ise bronkulus alveolaris) olarak isimlendirilir. Bronkulus alveolarisde silyumlu/silyumsuz hücreler ve yassı hücreler bulunurken, kadeh hücreleri kaybolmuştur (Ross et al., 2006; Özer, 2018).

2.4.4. Respiratorik Doku

Sistemin fonksiyonlarını yerine getirmede en önemli bölümüdür. Bu kısımda özelleşmiş yapılar bulunmaktadır. Akciğer lopçukları içerisinde yer alan fonksiyonel ünite alveol denilen yapılardan oluşur. Çok sayıda alveolün birleşmesi ile kese şeklinde bir yapı oluşur ki buna sakkulus alveolaris denir (Kierszenbaum, 2006; Ovalle et al., 2009; Özer, 2018).

Bronşucuların son bölümü olan bronkulus alveolaris, sakkulus alveolarise açılır. Bu kanal benzeri yapı, alveol kesesi içerisinde gerçekte olmayan dukrus alveolaris şeklinde devam eder. Sakkulus alveolarisi oluşturan alveoller, interalveolar septum ile bağlantı halindedir. Alveoller akciğerin süngerimsi dokusunu oluşturur. İnteralveolar septumlarda bağ doku içinde elastik iplikler ve düz kas hücreleri bir arada bulunurlar. Bu yapı havanın alveollerden yani duktus alveolarilerden dışarı verilmesinde önemli rol oynar.

Sakkulus alveolarislerin arasında bulunan bağ doku intersakkulerintersitisyum olarak adlandırılır. Alveol keseleri arasında bulunan bağ doku yapısındaki intersitisyum, birbirine komşu keselerin bazı alveolleri arasında çok incedir ve alveoller birbiriyle ile temas halindedir. Temas halindeki alveoller arasında yer yer porlar bulunur. Böylelikle sakkulusalveolarisler arasında luminal ilişki kurulur (Junquera et al., 2009).

İnteralveoler ve intersakkulerseptumlarda elastik, kollajen ve retikulum iplikleri ile bol miktarda kapillar damarlar bulunur. pulmanalis kolu olan kapillarlar yumak şeklinde alveolü sarar (Junquera et al., 2009; Ross et al., 2006).

Alveoller, oksijen ve karbondioksit değişiminin yapıldığı ünitelerdir. Alveol lümenini çevreleyen epitel tek sıralıdır (Ross et al., 2006). Bu hücrelerin sitoplazmaları oldukça incelmıştır. Alveolü çevreleyen bazal membran ile alveolü çevreleyen damarın bazal mambranı karşı karşıya gelmiştir (Ross et al., 2006, Eşrefoğlu, 2009). Daha sonra da kapillar damar lümenini çevreleyen endotel hücrelerinin sitoplazması ve damar içinde yer alan alyuvarlar bulunur (Ovalle et al., 2009). İçte, alveolü çevreleyen ince sitoplazmalı epitel hücreleri Pnömositlerdir. Bu kısımlardan gaz değişimi gerçekleşir. Kan ile gelen karbondioksitin alveole verilmesi ve soluk almayla alveole gelen oksijenin kana geçmesi son derece incelmış bu duvardan olur. Bu katmanların tümüne ‘ Kan-hava bariyeri’ denir. Alveol duvarında yer alan ikinci grup hücre PnömositII’dir. Bunlar az sayıda olup yuvarlağa yakın, lümene doğru çıkıntılı hücrelerdir (Junquera et al., 2009; Kierszenbaum, 2006).

Organel yönünden zengin olan bu hücreler surfaktan denilen maddeyi salgılar. Surfaktan, antiatletekzik faktör olarak alveollerin epiteli üzerinde bir katman oluşturur. Alveol duvarını gergin tutarak kapanmalarını önler. Ateletekziyi önleyen başka bir mekanizma da interalveolerseptum, intersakkulerseptum, interlobuler alanlar ve bunların subplöral alanda bulunan elastik iplik ve düz kaslarla olan ilişkisidir. Akciğer dokusunda bulunan bir başka hücre de alveol epitelinin altındaki bağ dokuda bulunan alveolermakrofajlardır. Bunlar organizmada mononükleer fagositik sisteme dahil olan hücrelerin akciğerdeki temsilcileridir. Kandaki monositlerden köken alan bu hücreler, alveol epitelileri arasında alveol lümenine çıkarak zararlı maddelerin fagosite ederler (Ross et al., 2006, Eşrefoğlu, 2009).

2. 5. Timokinonun Akciğerler Üzerindeki Etkisi

Timokinon ve akciğerler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda timokinonun akciğerler üzerine koruyucu etkileri olduğu belirtilmiştir (El Gazzaret al., 2006; Güzelsoy et al., 2018). Güzelsoy ve ark. (2018) yaptıkları çalışmalarında; timokinonun siklofosamid, toluen ve bleomisin kaynaklı akciğer hasarını azalttığını, benzopiren kaynaklı mide tümörlerini engellediğini ve gentamisin ototoksitesini engelleyerek koruyucu rol aldığını bildirilmektedir (Güzelsoy et al., 2018). Timokinon'un başlangıç tedavisinin (5 mg/kg) kolon tümörlerinin başlangıç evresinde oluşan 1,2-dimetil hidrazin kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve kolon displazi (anormal doku buyumesi) derecesi ve tümör insidansını düzelttiği bildirilmiştir. Timokinonun uzun süreli tolüene maruziyeti sonrası oluşturulan hipokampal nörodejenerasyon modelinde ise antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Güzelsoy et al., 2018). Ayrıca Güzel ve ark.(2018)'ları yaptıkları çalışmalarında, çörek otu ve timokinonun, radyasyona maruziyetle oluşturulan sıçan beyin dokusundaki nitrosatif strese karşı antioksidan etki gösterdiğini bildirilmiştir (Güzelsoy et al., 2018). Yapılan çalışmalarda timokinonun antienflamatuar etkileri allerjik akciğer inflamasyonlu fare modelinde gösterilmiştir. Timokinonun akciğerdeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, Th2 sitokinleri ve akciğer eozinofilisini azaltarak allerjik astımda, pulmoner inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, serumdaki yükselmiş IgG1 ve ovalbumin (OVA) spesifik IgE seviyelerini de azalttığı tespit edilmiştir (El Gazzar et al. 2006). Bronkoalveoler lavaj sıvısında IFN- γ üretimi indüklediği ve IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimini azalttığı

gösterilmiştir (El Gazzar et al., 2006). El Gazzar ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada timokinonun LT-C4 ve LT-B4 üretimini ve 5-LO ekspresyonunu azaltarak hava yolundaki inflamasyonu düzelttiği bildirilmiştir (El Gazzaret al., 2006).

N.sativa tohumlarından elde edilen uçucu yağın ana aktif bileşeni olan timokinonun enflamasyon ve bronşiyal astım üzerinde immün stimülatör ve antienflamatuar etkili olduğu açıklanmıştır. 2006 yılında yapılan bir çalışmada alerjik astımın bir fare modelinde hava yoluyla bulaşan inflamasyon üzerine timokinonun etkisine bakılmıştır. Ovalbumine duyarlı farelerin hava ile maruziyetinden önce timokinonun intraperitoneal enjeksiyonu akciğer eozinofilinde belirgin bir azalmayla sonuçlanmıştır. Ovalbumin antijeni ile hava yolu ile maruziyet sonrasında yüksek Th2 sitokinleri gözlenmiştir. Hem in vivo bronkoalveolar lavaj sıvısında hem de in vitro da ovalbuminli akciğer hücrelerinin stimülasyonu saptanmıştır. Timokinon ayrıca ovalbumine özgü IgG1'in yüksek serum seviyelerini düşürmüştür. Akciğer dokularının histolojik çalışmaları göstermiştir ki, timokinon allerjen indüklü akciğer eozinofilik inflamasyonu ve mukus üreten goblet hücrelerini önemli ölçüde inhibe etmiştir (El Gazzaret al., 2006). Timokinonun IL4, IL5 ve IL13 inhibisyonunda önemli ölçüde etkili olduğu gösterilmiştir. Timokinonun BAL sıvısındaki IFN- γ üretiminin indüksiyonunda bazı etkilere sahipken, ovalbumin antijeni ile stimule edilmiş akciğer hücrelerinin kültüre alınması yoluyla IL4'ün in vitro üretimi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı çalışma sonucunda gösterilmiştir. Bu verilere dayanarak timokinonun Th2 sitokinlerin inhibisyonu yoluyla alerjik havayolu ile bulaşan inflamasyonu ve havadaki eozinofilin filtrasyonunu azalttığı ileri sürülmektedir. Bu durum timokinonun, akciğerlerdeki alerjik cevap sırasındaki potansiyel antienflamatuar rolünün varlığını göstermektedir (El Gazzar et al., 2006).

Moleküler düzeyde, TGF-21, α -SMA, kollajen 1a1 ve kollajen 4a1 genlerinin ifadeleri de timokinon tarafından kontrol seviyesine geri döndürülmüştür. Bu çalışma ile, timokinonun oksidatif stresin inhibisyonu ve profibrotik genlerin aşağı regülasyonu ile akciğer fibrozisinin tedavisi için önleyici ve terapötik potansiyele sahip olduğunu gösterilmiştir (Fatemeh et al., 2016).

2.5.1. Timokinonun İmmünmodülatör Etkisi

Timokinonun immunmodülatör etkilerini araştırmak amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan bir in vivo çalışmada N. sativa yağı ile dört hafta tedavi gören deneklerin çoğunda CD4/CD8'de %55 oranında artış ve NK hücre fonksiyonlarında

%30 artış görülmüştür (Salem, 2005). N. sativa proteinlerinin İnsan periferal kan mononükleer hücreleri (PBMC)'nin B hücre mitojenleri LPS ve PWM cevaplarını baskıladığının bulunduğu daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanılarak N. sativa bileşenlerinin B hücre mediyatörlerinin immüniteyi downregüle etme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (Haq et al., 1999; Salem, 2005). İnsan periferal kan mononükleer hücreleri (PBMC)'si kullanılarak N. sativa tohum proteinlerinin sitokin üretimi üzerine etkilerini araştırmak amacı ile Haq ve ark. nın (1999) yapmış oldukları çalışmalarında; proteinlerin allojenik hücreler varlığında ya da yokluğunda kültüre alındığında lenfositler tarafından IL-3 ve IL-1'in üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Bu artışın N. sativa proteinlerinin saf hücrelerinin kendisi üzerinde stimülatör etkisinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ancak aynı çalışmada, aynı üretim şartları altında N. sativa tohumlarının saf ekstresinin ya da çözünebilir fraksiyonlarının IL-2 ve IL-4'ün üretimi üzerine hiçbir etki göstermediği bildirilmiştir (Haq et al., 1995). N. sativa proteinleri aktive olmamış PBMC'de IL-8 üretimini baskılamıştır. Abuharfeil ve ark. (2001) yılında yaptıkları çalışmalarında, N. sativa tohumlarının sulu ekstrelerinin 1 haftalık oral uygulaması sonrasında splenik NK hücre sayısını ve onların YAC-1 tümör hatlarına karşı sitotoksitelerini yaklaşık iki kat arttırdığını rapor etmişlerdir (Abuharfeil et al., 2001). İlave olarak N. sativa yağının streptozotosin indüklü diyabetlilere 6 hafta oral verilmesi belirgin faydalı etkiler sağlamıştır. Peritoneal makrofajların aktivitesinde artma, periferal kanda diyabetik hamsterlarla kıyaslandığında lenfosit sayısında da artış olduğu saptanmıştır (Salem, 2005).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları

Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütüldü. Çalışma materyali olarak 35 adet SpragueDawley ırkı erişkin dişi rat kullanıldı. Ratlar, Deney 1, Deney 2, Deney 3, Deney 4 ve Kontrol olarak 5 gruba ayrıldı ve her grup 7'şer rattan oluştu. Ratlar ad libitum, pelet şeklinde standart rat yemi ile beslenerek, içme suyunu serbest olarak tüketerek ve 12 saat aydınlık /12 saat karanlık periyodunda, 21-23 ° C sıcaklık ve %50-60 nem içeren ortamda bakıldı. Ratların her timokinon uygulaması öncesinde canlı ağırlıkları tartıldı ve uygulanacak olan timokinon miktarı belirlendi.

Deneysel Onay No: 2015/51

Ratlar, 1. grup (Deney 1)

2. grup (Deney 2)

3. grup (Deney 3)

4. grup (Deney 4)

5. grup (Kontrol) olmak üzere 7'şer rattan oluşan 5 gruba ayrıldı ve deney 42 gün sürdürüldü.

3.2. Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması

1. Gruptaki (Deney 1) ratlara 1ml/kg dozdaki timokinon, etanol ve serum fizyolojik 1/1 (v/v)de hazırlanarak intraperitoneal (ip) olarak 42 gün süre ile her gün düzenli olarak enjekte edildi.

2. Grupdaki (Deney 2) ratlara 2ml/kg dozdaki timokinon, etanol ve serum fizyolojik 1/1 (v/v)de hazırlanarak intraperitoneal (ip) olarak 42 gün süre ile her gün düzenli olarak enjekte edildi.

3. Grupdaki (Deney 3) 10mg/kg dozda timokinon ağızdan gavaj sonda yardımı ile uygulandı.

4. Gruptaki (Deney 4) 20 mg/kg dozda timokinon ağızdan gavajsonda yardımı ile uygulandı.

5. Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı.

3.3. Hayvanların Canlı Ağırlık Ölçümü, Organların Alınması, Tespit ve Takip

Çalışma sonunda ratların canlı vücut ağırlıkları tartılacak, ketamin+ ksilazin anestezisi altında ratlarsakrifiye edildi. Ardından ratlara ait akciğer dokuları alınarak tespit edildi.

Tüm gruplara ait ratların akciğer dokuları 24 saat süre ile %10'luk Tamponlu Formaldehit tespit solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibi prosedürleri uygulanarak, dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ'luk kesitler alındıktan sonra normal histolojik yapının incelenmesi için Crossmon'ın üçlü

boyama tekniği kullanıldı (Crossmon, 1937). Ayrıca parafin bloklardan alınan 5 µ'luk doku kesitlerinde IL-2 ve IFN-gama'ların varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi. Elde edilen preparatlar Nikon E-80İ araştırma mikroskobu altında ve Nikondigital-sight görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı. İmmunohistokimyasal değerlendirmeler boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı (True, 1990).

3.4. İmmunohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan alınan 5 µ'luk akciğerkesitlerinde IL-2 ve IFN-γ'ların varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi.

3.4.1. Gereçler

Antikor sulandırma solüsyonu

Primer antikorların istenilen konsantrasyona sulandırılması sırasında Zymed firmasına ait 00-3118 kod numaralı Antibody diluent reagent solution kullanıldı.

Protein Bloklama Solüsyonu

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'inbloklama solüsyonu kullanıldı.

Primer Antikor

Çalışmada, Biont firmasına ait IL-2 (Biont, YID5405) ve IFN γ (Biont, 2791) rabbit poliklonal primer antikorları kullanıldı. IL-2 antikorunu 1:750, IFN gama antikorunu 1:500 oranında antikor sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı.

Sekonder Antikor

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'inbiotinligoat anti-rabbit antikorunu kullanıldı.

StreptavidinPeroksidaz

Zymed firmasına ait, kullanıma hazır, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in HRP-Streptavidin biotin peroksidazı kullanıldı.

Kromojen

Zymed firmasına ait 31079800 kodlu 3,3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) kromojen ve substratlar kullanıldı.

DAB kromojen ve DAB substrat karışımından (1ml distile suya 1, 2 ve 3 numaralı substrattan 1'er damla karıştırılarak) dokuların üzerini kapatacak şekilde preparatlara damlatılarak 10 dakika beklendi. Bu solüsyon immunositokimyasal boyama sırasında taze olarak hazırlandı ve hazırlandıktan hemen sonra kullanıldı.

İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Solüsyonlar

Poly-L-lysine Solüsyonu

İmmunohistokimyasal boyamalarda kullanılacak olan lamlar, distile su içerisinde %15'lük Poly-L-lysine (Sigma P 8920) solüsyonu içerisinde 10-15 dakika bekletildi ve 37°C'lik etüvde bir gece kurutuldu. Ertesi gün kesitler bu lamlara çekildi.

Phosphate Buffered Saline (PBS) Solüsyonu

İmmunohistokimyasal boyamalar sırasında bütün yıkamalar için kullanılan PBS solüsyonu, sodyum klorürden (Merck,1.064.0100) 7,2 g, di-sodyum hidrojen fosfattan (Merck,1.06586.0500) 1,48 g, sodyum dihidrojen fosfat monohidrattan (Merck, 1.06346.0100) 0,43 g tartılarak 1 l distile su içinde eritilerek hazırlandı

Hidrojen Peroksit Solüsyonu

Dokulardaki endojen peroksiti ortadan kaldırmak üzere distile su içerisinde %3'lük hidrojen peroksit (6 ml hidrojen peroksit + 64 ml distile su) (Merck 1.08600.1000) solüsyonu hazırlandı.

Sitrat Buffer Solüsyonu

Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için 1000 ml distile suya 2,1 g Sitrik asit (Merck, 1.00242.1000) eklenip karıştırıldı.

İmmunohistokimyasal Boyama Prosedürü

Streptavidin- Biotin- Peroksidaz yöntemine göre yapılan boyamada;

- 1- Polilizinli lama çekilen dokular 37° C lik etüvde kurutuldu.
- 2- Deparafinizasyon işlemi için, dokular ksilole alındı (2x10 dakika).
- 3- Kesitler %100'lük alkol (2x5 dakika), %96'lük alkol (2x5 dakika), %80'lik ve %70'lik alkol (5 dakika) solüsyonlarından geçirildi.

4- Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için sitratbuffer (pH:6) solüsyonu içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık devirde, 3 defa olmak üzere 5'er dakikalık ısıtma işlemine tabi tutuldu. Daha sonra sitrat buffer solüsyonu içersindeki kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı.

5- Sitrat buffer solüsyonundan çıkarılan kesitler PBS ile yıkandı.

6- Endojenperoksidaz aktivitesini önlemek için, dokular %3'lük hidrojen peroksit (6ml H₂O₂ + 64 ml distile su) solüsyonu içersinde 10 dakika inkübe edildi.

7- Kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.

Bundan sonraki aşamalarda kesitlerin kurummasını önlemek amacı ile kesitler chamber içerisine konuldu.

8-PBS solüsyonundan çıkarılan dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra üzerlerine protein bloke edici solüsyon damlatıldı ve 60 dakika beklendi.

9- Kesitler yıkanmadan üzerlerine 1/500 ve 1/750 oranında sulandırılmış primer antikorlar damlatılarak (30µl), 4°C de 1 gece bekletildi. Bu arada negatif kontrol grubu dokuları bloking solüsyonunda bekletildi.

10- Daha sonra kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.

11- PBS'den çıkan kesitlerin üzerine Biotin damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi ve sonra dokular PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.

12- PBS'den çıkan dokular üzerine streptavidin-biotin-peroksidaz-kompleks damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakikainkübe edildi.

13- DAB kromojen ve DAB substrat karışımından (1ml distile suya 1, 2 ve 3 numaralı substrattan 1'er damla eklenerek) kesitlerin üzerini kapatacak şekilde preparatlara damlatılarak 5 dakika beklendi.

14- Daha sonra kesitler distile su ile yıkandı.

15- Distile sudan çıkan kesitler çeşme suyunda yıkandı.

16- Daha sonra kesitler çekirdek boyaması için 10 sn. Harris hematoksilin solüsyonunda bekletildi.

17- Hematoksilin solüsyonundan çıkan dokular çeşme suyu ve distile suda yıkandı.

18- Yıkama işleminden sonra dokular dereceli alkollerden (%96, 100) geçirilerek ksilole alındı (3x10 dakika).

19- Kesitler üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Değerlendirme

İmmunhistokimyasal değerlendirme; akciğerlerdeki bronşlar ve bronşçukların epitel hücreleri, bronş ve bronşçukların duvar yapısı ve alveol epitel hücrelerinin boyanma yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme bağımsız gözlemciler tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı.

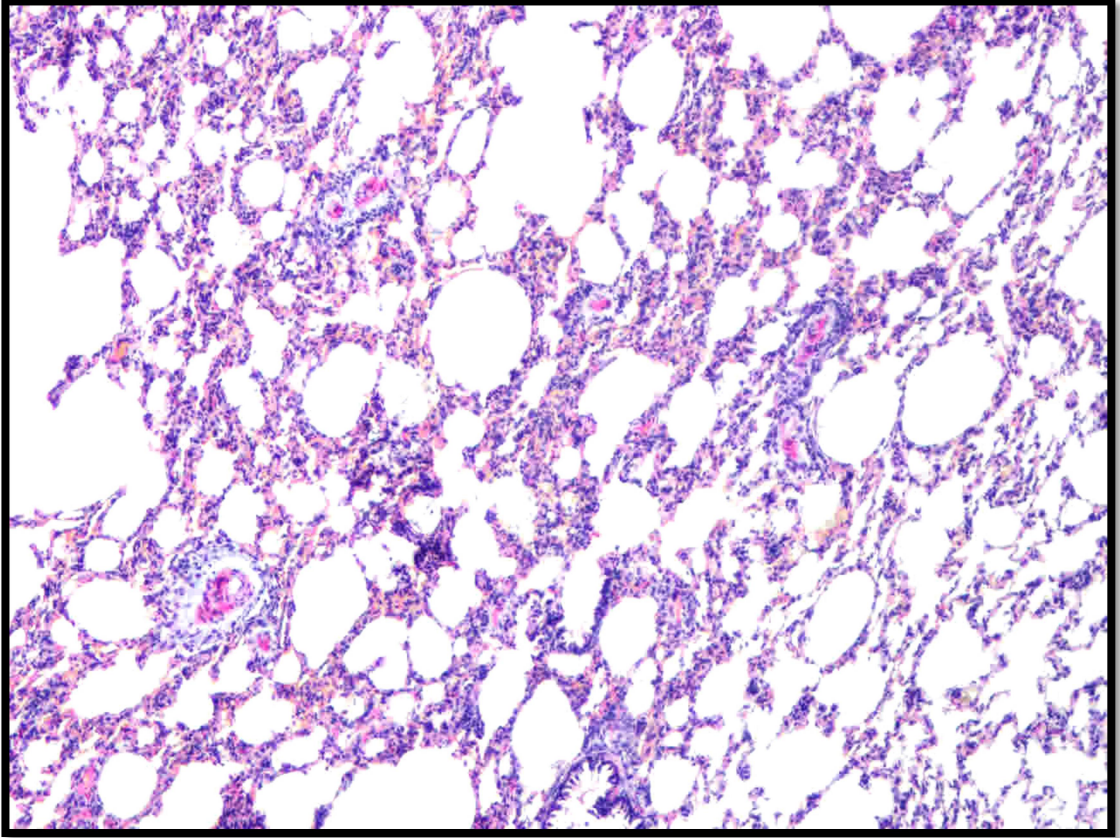
4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular;

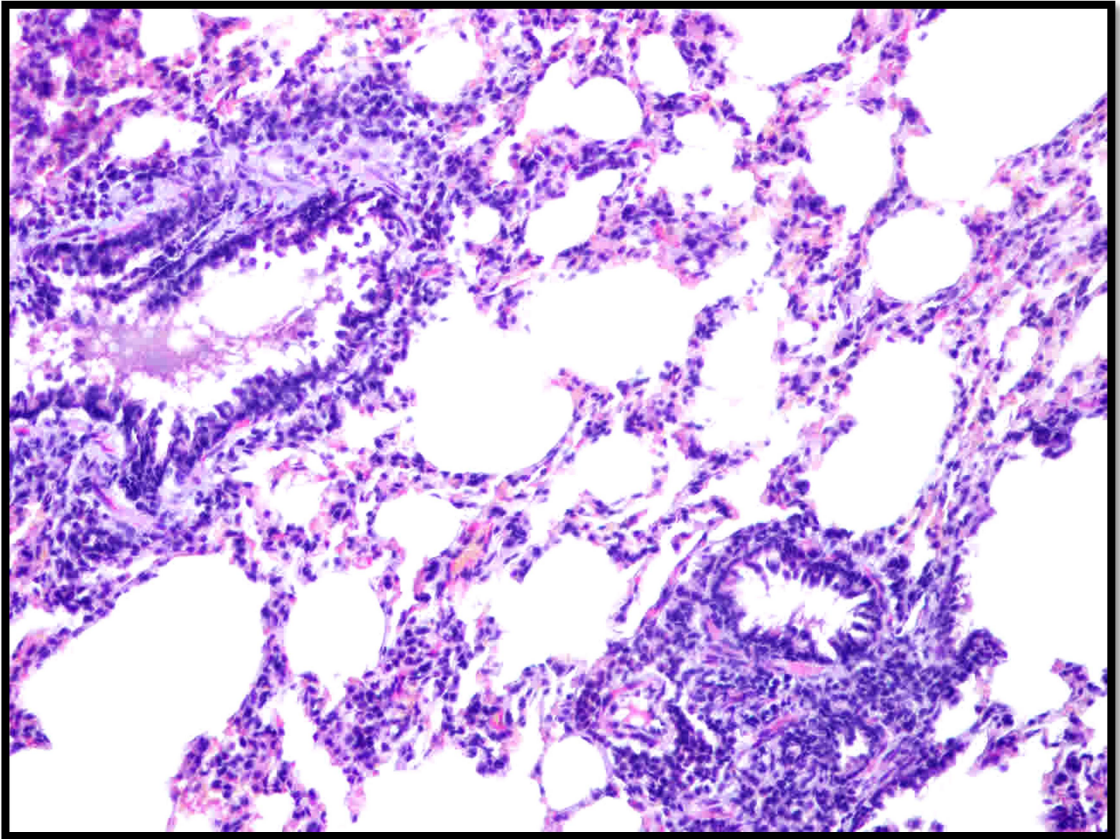
Akciğer dokusu incelendiğinde; organın dıştan fibröz bir kapsülle sarılı olduğu belirlendi. Organa özgü alveoler yapı, bronş, bronşçuklar (bronşiyol) ve damarlar net olarak belirlendi.

Organ; bronş, bronşçuk, alveoller yönünden incelendiğinde gruplar arasında bazı morfolojik farklılıklar tespit edildi.

Kontrol Grubu: Genel olarak akciğerler incelendiğinde; interalveolar septal dokuda kalınlaşma, alveol yapılarında yer yer çok hafif derecede dejenerasyonlara rastlanıldı. Bronşiyollerin duvarlarında ve interalveolar bölgede yoğun lenfosit infiltrasyonları ve bazı bölgelerde follikül tarzında lenfosit odakları saptandı. Ayrıca bronş ve bronşiyollerin epitel dokularında da doku bütünlüğünün hafif derecede bozulmuş olduğu belirlendi (Şekil 3,4).

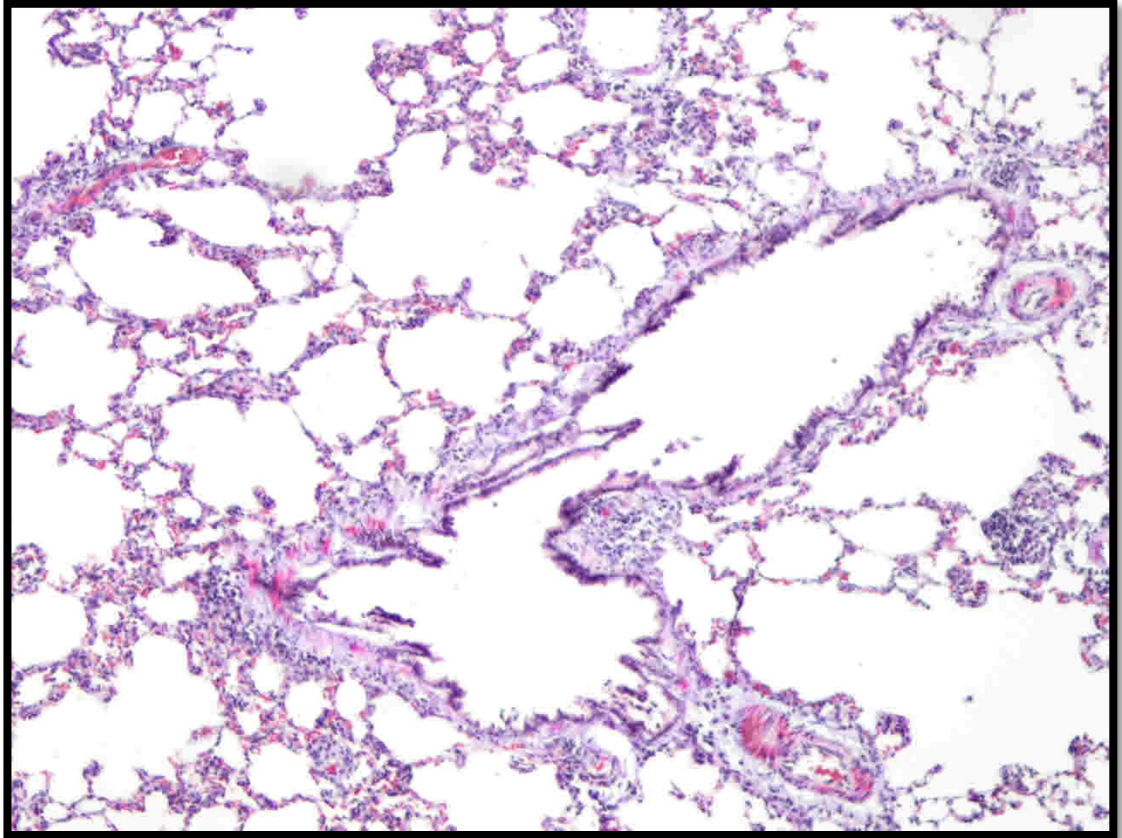


Şekil 3. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif

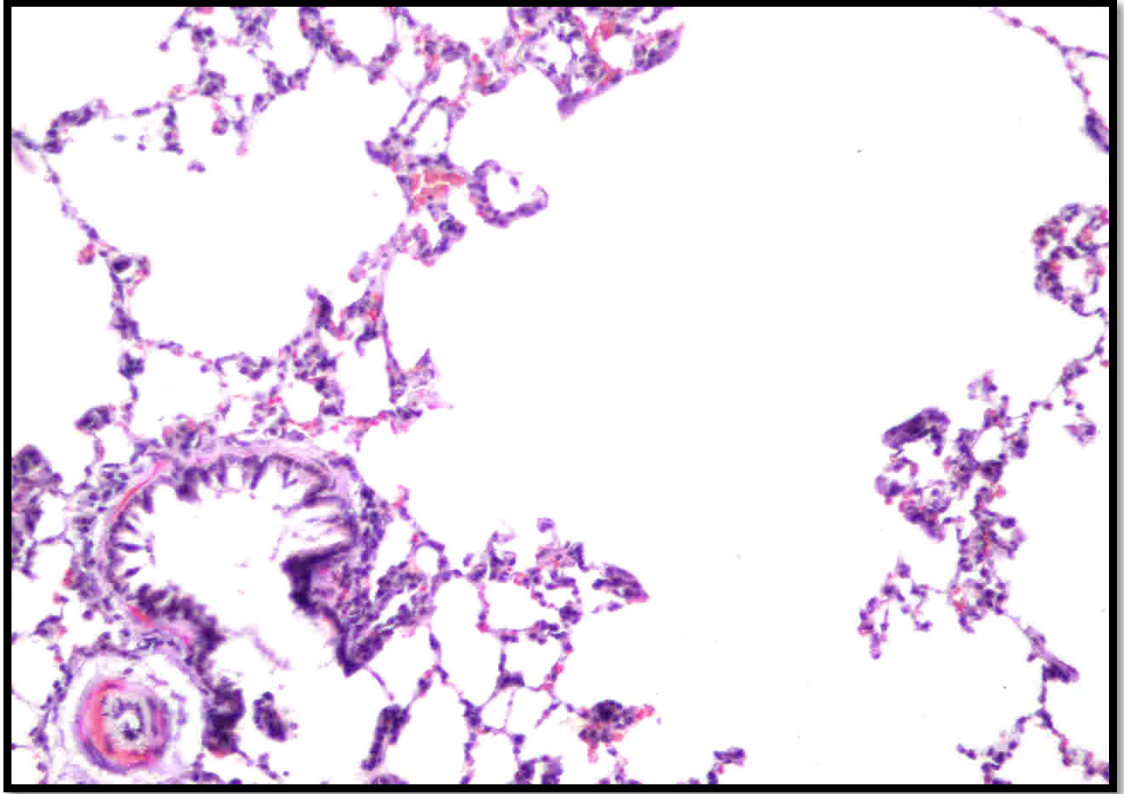


Şekil 4. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 20'lik objektif

I.Grup: Preparatlar değerlendirildiğinde; alveolar yapının, interalveolarseptal dokunun kontrol grubuna göre normal olduğu belirlendi. Bronę ve bronęiyollerin yapısı genel olarak kontrol grubundaki yapıya benzerdi. Lenfosit infiltrasyonlarında belirgin azalma olduğu tespit edildi (ęekil 5,6).

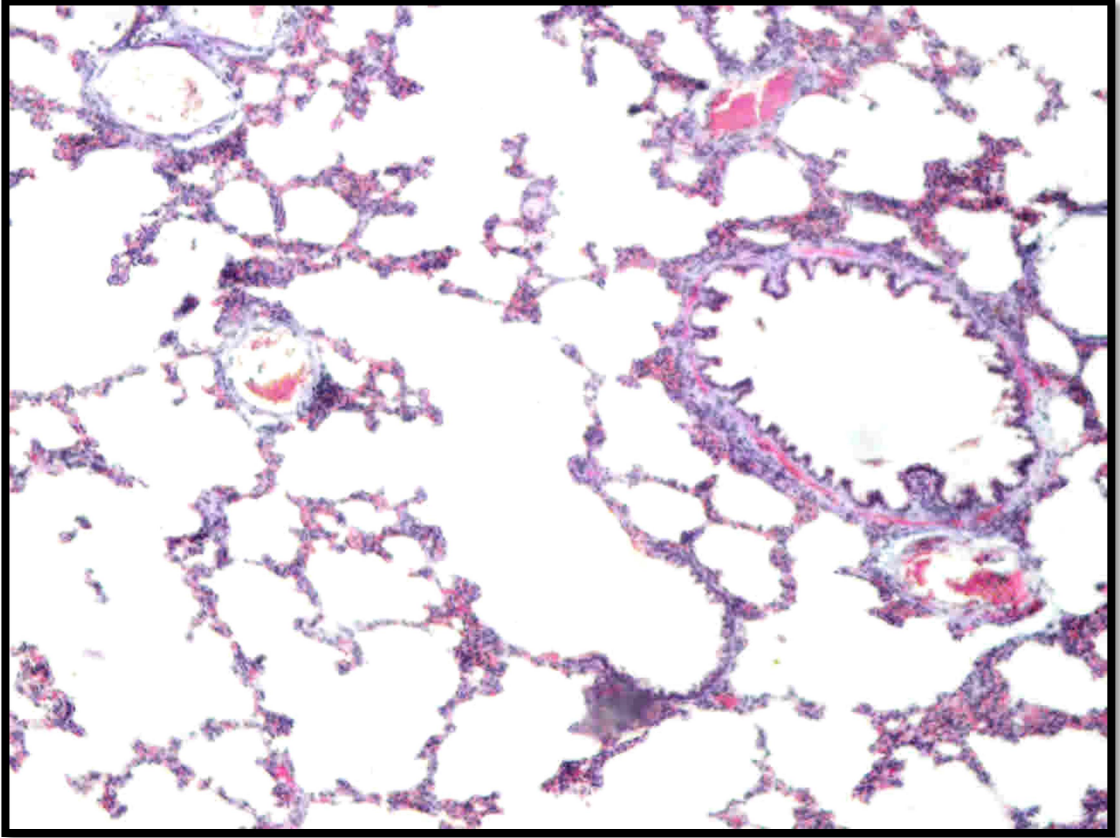


ęekil 5. 1ml/kg (ip)timokinon akciğer genel görünüm, l boyama x 10'luk objektif

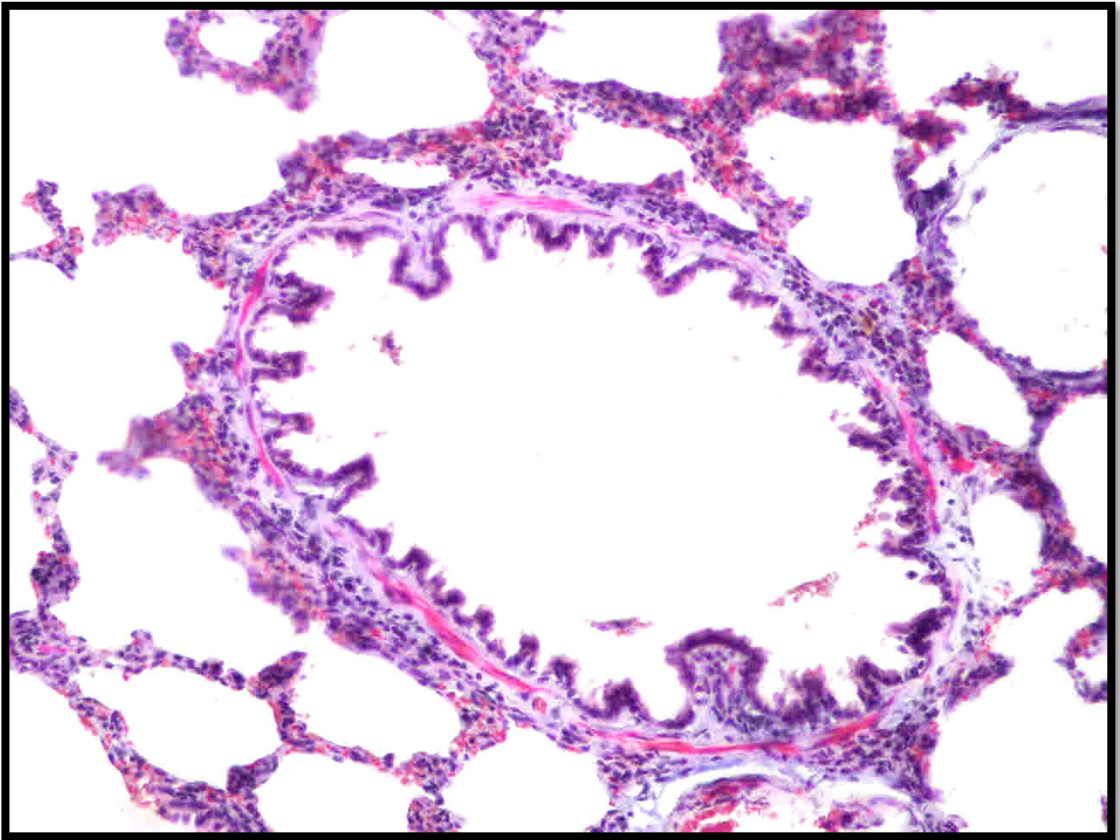


Şekil 6.1ml/kg (ip)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 20'lik objektif

II. Grup: Doku incelendiğinde bronş ve bronşiyollerin epitellerinde yer yer dejenerasyonların varlığı tespit edildi. Lenfosit infiltrasyonlarının ve bronşiyol epitellerindeki dejenerasyonların kontrol grubuna göre oldukça azalmış olduğu belirlendi. (Şekil 7,8).

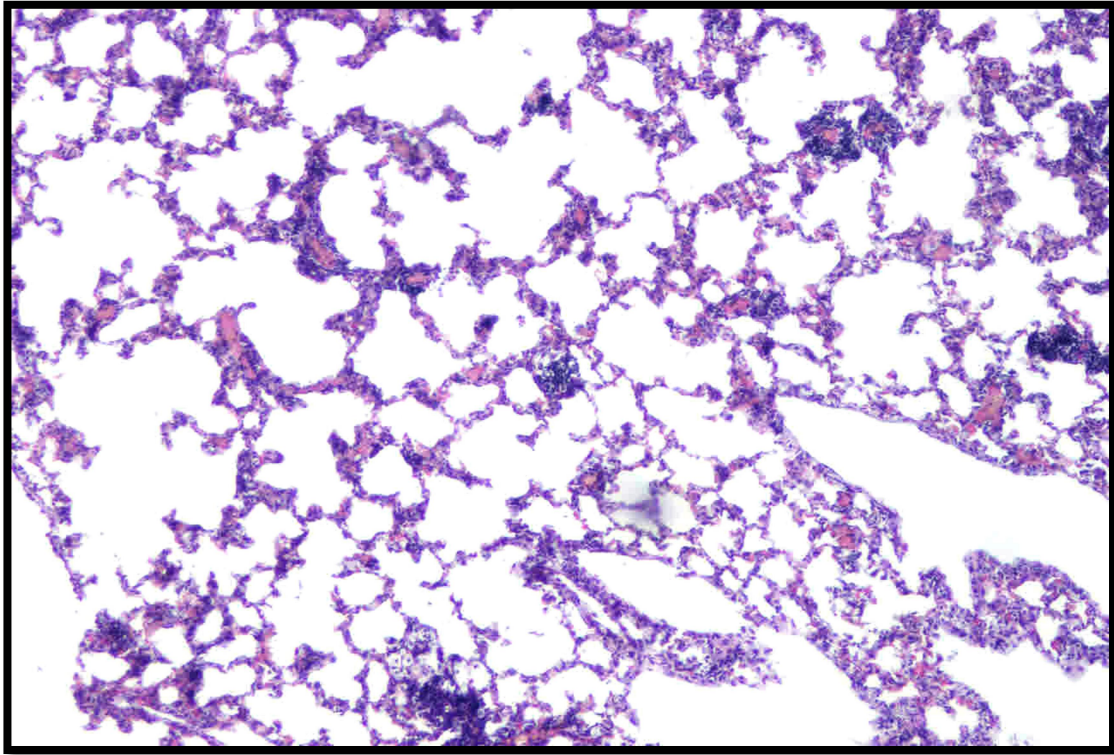


Şekil 7. 2 ml/kg (ip)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif

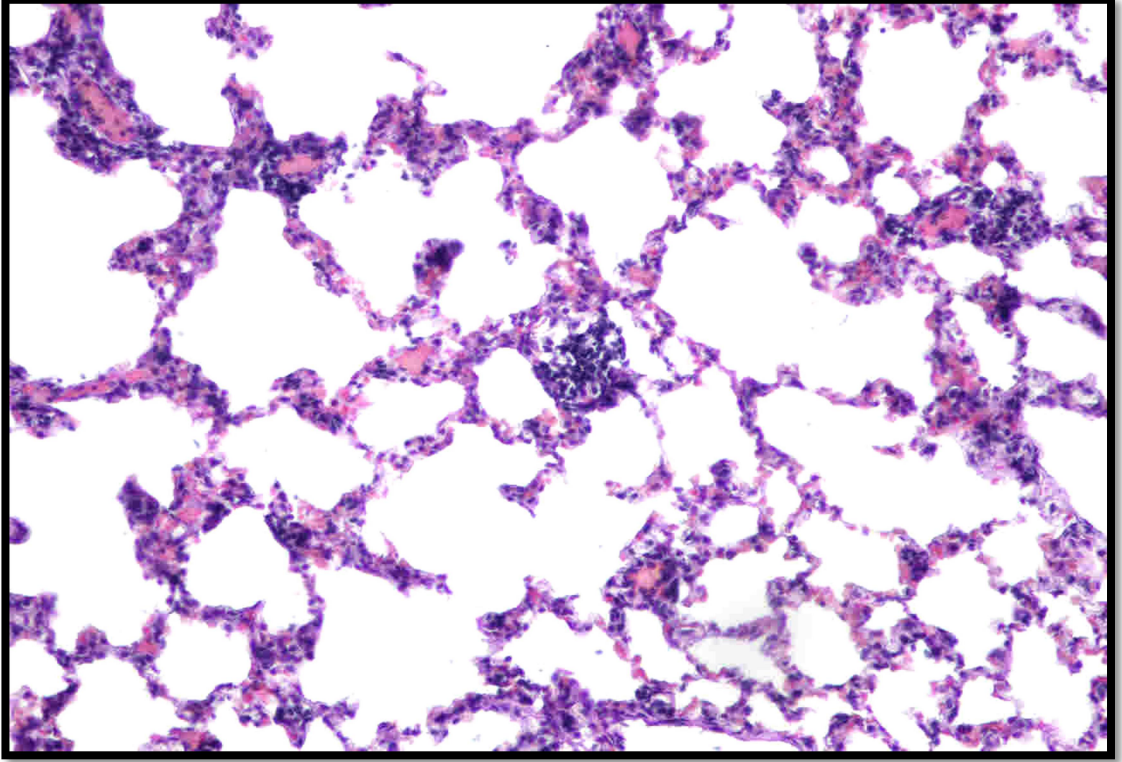


Şekil 8. 2ml/kg (ip)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 20'lik objektif

III. Grup: Preparat genel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubunun bulgularına benzer bulgular gözlendi. İnteralveolar septal dokuda kalınlaşma ve alveol yapılarında yer yer çok hafif derecede dejenerasyonlara rastlanıldı. Bronşiyollerin duvarlarında ve interalveolar bölgede yoğun lenfosit infiltrasyonları ve bazı bölgelerde follikül tarzında lenfosit odakları saptandı. Ayrıca bronş ve bronşiyollerin epitel dokularında da doku bütünlüğünün hafif derecede bozulmuş olduğu belirlendi (Şekil 9,10).

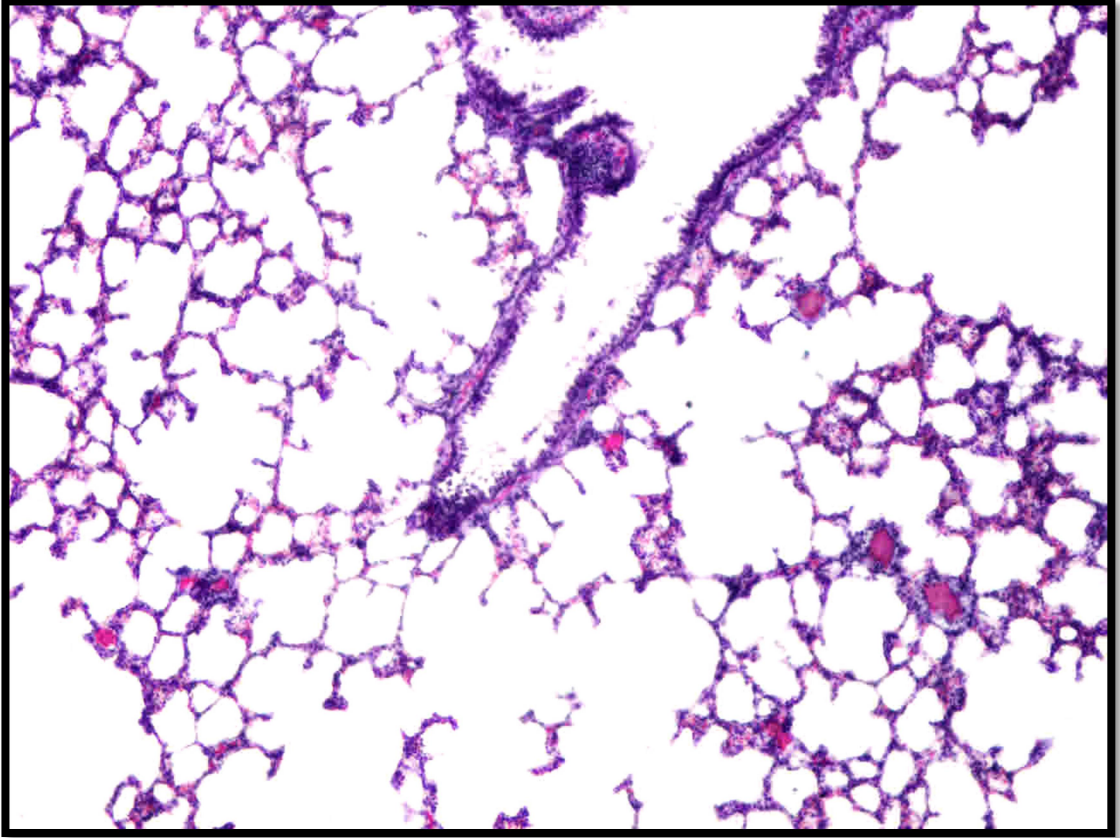


Şekil 9. 10 mg/kg (gavaj)timokinon akciğer genel görünüm, l boyama x 10'luk objektif

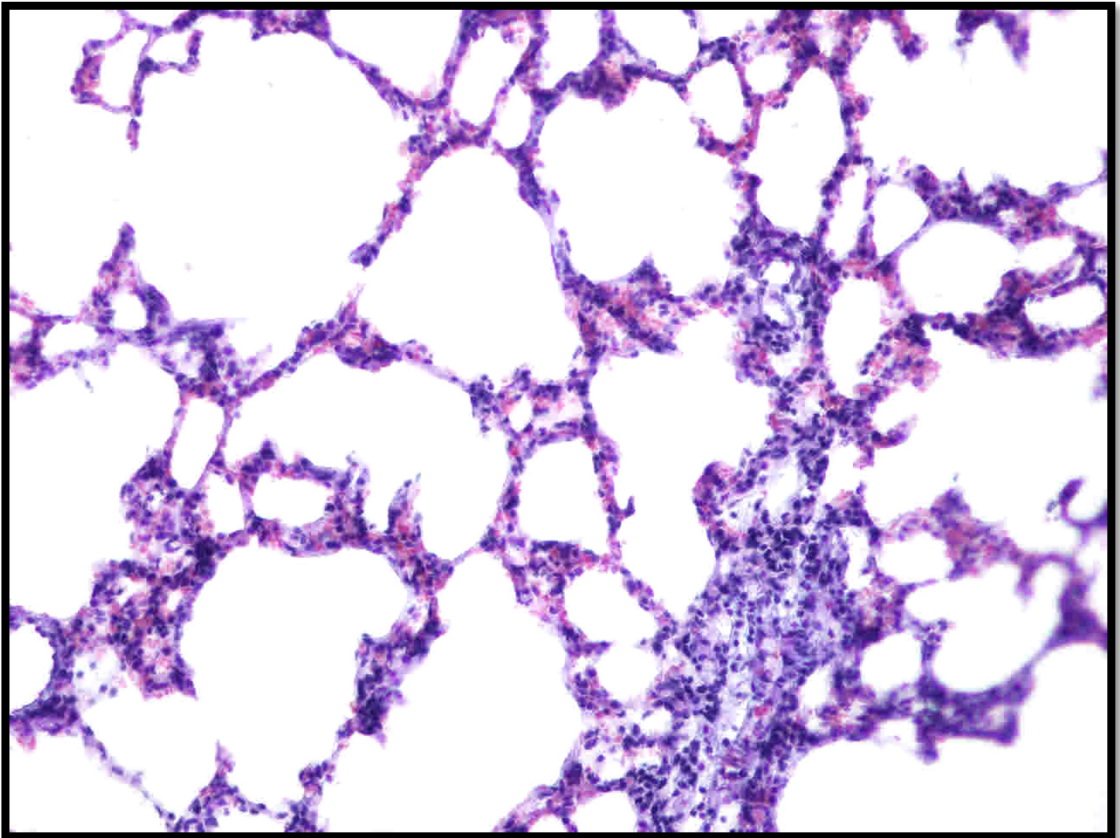


Şekil 10. 10 mg/kg (gavaj)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 20'lik objektif

IV. Grup: Doku incelendiğinde bronş ve bronşiyollerin epitellerinde yer yer dejenerasyonların varlığı tespit edildi. Lenfosit infiltrasyonlarının ve bronşiyol epitellerindeki dejenerasyonların kontrol grubuna ve üçüncü gruba göre daha hafif olduğu belirlendi (Şekil 11,12).



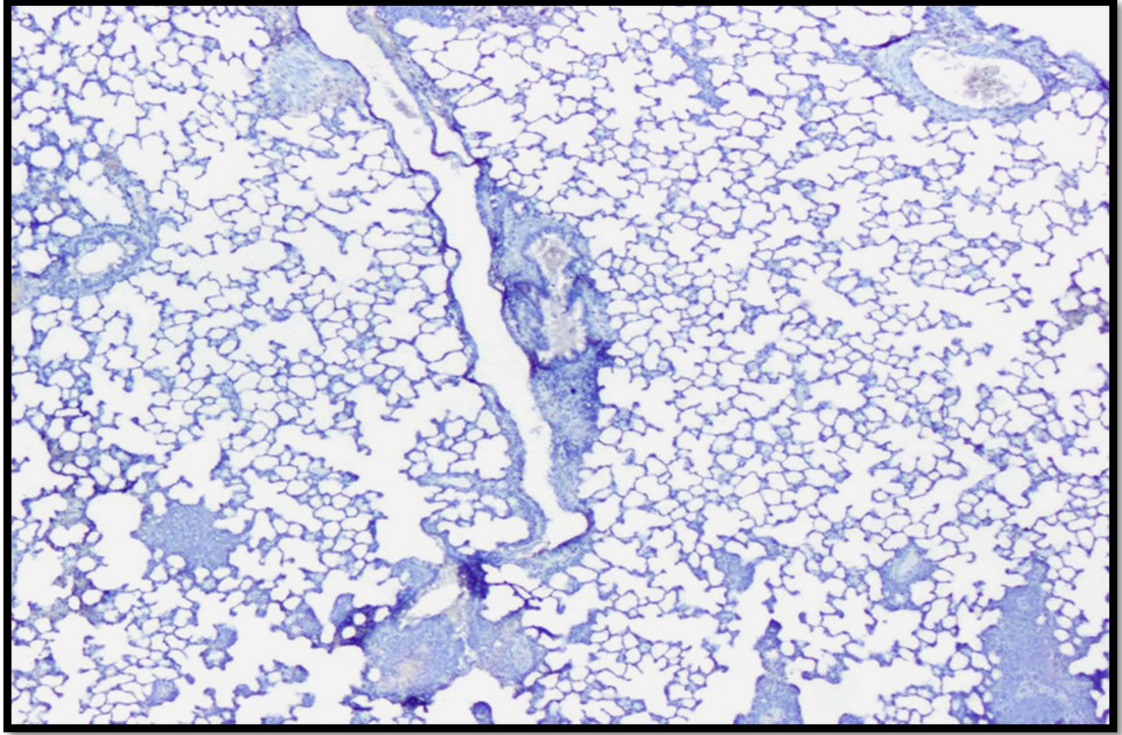
Şekil 11. 20 mg/kg (gavaj)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif



Şekil 12. 20 mg/kg (gavaj)timokinon akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 20'lik objektif

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular;

İmmunohistokimyasal olarak IL-2 ve IFN γ gama ekspresyonunu belirlenen tüm gruplara ait akciğer preparatlarının değerlendirilmeleri, bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinin, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerin ve alveol duvarında bulunan hücrelerin reaksiyon yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme bağımsız gözlemciler tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0 ile 3 puanları arasında değerler verilerek yapıldı (True,1990). Tüm gruplarda bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında bulunan hücrelerde farklı şiddette boyanma reaksiyonları gözlemlendi. Negatif kontrol preparatlarında herhangi bir boyanma gözlenmedi (Şekil 13).



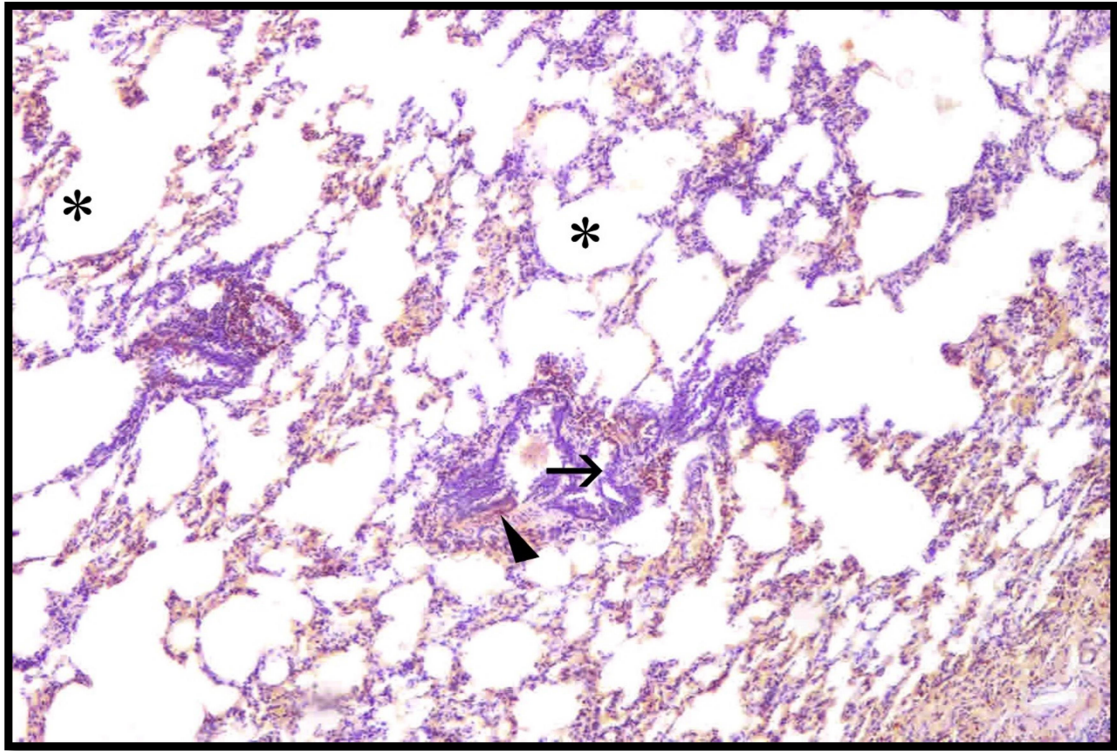
Şekil 13: Negatif kontrol x10

IL-2; Gruplara ait preparatlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde immun pozitif reaksiyonların genellikle bronş ve bronşiyollerinepitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında farklı şiddetlerde olduğu gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde; en yoğun

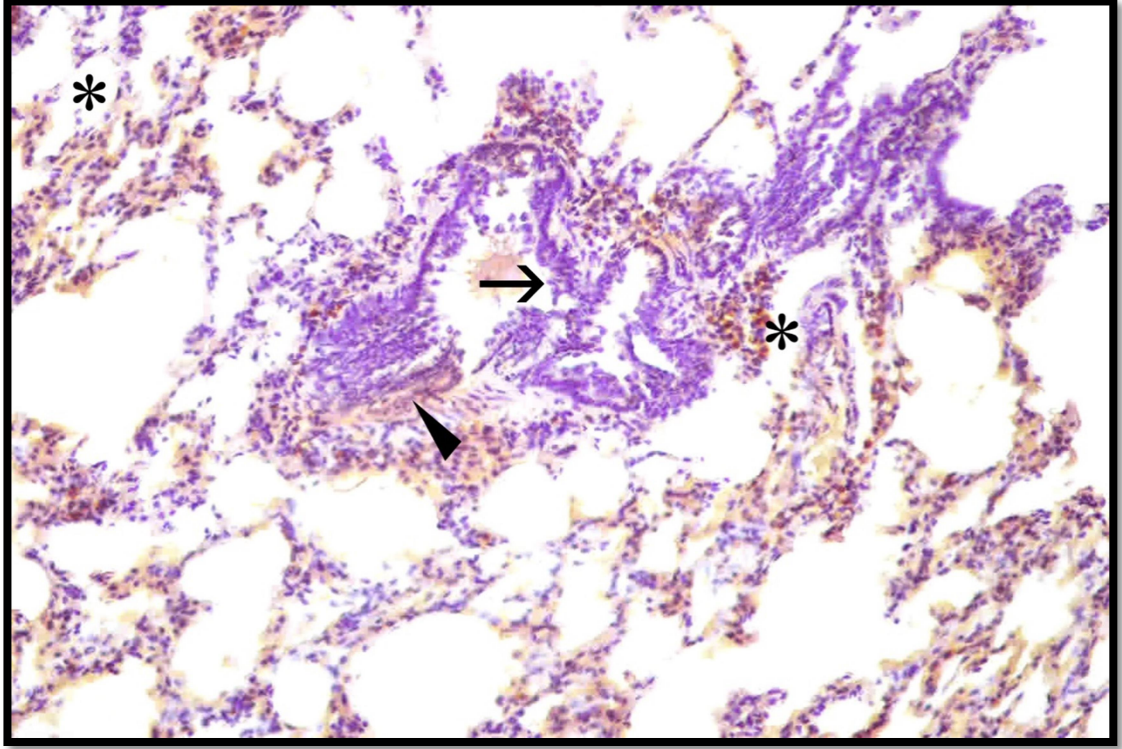
reaksiyonların kontrol grubunda olduğu, diğer gruplarda ise daha hafif immun reaksiyonlar olduğu belirlendi.

Grupları kendi içlerinde değerlendirdiğimizde ise;

Kontrol Grubu: Preparat değerlendirildiğinde; bronş ve bronşiyol epitellerinde zayıf; duvarlarında ise orta şiddette immun pozitif reaksiyonlar tespit edildi. Alveol duvarında ise diğer bölgelere göre daha güçlü reaksiyonların olduğu tespit edildi. (Şekil 14,15, Tablo 1)

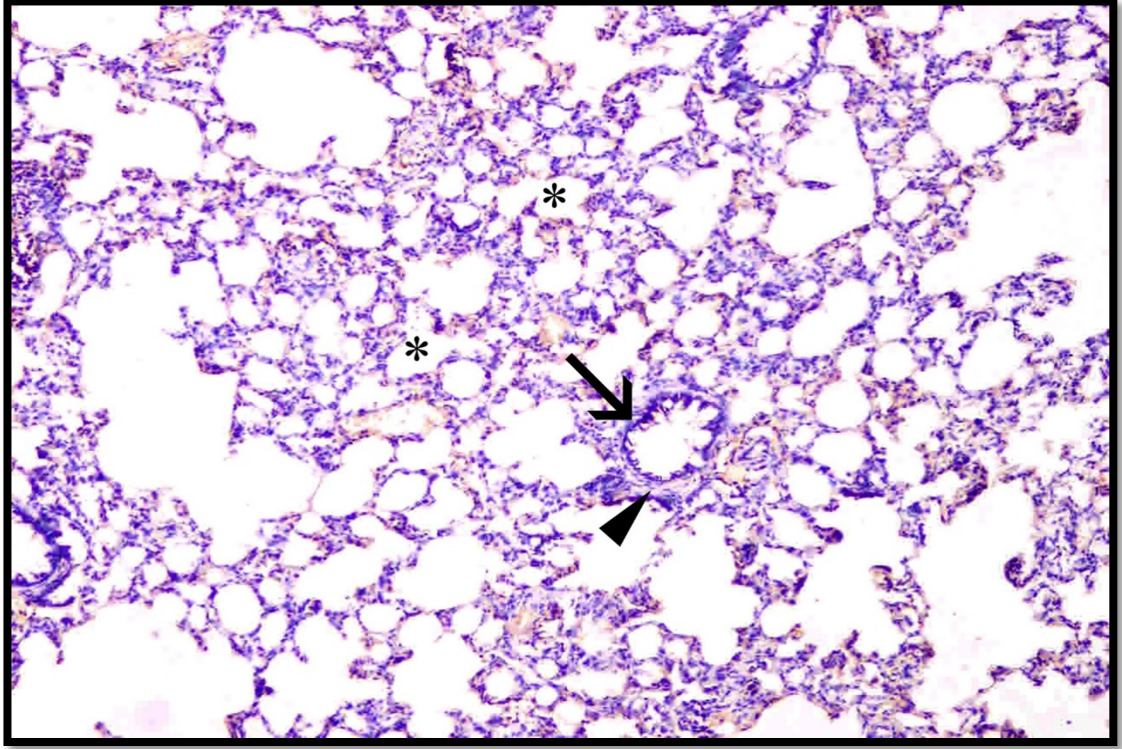


Şekil 14: Kontrol grubu IL-2 ekspresyonu x 10'lük objektif
Ok: bronş ve bronşiyol epiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

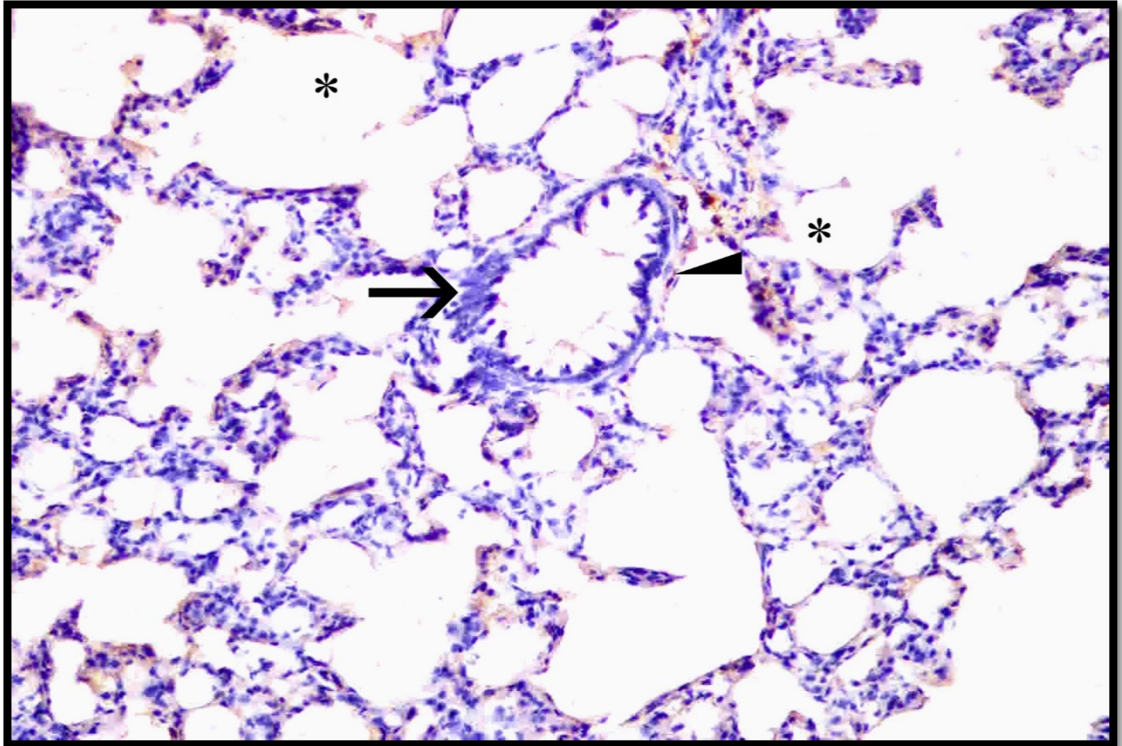


Şekil 15: Kontrol grubu IL-2 ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

1. Grup: Akciğer dokusu ayrıntılı olarak incelendiğinde; bronş ve bronşiyolepitellerinde ve duvarlarında birbirlerine benzer olarak çok hafif şiddette immun reaksiyonlar gözlenirken, alveol duvarında ise bronşiyollere oranla daha yoğun pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 16,17, Tablo 1)

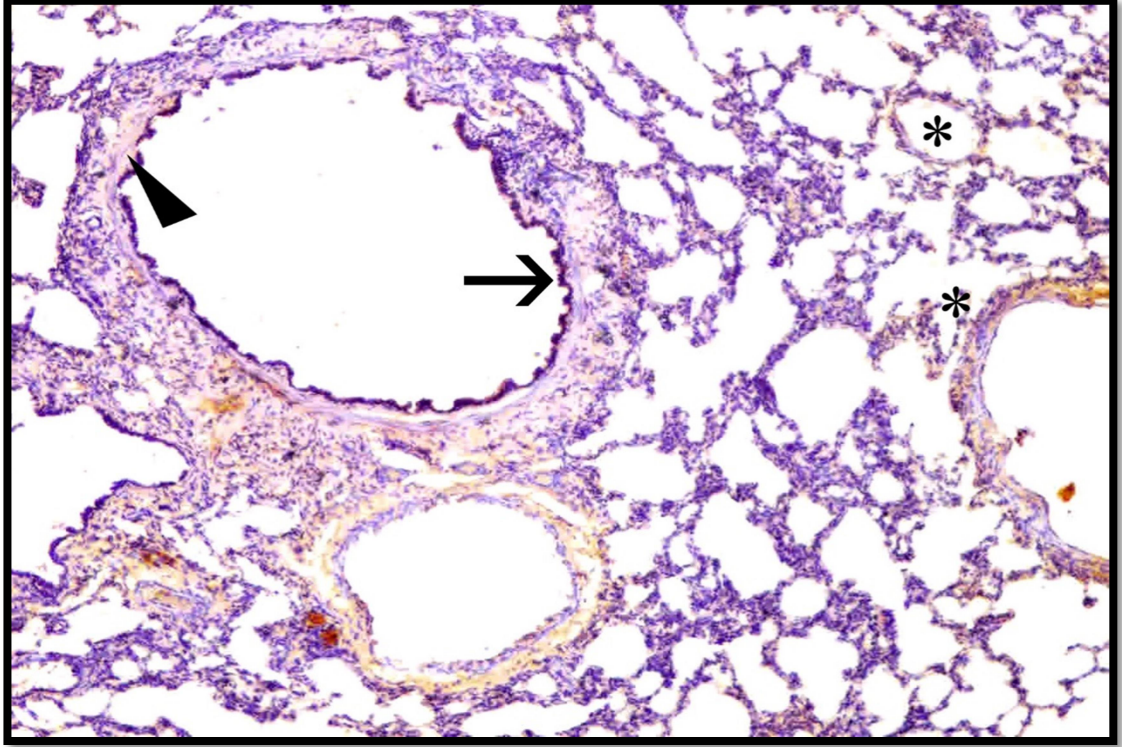


Şekil 16:1 ml/mg timokinon (ip) grubuIL-2 ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

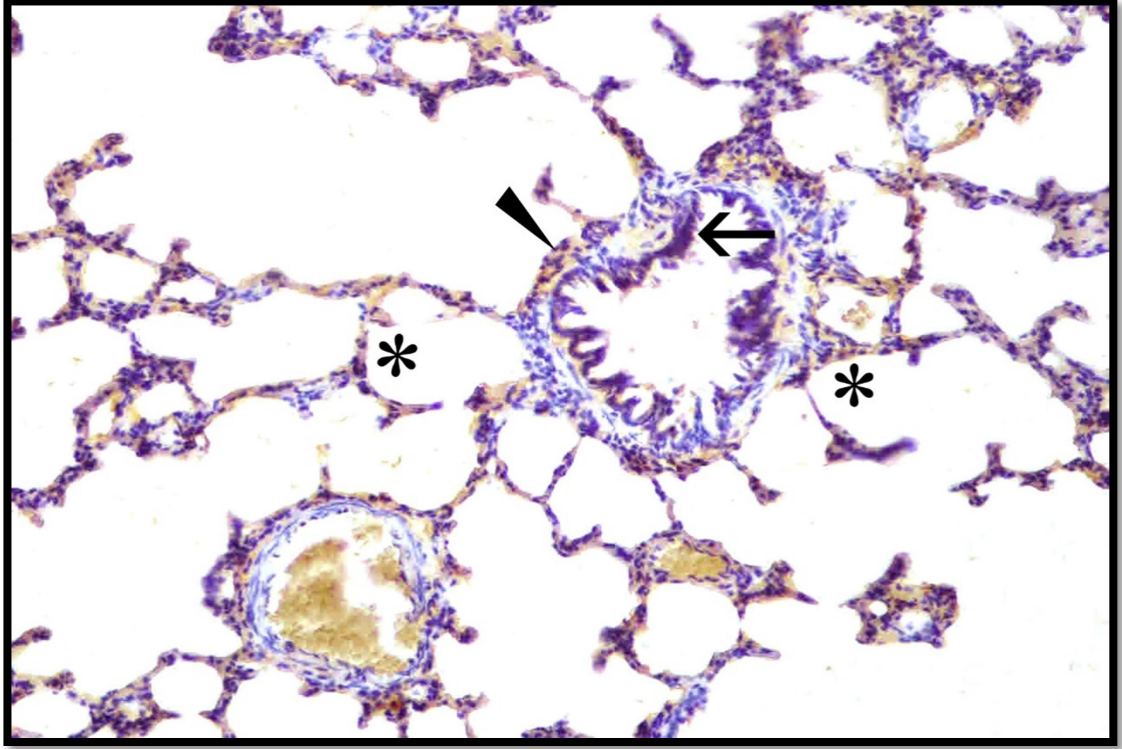


Şekil 17:1 ml/mg timokinon (ip) grubuIL-2 ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

2. Grup: Bronş ve bronşiyol epitellerinde hafif şiddette immun reaksiyonlar gözlenirken, bronş ve bronşiyol duvarlarında çok hafif reaksiyon olduğu belirlendi. Alveol duvarına baktığımızda ise orta şiddette immunpozitif reaksiyonlar tespit edildi. (Şekil 18,19, Tablo 1)

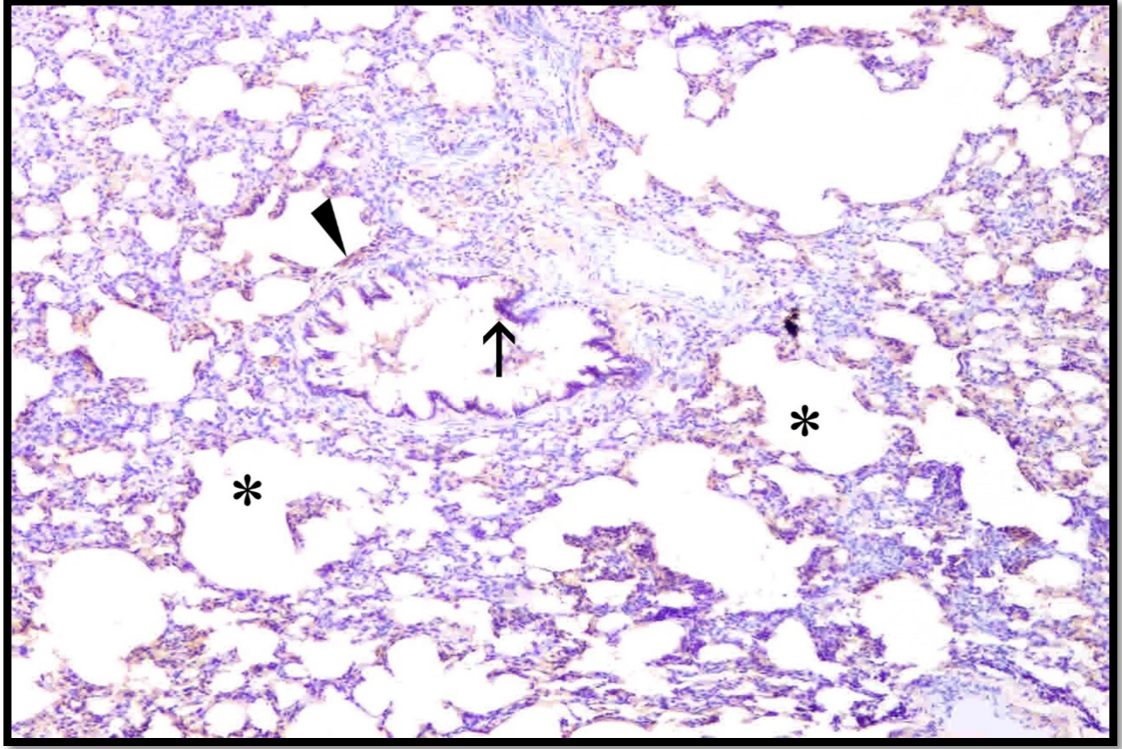


Şekil 18:2 ml/mg timokinon (ip) grubu IL-2 ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok: bronş ve bronşiyol epiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

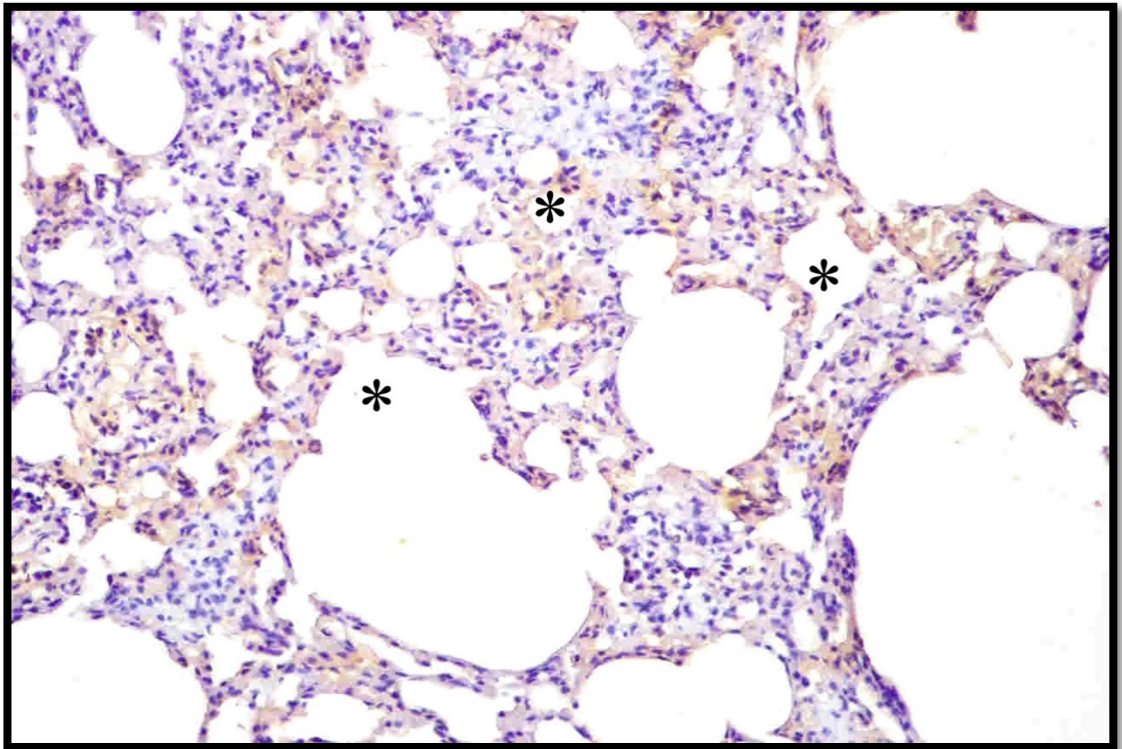


Şekil 19:2 ml/mg timokinon (ip) grubu IL-2 ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

3.Grup: Alveol duvarında orta şiddette immun reaksiyonun olduğu belirlendi. Bronş ve bronşiyol epitellerinde ve duvarlarında hafif şiddette immun reaksiyonlar tespit edildi. (Şekil 20,21, Tablo 1)

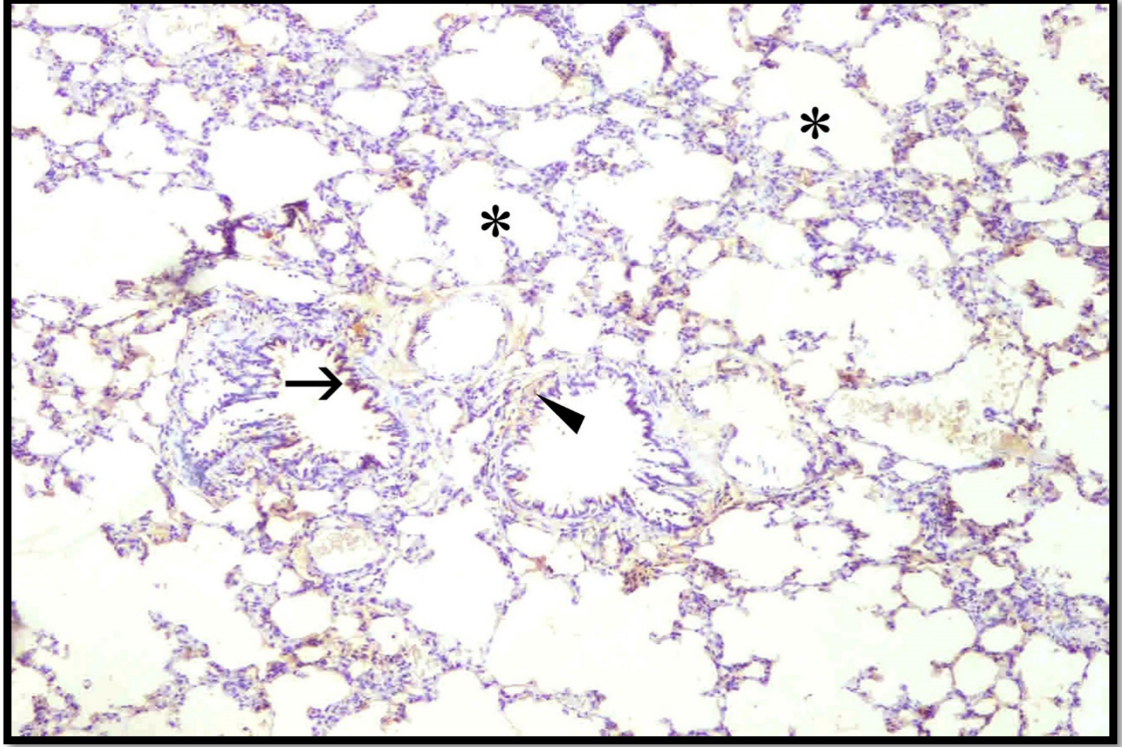


Şekil 20:10 mg/kg timokininon (gavaj) grubu IL-2 ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol



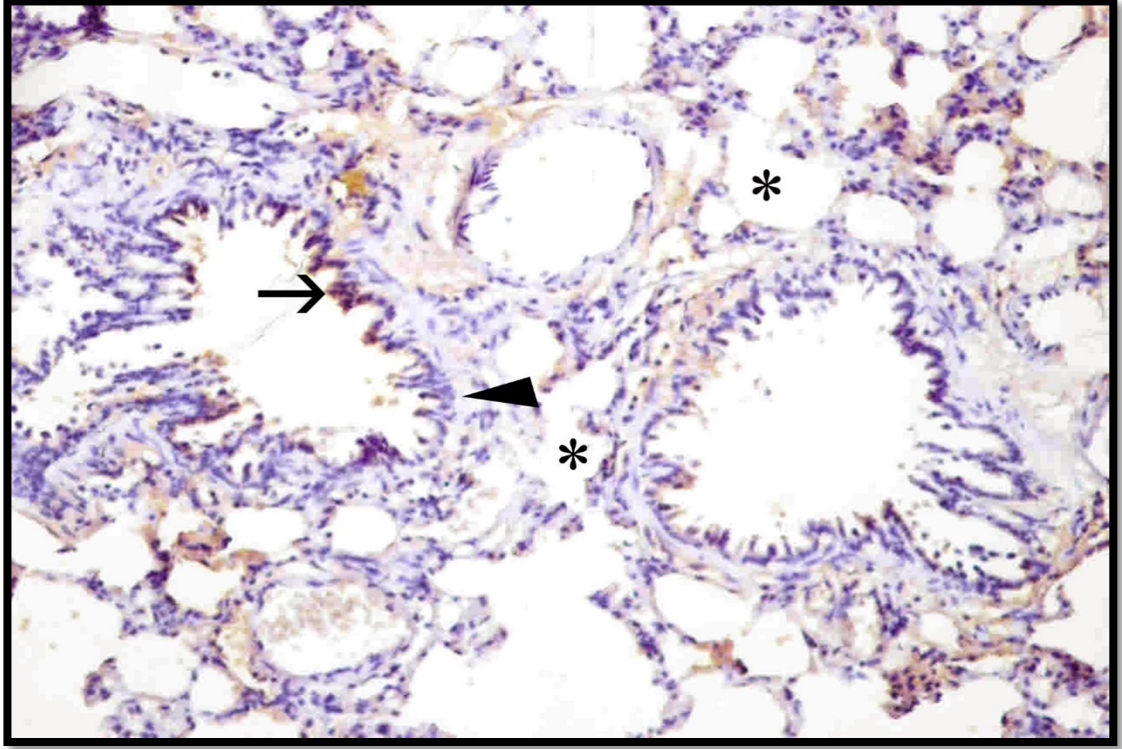
Şekil 21:10 mg/kg timokininon (gavaj) grubu IL-2 ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

4. Grup: En yoğun immun reaksiyonun bronş epitelleri ve alveol duvarında olduğu belirlendi. Bronş ve bronşiyol duvarlarında hafif şiddette immun reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 22,23, Tablo 1)



Şekil 22: 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu IL-2 ekspresyonu x 10'luk objektif

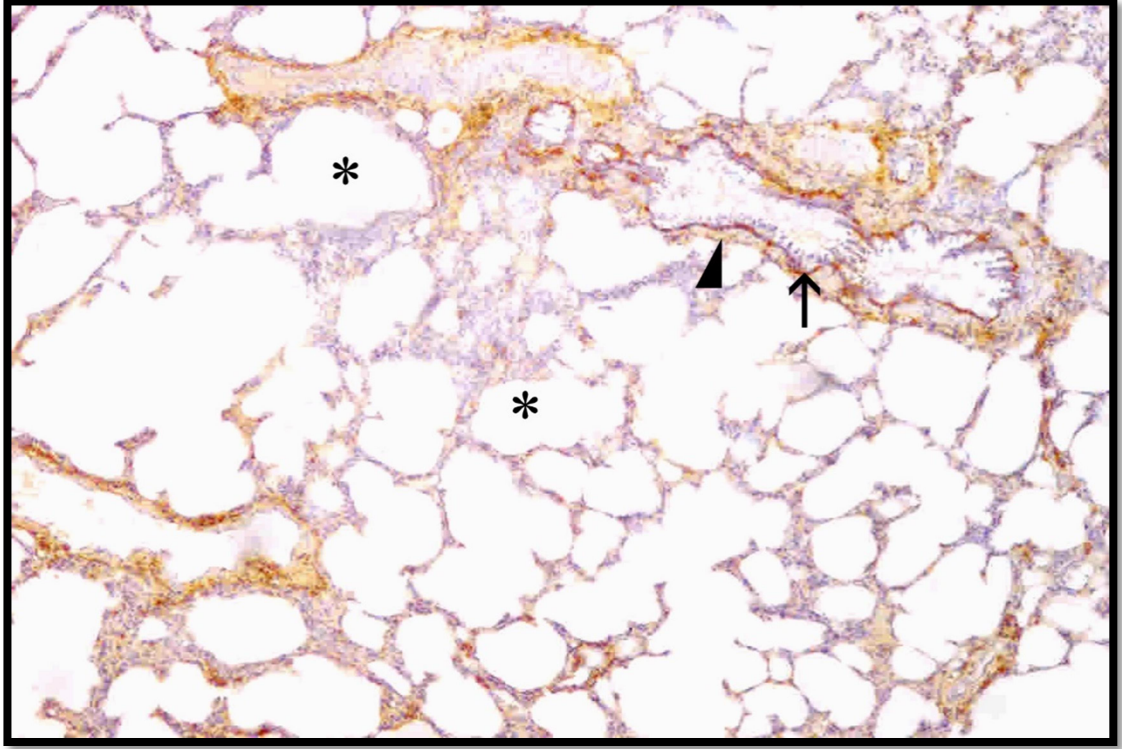
Ok: bronş ve bronşiyol epiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol



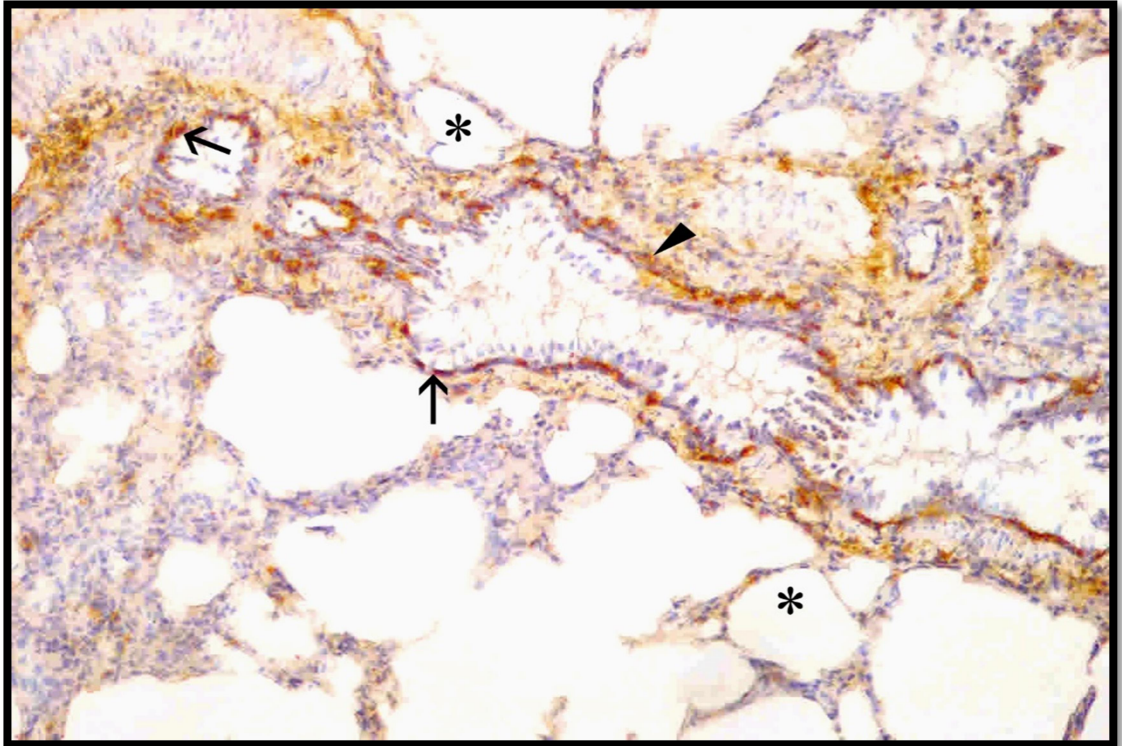
Şekil 23: 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu IL-2 ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

IFN gama; Gruplara ait preparatlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde immun pozitif reaksiyonların genellikle bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarlarında farklı şiddetlerde olduğu gözlemlendi. Grupları kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirdiğimizde ise en yoğun immun pozitif reaksiyonların kontrol grubu ve 2 mg/kg ip timokinon uyguladığımız ikinci gruplarında birbirlerine benzer olduğu tespit edildi.

Kontrol Grubu: Akciğer dokusu ayrıntılı olarak incelendiğinde; en şiddetli reaksiyonun bronş ve bronşiyol epitellerinde olduğu tespit edildi. Bronş ve bronşiyol duvarlarında orta şiddette immun pozitif reaksiyonlar gözlenirken, alveol duvarlarında zayıf immun pozitif reaksiyonların varlığı belirlendi. (Şekil 24,25, Tablo 2)

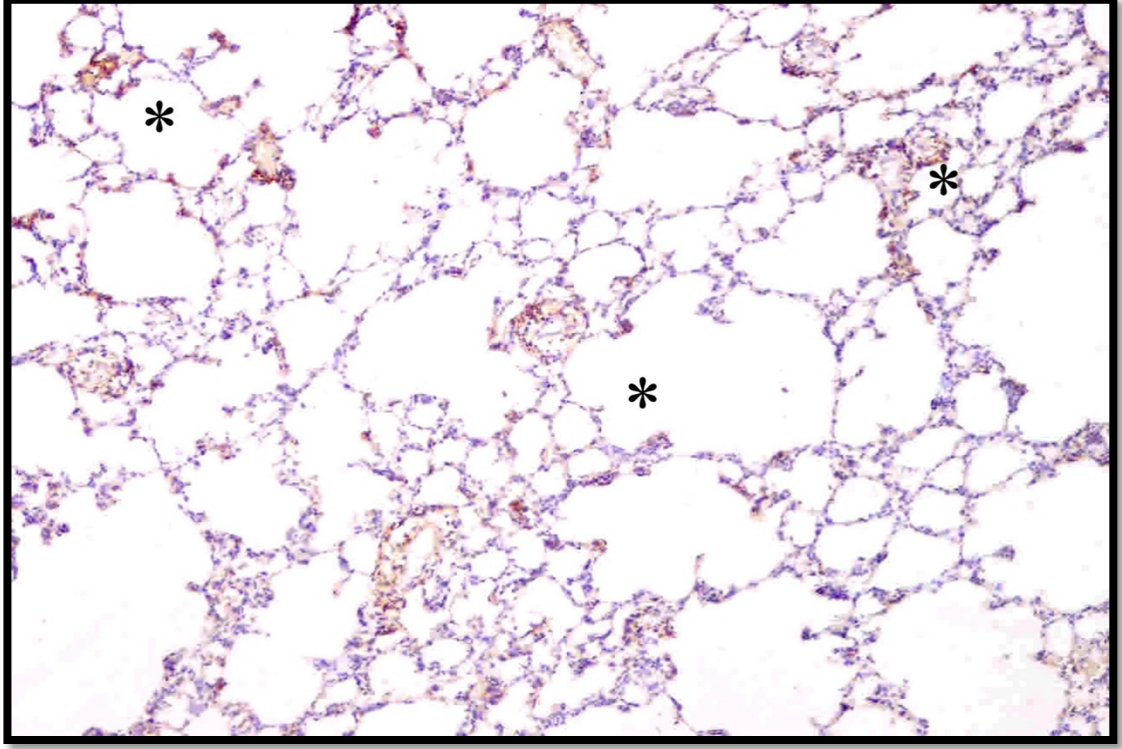


Şekil 24:Kontrol grubu,IFN gama ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

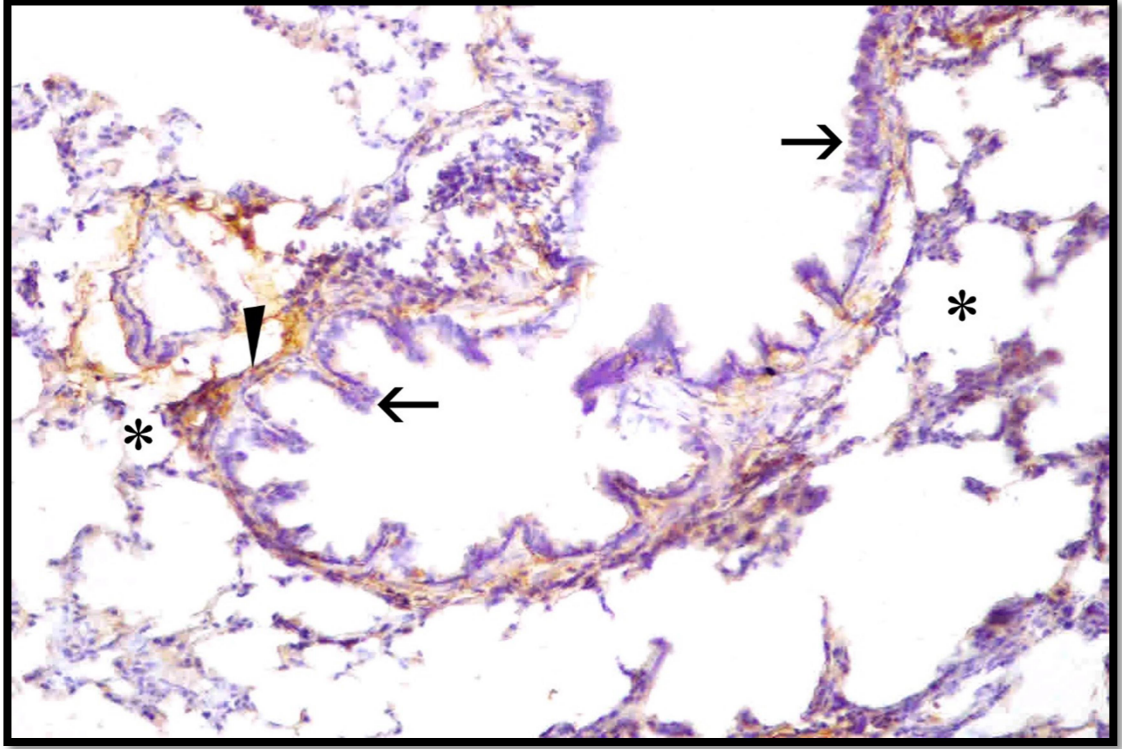


Şekil 25:Kontrol grubu,IFN gama ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

1.Grup: Preparatlar incelendiğinde, bronş ve bronşiyol epitellerindeki reaksiyonların orta şiddette olduğu ve kontrol grubuna göre reaksiyon şiddetinin zayıf olduğu belirlendi. Alveol duvarlarında ve bronşiyol duvarlarında ise zayıf şiddette immun pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 26,27, Tablo 2)

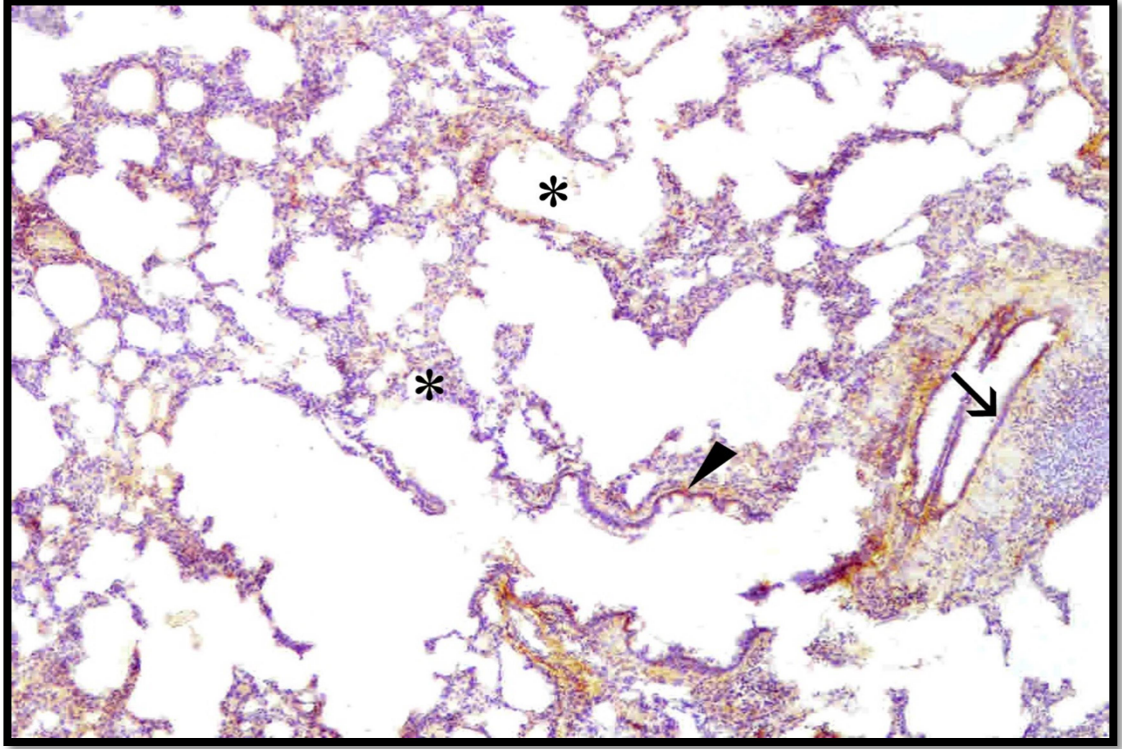


Şekil 26:1 ml/mg timokinon (ip) grubuIFN gama ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

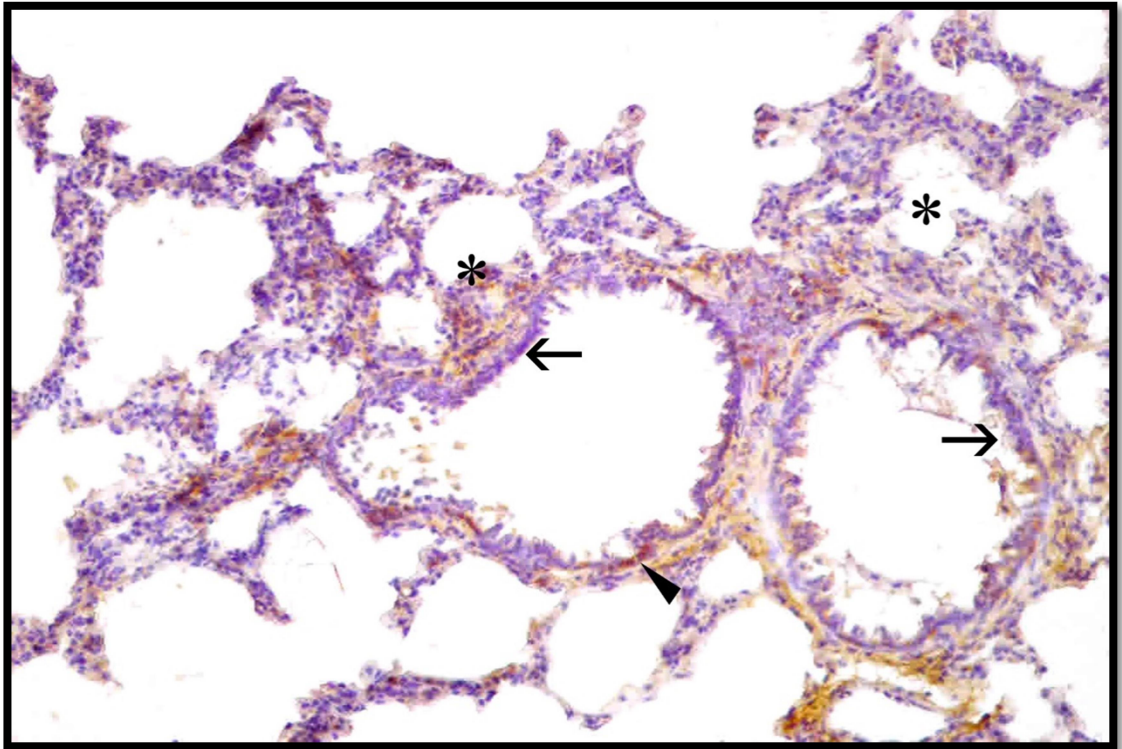


Şekil 27:1 ml/mg timokinon (ip) grubuIFN gamaekspresyonu x20'lik objektif
Ok:bronş ve broşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

2. Grup: Bronş ve bronşiyol epitellerinde, bronşiyol duvarında birbirine benzer olarak orta şiddette immun pozitif reaksiyonlar gözlendi. Alveol duvarlarında ise daha zayıf şiddette immun reaksiyonlar belirlendi (Şekil 28,29, Tablo 2)



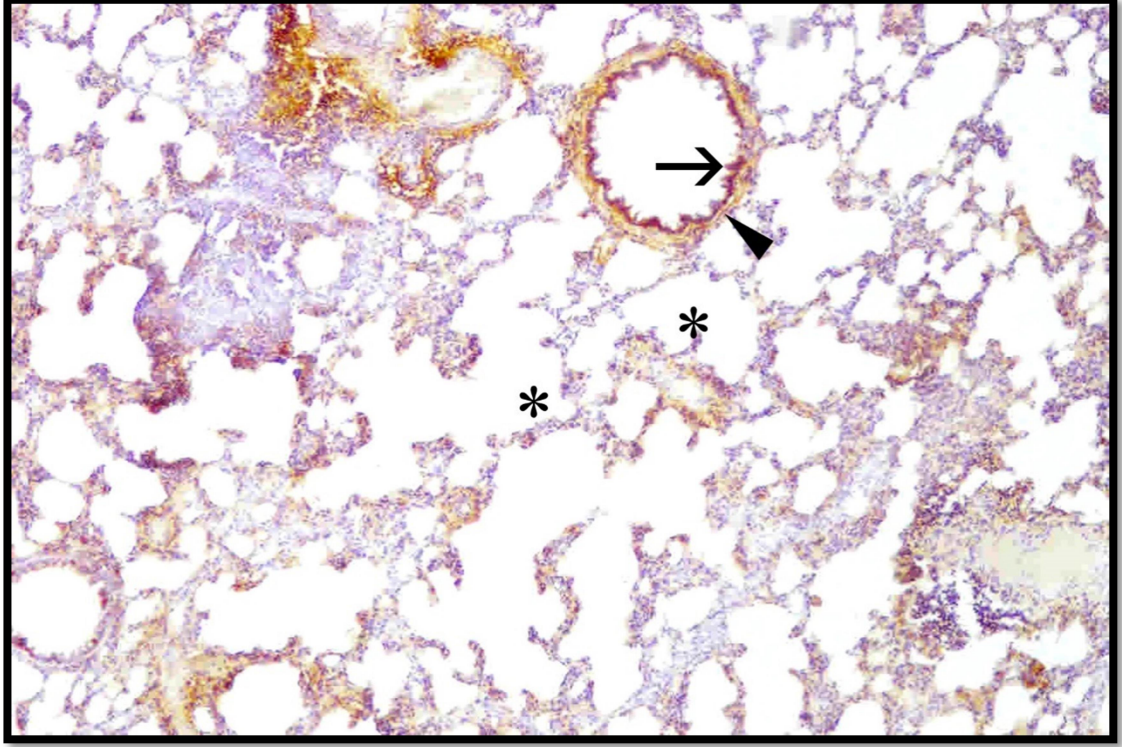
Şekil 28:2 ml/mg timokinon (ip) grubu IFN gama ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok: bronş ve bronşiyol epiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol



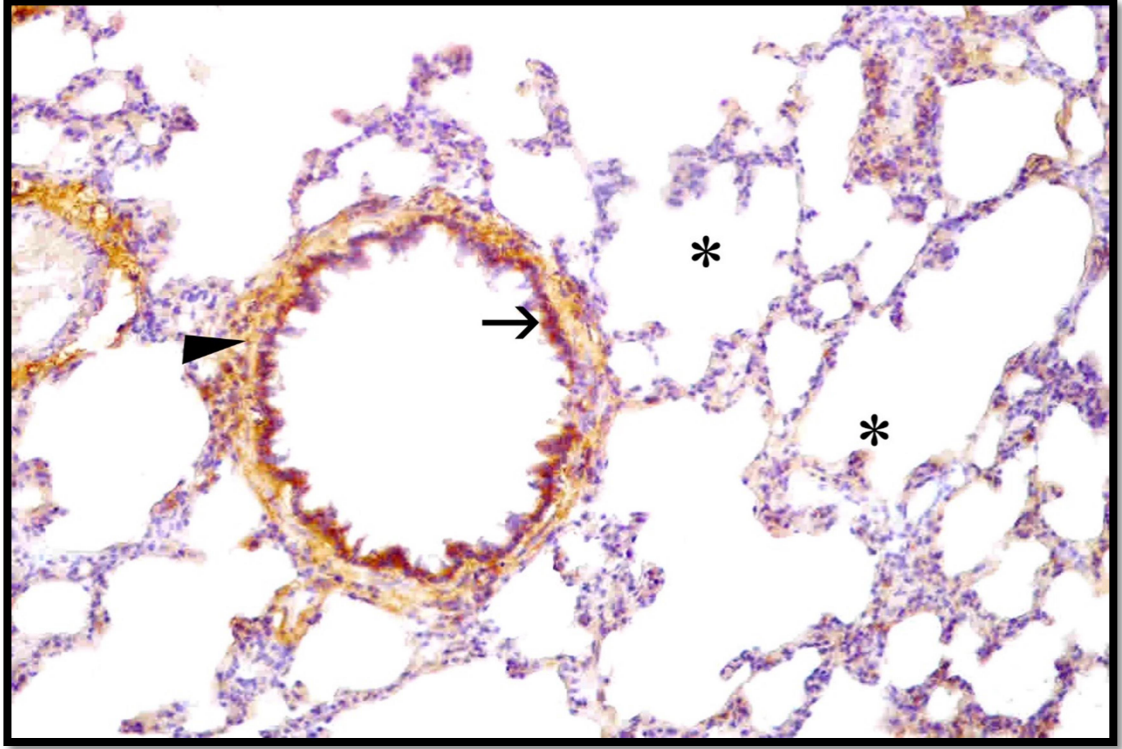
Şekil 29:2 ml/mg timokinon (ip) grubu IFN gama ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiyol epiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

3. Grup: Prepartlar değerlendirildiğinde, kontrol grubuna benzer olarak en şiddetli reaksiyonun bronş ve bronşiyol epitelinde olduğu tespit edildi. Bronş ve

bronşiyol duvarlarında orta şiddette immun pozitif reaksiyonlar gözlenirken, alveol duvarlarında zayıf immun pozitif reaksiyonların varlığı belirlendi (Şekil 30,31, Tablo 2)

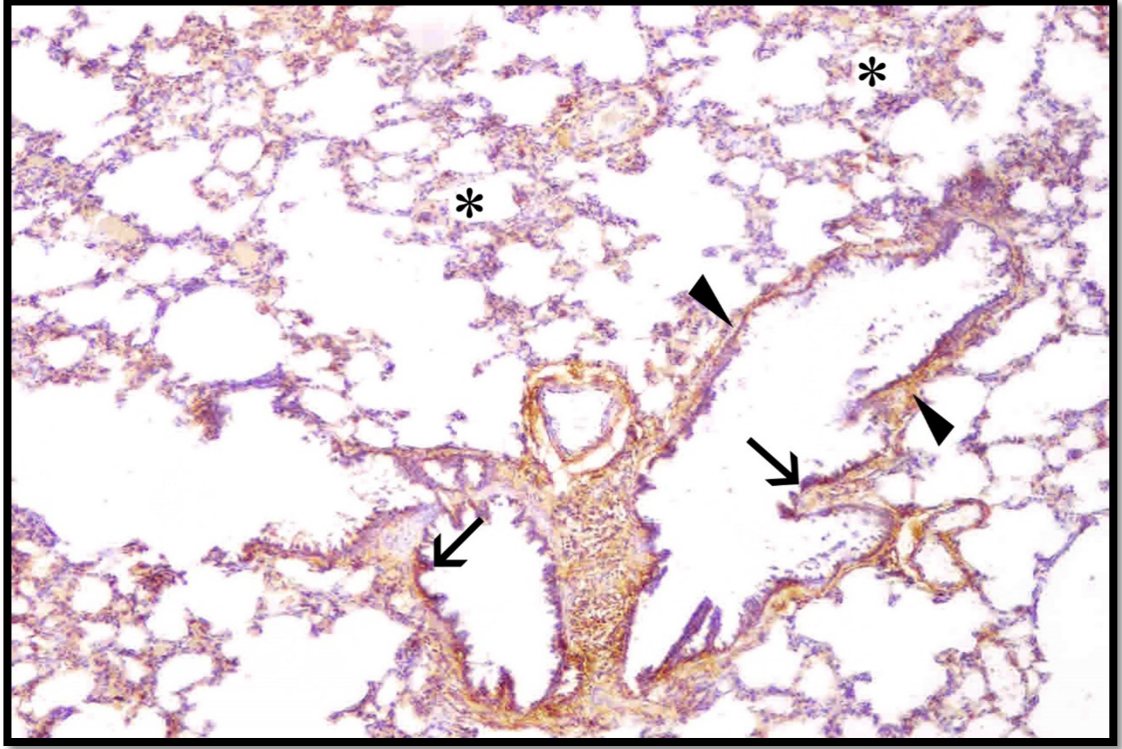


Şekil 30:10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu, IFN-gama ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok: bronş ve bronşiolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

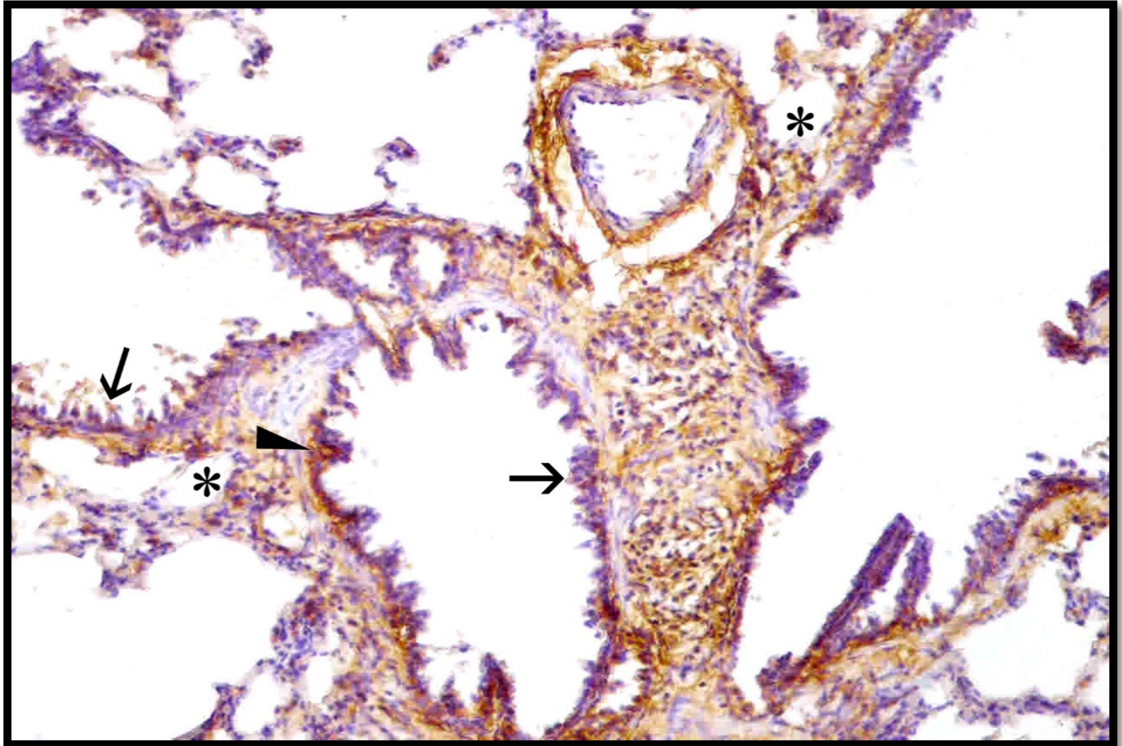


Şekil 31:10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu, IFN gama ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

4.Grup: Dokular incelendiğinde, bronş ve bronşiyol epitellerindeki reaksiyonların orta şiddette olduğu gözlenirken, en şiddetli immun reaksiyonun bronş ve bronşiyol duvarlarında olduğu belirlendi. Alveol duvarlarına baktığımızda ise zayıf şiddette immun pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 32,33, Tablo 2)



Şekil 32:20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu, IFN gama ekspresyonu x 10'luk objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol



Şekil 33:20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu, IFN gama ekspresyonu x 20'lik objektif
Ok: bronş ve bronşiyolepiteli, ok başı: Bronş ve bronşiyol duvarı, *: Alveol

Tablo 3. IL-2'nin ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri
Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

Grup	Bronş ve bronşiyolepiteli	Bronş ve bronşiyol duvarı	Alveol Duvarı
Kontrol Grubu	±	++	++
1.Grup (1ml/mg,ip)	-	+	+
2.Grup (1ml/mg,ip)	-	+	+
3.Grup (10mg/kg,gavaj)	-	±	+
4.Grup (20mg/kg,gavaj)	-	±	+

Tablo 4. IFN gama'nın ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri
Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

Grup	Bronş ve bronşiyolepiteli	Bronş ve bronşiyol duvarı	Alveol Duvarı
Kontrol Grubu	+++	++	++
1.Grup (1ml/mg,ip)	++	+	+
2.Grup (1ml/mg,ip)	+	+	+
3.Grup (10mg/kg,gavaj)	++	++	+
4.Grup (20mg/kg,gavaj)	++	+	+

5.TARTIŞMA

N. sativa L. tohumunun uçucu yağından elde edilen timokinonun içerdiği fenolik bileşiklerden ve faydalı farmakolojik etkileri nedeni ile geleneksel olarak ve tıpta tedaviye destek olarak yaygın kullanımı söz konusudur. Timokinon yüksek antioksidan özelliğe sahip ana aktif fenolik bir bileşik içermesinden dolayı birçok çalışmada antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanserojen gibi faydalı etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Timokinonun oksidatif hasara karşı böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve mide üzerinde koruyucu etkilere sahip olduğunu gösteren birçok mevcuttur (Khan, 1999).

Timokinon ve akciğerler üzerine yapılan çalışmalarda; timokinonun siklofosamid, toluen ve bleomisin kaynaklı akciğer hasarını azalttığı, benzopiren kaynaklı mide tümörlerini engellediği ve gentamisin ototoksitesini engelleyerek koruyucu rol aldığı yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Güzelsoy et al., 2018).

El Gazzar ve ark. (2006) timokinonun akciğerdeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, Th2 sitokinleri ve akciğer eozinofilisini azaltarak alerjik astımda pulmoner inflamasyonu azalttığını bildirilmişlerdir. Ayrıca, serumdaki yükselmiş IgG1 ve ovalbumin (OVA) spesifik IgE seviyelerini de azalttığı tespit edilmiştir (El Gazzar et al., 2006). Bronkoalveoler lavaj sıvısında IFN- γ üretimini indüklediği ve IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimini azalttığı gösterilmiştir. Timokinonun LT-C4 ve LT-B4 üretimini ve 5-LO ekspresyonunu azaltarak hava yolundaki inflamasyonu düzelttiğini bildirilmişlerdir.

Çalışmamızda deney gruplarımızda genel olarak IFN- γ düzeylerinin bronş, bronşiyol epitelleri ve duvarlarında ve alveollerdeki immun pozitif reaksiyonlarda azalma olduğu gözlemlenmiştir. Gazar ve ark. (2006) bulgularının aksine çalışmamızda tüm deney gruplarında IFN- γ düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebinin ise doz, uygulama şekli ve mevcut inflamasyon durumundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Yapılan bir in vivo çalışmada N. sativa yağı ile dört hafta tedavi gören deneklerin çoğunda CD4/CD8'de %55 oranında artış ve NK hücre fonksiyonlarında %30 artış olduğu gösterilmiştir (Salem, 2005). İnsan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) kullanılarak N. sativa tohum proteinlerinin sitokin üretimi üzerine etkileri araştırılarak proteinlerin allojenik hücreler varlığında ya da olmaksızın kültüre alındığında lenfositler tarafından IL-3 ve IL-1'in üretimini arttırdığı tespit edilmiştir (Haq et al., 1995). Bu N. sativa proteinlerinin saf hücrelerinin kendisi üzerinde stimülatör etki oluşturduğunu göstermektedir. Yine de aynı üretim şartları altında N. sativa tohumlarının saf ekstresi ya da çözünebilir fraksiyonları IL-2 ve IL-4'ün üretimi üzerine hiçbir etki göstermemiştir (Haq et al., 1995).

Mevcut çalışmamızda timokinonun intraperitoneal ve gavaj yoluyla verilip akciğer dokuları üzerindeki immünmodülatör etkileri detaylı olarak araştırılmıştır. Haq ve ark.'nın bulgularının aksine, akciğer bronşiyollerinde ve alveollerinde IL-2 seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir.

6. SONUÇ

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde, IL-2 ve IFN gama ekspresyonun; akciğerlerde bronş ve bronşiyollerinepitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında bulunan hücrelerde farklı şiddette reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Ancak bu farklılıkların sebeplerinin daha iyi anlaşılabilmesi için çeşitli metabolik yollar üzerindeki etkilerinin araştırılması ve farklı yöntemler kullanılan daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca, çörek otu tohumu ve etkin bileşenlerinin ilaç olarak kullanılabilmesi için yapısındaki etkin bileşiklerinin belirlenerek ve standardize edilerek, klinik ve toksikolojik çalışmaları da kapsayacak şekilde ileri araştırma aşamalarından geçmesi ve kalite, etkililik ve güvenilirlik açısından değerlendirilmesi gerekmektedir.

Timokinonun akciğer dokuları üzerinde yapılan incelemelerde özellikle gavaj yoluyla verilen gruplarda bronş ve bronşiyolepiteli ile bronş ve bronşiyol duvarlarında birbirine benzer ve kontrol grubuna kıyasla daha hafif immün reaksiyonlar gözlemlenmiştir. İntraperitoneal olarak verilen gruplarda bronş ve bronşiyol duvarı ile alveol duvarında zayıf şiddette immün pozitif reaksiyon gözlemlendi. Özellikle IFN- γ ekspresyonunun azalmasına bakılırsa; timokinonun akciğer doku hasarı ve rahatsızlıklarında tedaviyi desteklemesi ve geleneksel tıpa destekleyici tedavi olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir. Daha kapsamlı çalışma yapılması daha kapsamlı sonuçlar elde edebileceğimize ışık tutmaktadır. Timokinonun akciğer hastalıkları tedavisine destek ve yardımcı olarak kullanılabilmesi yapılan çalışmamızla desteklenmiştir.

Sonuç olarak sunulan bu çalışma ile hem gavaj hem de intraperitoneal yollarla farklı dozlarda uygulanmış timokinonun akciğerler üzerine immunmodülatör etkileri, IL-2 ve IFN- γ 'nın lokalizasyonu ve ekspresyonu gösterilmiş oldu. IL-2 ve IFN- γ tüm grupların bronş ve bronşiyol epitellerinde, bronş ve bronşiyol duvarlarında, alveol duvarındaki hücrelerde gösterilmiştir. IL-2 ve IFN- γ 'nın tüm gruplarda farklı şiddetlerde gözlenmesi timokinon uygulamasının IL-2 ve IFN gama'yı inaktif etmediğini göstermiştir. Bununla birlikte timokinonun uygulanan deney gruplarında IFN- γ ve IL-2 reaksiyonlarında azalmaların gözlenmesi

timokinonun akciğer ve immunmodülasyon mekanizma üzerine olumlu etkiler yaptığını akla getirmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A., Murphy, K., Sher, A. (1996). Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 383:787-93.
- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. (2007). *Temel immunoloji, immun sistemin işlev ve bozuklukları*.
Editörler: Y. Camcıoğlu, G. Deniz. İstanbul: Medikal Yayıncılık.
- Abdel-Fattah, A.M., Matsumoto, K, Watanabe, H. (2000). Anti nociceptive effects of Nigella Sativa oil and its major component, timokinon, in mice. *European Journal of Pharmacology* 400(1):89-97.
- Abuharfeil, N.M., Salim, M., VonKleist, S. (2001). Augmentation of natural killer cell activity *in vivo* against tumour cells by some wild plants from Jordan. *Phytotherapy Research*, 15: 109–113.
- Agerberth, B., Gudmundsson, G. (2006). Host antimicrobial defence peptides in human disease. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 306: 67-90.
- Alkharfy, K.M., Ahmad, A., Khan, R.M., Al-Shagha, WM. (2015). Pharmacokinetic plasma behaviors of intravenous and oral bioavailability of timokinon in a rabbit model. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 40(3):319-23.
- Bachmann, M.F., Kopf, M. (2002). Balancing protective immunity and immunopathology. *Current Opinion in Immunology* 14:413.
- Baker, C.J., Edwards, M.S. (1995) Group B streptococcal infections. In: *Remington JS, Klein JO, editors. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 4th ed. Philadelphia: Saundersp. 980-1064.
- Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., Legault, J. (2012) Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti cancer and Antibacterial, activities of extracts from *Nigella sativa* (blackcumin) plant parts. *Journal of Food Biochemistry* 36: 539–546
- Chinen, J., Finkelman, F., Shearer, W.T. (2006). Advances in basic and clinical immunology. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 118:489-95.
- Crossmon G. (1937) A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of The principles involved. *Anatomical Record* 69: 33-38.
- Darakhshan, S., Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S. (2015). Timokinon and its therapeutic potentials. *Pharmacological Research* 95-96:138-58.
- El Gazzar, M., El Mezayen, R., Marecki, J.C., Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. (2006) Anti-inflammatory effect of timokinon in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology* 6(7):1135-42.
- El-Khouly, D., El-Bakly, W.M., Awad AS, El Mesallamy HO, El-Demerdash E. (2012). Timokinon blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor KappaB in rats. *Toxicology* 302(2-3):106- 13.

- El-Tahir, K.EH, Bakeet DM. (2006). The black seed *Nigella sativa* Linnaeus mine for multi cure: a pleaforurgent clinical evaluation of itsvolatileoil. *Journal oTaibah University Medical Sciences*1:1-19.
- Eşrefoğlu, M. (2009). Özel Histoloji. Malatya: Medipress Matbaacılık Ltd. Şti.Fair W, Couch J, Wehner N. (1976). Prostatic antibacterial factor. *Identity and significance. Urology*7:169-77.
- Fatemeh, P., Fariba, S., Rokhsana, R., Leyla, P., Fatemeh N, Hojjat S. (2016).. Correction to: Combination Therapy with Pirfenidone plus Prednisolone Ameliorates Paraquat-Induced Pulmonary Fibrosis. *Mandegary Environmental Toxicology and Pharmacology Volume 45*, Pages 340-345
- Forouzanfar, F., Bazzaz, B.S., Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (*Nigellasativa*) andits constituent (timokinon): a review on antimicrobialeffects. *IranianJournal of Basic MedicalSciences*17(12):929- 38.
- Gerige, S.J., Gerige, M.K.Y., Rao, M., (2009). GC-MS analysis of *Nigellasativa*. Sedds and antimicrobial activitiy of its volatile oil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*52(5):1189-92
- Güzelsoy, P., Aydın, S., Başaran, N. (2018).Çörek Otunun (*NigelleSativa L.*) Çörek Otunun (*NigelleSativa L.*) Aktif Bileşeni Timokinonun İnsan Sağlığı Üzerine Olası Etkileri.
- Hayat, K., Asim, M.B., Nawaz, M, Li M, Zhang L, Sun N. (2011).Ameliorativeeffect of timokinon on ovalbumin-inducedallergicconjunctivitis inBalb/c mice. *CurrentEyeResearch*36(7):591-8
- Haq, A., Lobo, P.I, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. (1999).Immunomodulatoryeffect of*Nigellasativa*proteinsfractionatedbyionexchangechromatography.*International Journal of Immunopharmacology*21: 283– 295.
- Haq, A., Abdullatif, M., Lobo PI, Khabar KS, Sheth KV, al- Sedairy ST. (1995). *Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*, 30: 147– 155.
- Isik, A.F., Kati, I, Bayram, I, Ozbek H. (2005). A newagentfortreatment of acuterespiratory distresssyndrome: timokinon. An experimentalstudy in a rat model. *European Journal of Cardio-ThoracicSurgery*28(2):301-5.
- Jansen, J.H., Fibbe, W.E, Willia R. (1990). Interleukin-4. *Blood* 60: 269-74.
- Junquera, L.C., Corneiro, J., Kelley, R.O. (2009). *TemelHistolojiTestveAtlas*. (S. Solakoğlu Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kahila, M.M.H., Najy, A.M., Rahaie M, Mir-Derikvand M. (2017).Effect of nanoparticle treatment on expression of a key gene involved in timokinonbiosyntheticpathway in *Nigellasativa L.* *Natural Product Research*27:1-5.
- Kanter, M. (2011). Timokinon attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure inrats *oxicology and Health* 27(5):387-95
- Kar, Y., Sen, N., Tekeli Y (2007) Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigellasativa L.*) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniv. Fen Edebiyat FakÜltesi Fen Dergisi (E-Dergi)* 2: 197-203 (Shah ve Kasturi, 2003)

- Khader, M., Eckl, PM. (2014). Timokinon: an emerging natural drug with a widerange of Medical applications. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*;17(12):950-7
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. (R. Demir Çev.) Ankara: Palme Yayıncılık.
- Litman, G., Cannon, J., Dishaw, L. (2005). Reconstructingimmunephylogeny: new perspectives. *Nature Reviews Immunology* 5: 866-79.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J.J., Parry J, Gao JM, Yu LL (2010).Fatty acid profile, timokinon content, oxidative stability, andantioxidant properties of cold pressed black cumint seed oils. *Lebensmittel-Wissenschaft&Technologie*. 43: 1409-1413
- Muhammad, T.S., Masood, S.B, Faqir, M.A., Amer, J., Saeed, A., Muhammad, N. (2009) Nutritional Profile of indigenous cultivar of black cumint seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pakistan Journal of Botany*. 41(3): 1321-1330
- Mollazadeh, H., Hosseinzadeh, H. (2014).The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iranian Journal of Basic MedicalSciences*17(12): 958-66.
- Meagher, C., Sharif, S., Hussain, S., Cameron M, Arreaza G, Delovitch T. (2001). Cytokines And chemokines in the pathogenesis of murine type 1 diabetes In:*Santamaria P, ed. Cytokinesand Chemokines in Autoimmune Disease Austin: RG LandesCo.*
- Odeh, F., Ismail, S.I, Abu-Dahab R, Mahmoud IS, Al Bawab A. (2012). Timokinon in liposomes: a study of load in efficiency and biological activity towards breast cancer. *Drug Delivery* 19(8):371-7.
- Ovalle W.K. Nahirney, P.C. (2009). *Netter Temel Histoloji*. (S. Müftüoğlu Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
- Özer A. (2018). *VeterinerÖzelHistoloji*. Bursa: Dora Yayınları
- Paul, W.E. *FundamentalImmunology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
- Porth, C.M. (2004). *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins p. 134-149.
- Remington, J.S., Klein, JO, (1995).eds. *InfectiousDiseases of theFetus and Newborn Infant*. 4th ed. Philadelphia: WB Saundersp. 140-267.
- Ross, M.H., Pawlina, W. (2006). *Histology: A Text And Atlas* (5th ed.). Philadelphia: *Lippincott Williams &Wilkins*.
- Salem, M.L. (2005).Immunomodulatory and therapeutic properties of the*Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, 5: 1749-1770.
- Shafiq, H., Ahmad, A., Masud, T., Kalem, M. (2014).Cardio-protective and anti-cancer Therapeutic potential of *Nigella sativa*. . *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 17(12):967-79.
- Suddek, G.M., Ashry, N.A., Gameil, N.M. (2013).Timokinon attenuates

Cyclophosphamide induced pulmonary injury in rats. *Inflammopharmacology* 21(6):427-35.

- Sultan, M.T., Butt, MS, Anjum FM, Jamil A, Akhtar S, Nasir M (2009) Nutritional profile of Indigenous cultivar of Black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pakistan Journal of Botany*41: 1321-1330
- Takeda, K., Tanaka, J., Akira S. (1996). Essential role of Stat 6 Il-4 signaling. *Nature* 380: 30.
- Tembhurne, S. V., Feroz, S., More, B. H., & Sakarkar, D. M. (2011). A review on Therapeutic potential of *Nigella sativa* (kalonji) seeds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(3), 167– 177.
- Tortalan, P.J., Lal, MK, Riva A, Chen YA. (1995). Regulation of Jak 3 expression and activation in human B cell and B cell malignancies. *Journal of Immunology* 155 (11): 5220-6.
- Tunali, Y. (2018). *İmmünoloji*. Bursa: Dora Yayınları.
- True, L.D. (1990) *Principles of Immunohistochemistry*. 2nd ed. New York, NY, USA: Gower Medical Publishing.
- Vassali, P. (1992). The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annual Review of Immunology* 10: 411-52.
- Vosshenrich, C.A.J, Samson-Villeger, S.I., Di Santo, J.P. (2005). Distinguish features of Developing natural killer cells. *Current Opinion in Immunology*; 17: 151-8.
- Zen, K., Parkos, C. (2003). Leukocyte-epithelial interactions. *Current Opinion in Cell Biology* 15:557-64.

ÖZGEÇMİŞ

Mustafa GÖZÜOĞLU 28.03.1990 tarihinde Mardin’de doğdu. Mardin Lisesini birincilikle bitirdikten sonra İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 2013 yılında mezun oldu. 2013 yılında Zekim Eczanesini açtı ve hala eczanesinde aktif çalışıyor.

Temel ilgi alanları; yüzme, masa tenisi, kitap okuma, ahşap teknikleri, bağlama çalma vs..

İletişim Bilgileri:

Email :m_gozu@hotmail.com

Telefon :05531294757

ORCID ID: 0000-0002-9908-9978

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar (VARSA) :

Bildiriler /Yayımlar(VARSA) _____ :