

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARBON TETRAKLORÜR UYGULANMIŞ SIÇANLARDA
KURKUMİN'İN AKCİĞER ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

ŞAHİNAZ ATALAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ METE KEÇECİ

ZONGULDAK

2023

T.C
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARBON TETRAKLORÜR UYGULANMIŞ SIÇANLARDA
KURKUMİN'İN AKCİĞER ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

ŞAHİNAZ ATALAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ METE KEÇECİ

Bu Tez Çalışması Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2022-98210206-04).

ZONGULDAK

2023

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerini benimle paylaşan, önerileri ve görüşleri ile beni teşvik ederek desteğini hiç esirgemeyen tez danışmanım değerli hocam, sayın Dr. Öğretim Üyesi Mete KEÇECİ'ye, yüksek lisans eğitim hayatım boyunca deneyim ve bilgi birikimlerini aktararak eğitimimdeki büyük emeği ve çalışmanın gerçekleşmesinde sağladığı desteklerden dolayı değerli hocam Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH'a, yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel katkılarıyla desteğini sunan, Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü değerli hocam Prof. Dr. Zehra SAFİ ÖZ'e, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Veteriner Hekim Osman CENGİL'e,

Tüm hayatım boyunca hedeflerimi gerçekleştirmem için beni yüreklendiren, maddi ve manevi destekleri ile beni güçlü kılan kıymetli aileme, anlayış ve desteklerini hep hissettiğim, varlıklarıyla bu süreci kolaylaştıran her biri özel olan biricik arkadaşlarıma sonsuz ve en içten duygularıyla teşekkür ediyorum.

Şahinaz ATALAY

ZONGULDAK, 2023

ÖZET

Şahinaz ATALAY, ‘Karbon Tetraklorür Uygulanmış Sıçanlarda Kurkuminin Akciğer Üzerindeki Koruyucu Etkisi’, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji AD, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2023

Antioksidan özelliklere sahip olan zerdeçal bitkisinden elde edilen kurkuminin akciğer hasarı üzerine etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle gösterilmesi amaçlanan çalışmamızda 40 adet, 300-350 gram ağırlığında Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Kontrol grubuna 3 hafta boyunca her gün gavaj yoluyla 1 ml zeytinyağı verilmiştir. Kurkumin grubuna, 3 hafta boyunca her gün, zeytinyağında çözünmüş 200 mg/kg kurkumin gavaj yoluyla verilmiştir. Karbon tetraklorür grubuna, 3 hafta boyunca gūnaşırı olarak 1/1 oranda zeytinyağında çözünmüş 0,5 ml/kg karbon tetraklorür intraperitoneal enjeksiyonla verilmiştir. Kurkumin+Karbon tetraklorür grubuna 3 hafta boyunca her gün, gavaj yolu ile zeytinyağında çözünmüş 200 mg/kg kurkumin verilmiş ve gūnaşırı 0,5 ml/kg karbon tetraklorür ip olarak uygulanmıştır. Akciğer dokusunun Hematoksilen-Eozin boyanmış preparatlarında, kontrol ve kurkumin grupları normal doku morfolojisi sergilemiştir. Karbon tetraklorür grubunda septum kalınlığının artışı, hemoraji ve damar konjesyonu gibi inflamatuvar görüntüler izlenmiştir. Karbon tetraklorür ile kurkumin verilen deneklerin akciğer dokularında, sınırlı alanlarda hasar gözlenirse de normal görünümlü geniş akciğer alanları dikkat çekmektedir. Kurkuminin inflamatuvar yanıtı etkisini değerlendirmek için TNF- α ve IL-1 β ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal yöntemle çalışılmış ve karbon tetraklorür grubunda diğer gruplara göre daha yüksek ekspresyon görölmüştür ($p<0.01$). Oksidatif stres göstergesi olarak çalışılan malondialdehit ve superoksit dismutaz düzeyleri, karbon tetraklorür grubunda en yüksek seviyede bulunmuştur. Kurkumin+ Karbon tetraklorür verilen deneklerde ise malondialdehit ve superoksit dismutaz düzeyleri Karbon tetraklorür grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.01$).

Anahtar Kelimeler: Karbon tetraklorür, Kurkumin, Akciğer, Beslenme, Oksidatif stres, İnflamasyon

ABSTRACT

Şahinaz ATALAY, 'The Protective Effect of Curcumin on Lungs in Rats Treated with Carbon Tetrachloride', Zonguldak Bulent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Histology and Embryology, Master Thesis, Zonguldak, 2023.

In our study, it is aimed to show the effects of curcumin obtained from the turmeric plant, which has antioxidant properties, on lung damage by biochemical and histopathological methods. In our study, 40 Wistar albino male rats weighing 300-350 grams were used. The Control group was given 1 ml of olive oil by gavage every day for 3 weeks. Curcumin group was given 200 mg/kg curcumin dissolved in olive oil by gavage every day for 3 weeks. The carbon tetrachloride group was given 0.5 ml/kg carbon tetrachloride dissolved in olive oil at a ratio of 1/1 every other day for 3 weeks by intraperitoneal injection. Curcumin+carbon tetrachloride group was given 200 mg/kg curcumin dissolved in olive oil by gavage every day for 3 weeks and 0.5 ml/kg carbon tetrachloride was applied as ip every other day. In Hematoxylin-Eosin stained preparations of lung tissue, control and curcumin groups exhibited normal tissue morphology. In the carbon tetrachloride group, inflammatory images such as increased septum thickness, hemorrhage and vascular congestion were observed. Although damage was observed in limited areas in the lung tissues of the subjects given curcumin together with carbon tetrachloride, normal-looking large lung areas draw attention. In order to evaluate the effect of curcumin on the inflammatory response, TNF- α and IL-1 β expression levels were studied by immunohistochemical method and higher expression was observed in the carbon tetrachloride group compared to the other groups ($p<0.01$). Malondialdehyd and superoxide dismutase levels, which were studied as indicators of oxidative stress, were found to be the highest in the carbon tetrachloride group. In the subjects given curcumin+carbon tetrachloride, malondialdehyde and superoxide dismutase levels were significantly decreased compared to the carbon tetrachloride group ($p<0.01$).

Keywords: Carbon tetrachloride, Curcumin, Lung, Nutrition, Oxidative stress, Inflammation

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ KABUL ve ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISATLMALAR	viii
TABLO DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akciğer Anatomisi	3
2.2. Akciğer Histolojisi.....	4
2.3. Akciğer Embriyolojisi	7
2.3.1. Akciğer tomurcuklarının oluşumu	7
2.3.2. Akciğerlerin olgunlaşması	9
2.4. Karbon tetrakloür ve Kullanım Alanları.....	11
2.4.1. Karbon tetraklorürün etki mekanizması	11
2.4.2. Karbon tetraklorürün insan organizması üzerindeki etkileri	12
2.4.3. Karbon tetraklorürün neden olduğu akciğer toksisitesi	13
2.5. Oksidatif Stres	14
2.6. Fonksiyonel Beslenme	16
2.7. Kurkumin.....	18
2.7.1. Kurkuminin geleneksel tıpta kullanımı ve etki mekanizmaları	19
2.7.2. Antioksidan aktivite	20
2.7.3. Antiinflamatuvar aktivite	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları	22
3.2. CCL ₄ ve Kurkuminin Hazırlanması	23
3.3. Dokuların Takibi.....	23
3.4. Kesitlerin Boyanma Yöntemleri.....	24

3.5. Histolojik Değerlendirme ve Akciğer Hasarının Skorlanması	28
3.6. İmmünohistokimyasal İncelemeler	28
3.7. Biyokimyasal Analizler	29
3.8. İstatiksel Analiz	29
4. BULGULAR	31
4.1. Biyokimyasal Bulgular	31
4.2. Histolojik Bulgular	33
4.2.1. Hematoksilen-Eozin (H+E) boyama.....	33
4.2.2. Gruplara göre akciğer skorlamasının istatistiksel analizi	47
4.2.3. Periyodi asit-Schiff (PAS) boyama	48
4.2.4. Masson trikrom boyama	49
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	50
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇLAR	60
7. KAYNAKÇA	62
8. EKLER	72
Ek 1: Türkçe Etik Kurul Onayı	72
9. ÖZGEÇMİŞ	73

SİMGELER VE KISATLIMLAR

ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
BMC	Bisdemethoxycurcumin
CAT	Katalaz
CCl₃	Triklorometil Radikali
CCl₃OO	Triklorometil Peroksil
CCl₄	Karbon Tetraklorür
CFH	Kloroflorohidrokarbon
COX	Siklooksijenaz
CUR	Kurkumin
DMC	Demethoxycurcumin
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DMSO	Dimetil-sülfoksit
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon S- Transferaz
H+E	Hematoksilen Eozin
H-skor	Histolojik skor
IL-1 β	İnterlökin 1 beta
IL-8	İnterlökin 8
İp	İntraperitoneal
K₂S₂O₅	Metabisülfıt
KOAH	Kronik Obstriktif Akciğer Hastalığı
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
PAS	Periyodik Asit Schiff
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Akciğer anatomisi	4
2. Akciğer organizasyonunun şematik gösterimi	5
3. Alt ve üst solunum yollarının hücresel bileşimi	6
4. Akciğer gelişimi	8
5. Akciğer gelişiminin evrelemesi	9
6. CCl ₄ Lewis noktasal yapısı	12
7. CCl ₄ 'ün neden olduğu oksidatif akciğer hasarının mekanizması	14
8. Oksidatif Stresin Akciğerde organeller düzeyinde etkileri	15
9. Fonksiyonel besin kavramının kapsadığı ürünler	16
11. Kurkuminin kronik hastalıklar üzerinde başlıca etkileri	21
12. Gruplara göre akciğer dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırması.	31
13. Gruplara göre akciğer dokularında SOD düzeylerinin karşılaştırması	32
14. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması	33
15. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X10.....	34
16. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X20.....	34
17. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X40.....	35
18. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X5	35
19. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X10.	36
20. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X20	36
21. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X40.	37
22. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X5.	38
23. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X10.....	38
24. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X10.	39
25. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması.X20.	39
26. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X20	40
27. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X20.	40
28. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X20	41
29. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X20	41

30. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20	42
31. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40	42
32. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40	43
33. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40	43
34. CCl ₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40	44
35. CCl ₄ +Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X5.....	44
36. CCl ₄ +Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X10.....	45
37. CCl ₄ +Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20.....	45
38. CCl ₄ +Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40.....	46
39. Tüm gruplara ait akciğer dokularının PAS boyama sonuçları X10..	48
40. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları.....	49
41. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki TNF- α ifadesini belirlemek için yapılan immunohistokimyasal boyama görüntüleri X40.....	50
42. Gruplara göre akciğer dokularında TNF- α ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi.....	51
43. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki IL-1 β ifadesini belirlemek için yapılan immunohistokimyasal boyama görüntüleri X40.....	52
44. Gruplara göre akciğer dokularında IL-1 β ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi.....	53

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. Doku Takibinde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulama süreleri	24
2. Akciğer Dokusu İçin H+E Boyama Protokolü.....	25
3. Akciğer Dokusu için PAS Boyama Protokolleri	27
4. Akciğer Dokusu için Masson Trikrom Boyama Protokolleri	27
5. Deneklere ait akciğer dokularından elde edilen histopatolojik skarlama sonuçları	47

1.GİRİŞ

Kimyasallar, toksik maddeler ve çeşitli ilaçlar insan vücudunda serbest radikallere dönüşerek dokular üzerinde hasar verici olabilir. Karbon tetraklorür (CCl_4) endüstride yaygın kullanılan ve kimyasal formülü CCl_4 olan organik bir çözücüdür (1). CCl_4 ; özellikle karaciğer olmak üzere böbrek, beyin, testis, akciğer, kalp ve diğer dokular üzerinde güçlü toksik etkilere sahiptir. Deneysel çalışmalarda başlıca hepatotoksisiteyi indüklemek, fibrozis ve siroz modeli oluşturmak için, son yıllarda ise böbrek yetmezliği modellerinde sıklıkla kullanılmaktadır. CCl_4 'ün dokulara verdiği hasardaki temel mekanizma, toksik bir radikal olan triklorometile dönüşümü ile olur. Triklorometil, Sitokrom P450 enzim sistemi tarafından triklorometil peroksit radikaline dönüşür. Serbest radikaller; apoptoz, nekroz, otofaji gibi birçok biyolojik sistemi tetikler (2).

Akciğer dokusu üzerindeki etkilerine bakıldığında serbest radikaller, akciğer hücre zarının yağ asitleri ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu ve DNA parçalanmasını artırır. Bunun yanında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon, katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimleri baskılamaktadır. CCl_4 'ün, intraalveolar septal yırtıklar, interstisyel hücre dejenerasyonları ve fibrozis oluşumunu indükleyerek, akciğer toksisitesine neden olduğu literatürde gösterilmiştir. Artan reaktif oksijen türleri (ROS), kan damarlarında nötrofillerin, fibroblastların ve makrofajların birikmesi nedeniyle akciğer kanseri, pulmoner fibroz, kronik bronşit, amfizem ve plevral hastalıklarda rol oynamaktadır (3, 4). Alveolar makrofajlar, tümör nekroz faktörü- alfa ($\text{TNF-}\alpha$), interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-1beta (IL-1 β) gibi sitokinleri serbest bırakarak inflamatuvar hücrelerin birikmesini indüklerken, büyüme faktörlerinin açığa çıkması ile fibrojeniz süreci oluşur. (5).

Son çalışmalar serbest radikallerin ve inflamatuvar süreçlerin hasara neden olan etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için doğal kaynaklardan elde edilen fenolik bileşenler içeren antioksidanlar üzerinde durmaktadır (1).

Kurkumin (diferuloilmetan), zerdeçal (*Curcuma longa*) baharatında bulunan doğal bir bifenolik bileşiktir. Kurkuminin, çeşitli hastalıklarda ve hayvan modellerinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör aktiviteye sahip olduğu

bulunmuştur. Kurkuminin bu mekanizmaları etkilenen hücreye ve hasarın derecesine göre değişebilmektedir (6).

Geleneksel tıpta yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisi için kurkumin kullanılmaktadır. Son on yılda, kurkuminin terapötik özellikleri yavaş yavaş aydınlatılmıştır. Kurkuminin, inflamatuvar yanıtlarla karakterize akciğer hastalıkları için tedavi edici olabildiği hatta akciğer kanseri tedavisinde de etkili olabileceği düşünülmektedir. Pulmoner hastalıkta kurkumin kullanımına ilişkin kanıtlar çoğunlukla in vitro veya hayvan modelleri kullanılarak elde edilmiştir (7).

Kurkumin, güçlü antioksidan etkisini SOD, glutatyon peroksidaz (GPX) gibi enzimlerin aktivitesini uyarak gösterir (8). Kurkumin aynı zamanda hidrojen peroksit, ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahiptir. Kurkumin, peroksit radikallerini temizleyerek E vitaminine benzer şekilde hareket eder ve bu nedenle zincir kırıcı bir antioksidan olarak kabul edilir. Kurkumin ayrıca malondialdehit (MDA), tiyoller ve protein karboniller gibi oksidanların seviyelerini azaltır. Bununla birlikte, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (9). Kurkuminin insanda 3 ay boyunca 8g/gün oral kullanımı herhangi bir toksik ve tehlikeli etkiye neden olmamıştır (10). İnsanlarda kurkumin kullanımıyla ilgili en önemli sorun, zayıf biyoyararlanımıdır, bu da adjuvanların, kurkumin nanoparçacıklarının veya lipozomların kullanılmasını gerektirir (11).

Literatürde CCl₄'ün neden olduğu akciğer hasarında kurkuminin koruyucu etkisine yönelik herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızın bu boşluğu doldurarak literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

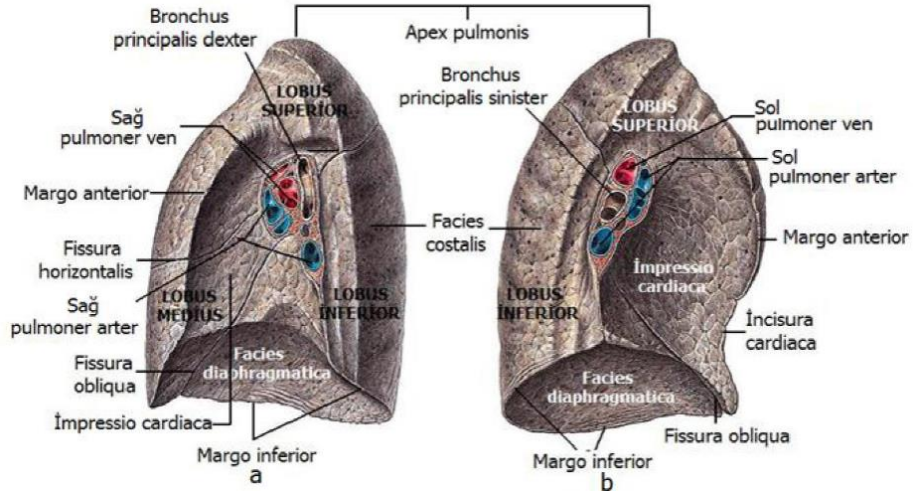
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Anatomisi

Anatomik olarak solunum sisteminin incelenmesi iki bölümde yapılır.

- ✓ Nazal kaviteler, paranasal sinüsler ve nazofarinks solunum sisteminin üst kısmını;
- ✓ Trakea, bronşlar, bronşiyoller ve akciğerler solunum sisteminin alt kısmını oluşturur (12).

Erişkin bir insanda sağ akciğerin ağırlığı sol akciğerden daha fazladır. Sağ akciğer iki fissür ile üç loba ayrılırken sol akciğer tek fissür ile iki loba ayrılır. Akciğerlerin apex pulmonalis denilen tepesi, basis pulmonalis denilen tabanı, margo anterior, margo inferior ve margo posterior denilen üç kenarı ve facies costalis, facies mediastinalis, facies interlobaris ve facies diaphragmatica olarak isimlendirilen dört yüzü vardır. Her bir akciğer pleura denilen seröz iki yapraklı bir zarla kaplıdır. Sağda ve solda bu pleura birbirinden ayrıdır. Sternumun üst yarısında ise temas ederler. Akciğerler, anatomik ve fonksiyonel olarak bağımsız bronkopulmoner segmentlerden oluşur. Her bir segment cerrahi olarak da birbirinden ayrıdır. Sağ akciğer 10, sol akciğer ise 8-10 arasında değişen segmentlere sahiptir. Bronkopulmoner segmentler bronchioluslara ayrılarak devam eder ve akciğerlerin fonksiyonel ünitesi olan alveoli pulmonis şeklinde sonlanır. Her bir akciğerde 300 milyonun üzerinde alveol vardır. Beslenmesine bakıldığında sağ akciğer 1, sol akciğer 2 tane bronşiyal arter ile beslenir. Her akciğere ait 2 tane bronşiyal ven vardır. Alveol duvarlarında lenfatikler yoktur ve hava yollarının ağrı duyusunu vagus siniri taşır (13, 14).



Şekil 1. Akciğer anatomisi a: Sağ akciğer b: Sol akciğer (15).

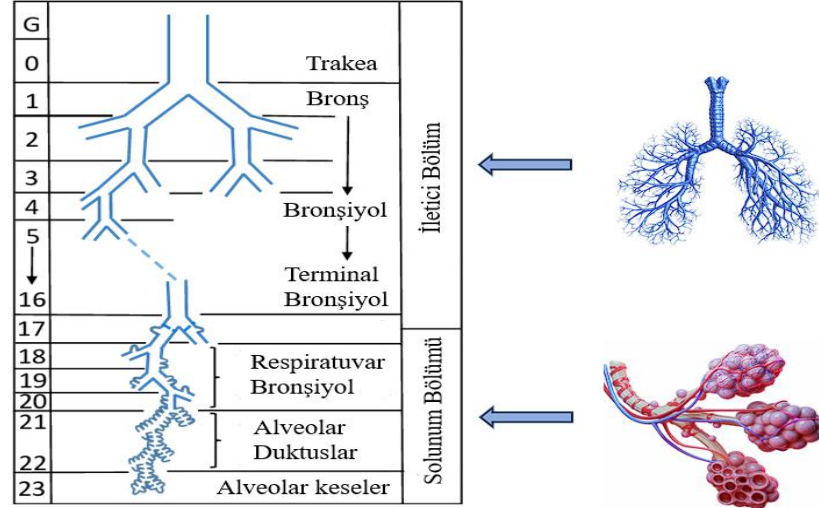
2.2. Akciğer Histolojisi

Solunum sistemi; akciğerler ve onlara havanın ulaşmasını sağlayan hava yollarından oluşur. Solunum sistemi fonksiyonel olarak solunum bölümü ve iletili bölüm olmak üzere 2'ye ayrılır. Hava ile kan arasında gaz değişiminin yapıldığı solunum bölümü alveolar duktuslar, alveolar keseler ve alveollerden oluşur. İletici bölümse hem akciğerlerin içinde hem de dışında devam eden, havanın iletimini sağlayan yollardır. İletici bölümde gaz değişimi gerçekleşmez burun, farinks, larinks, trakea, bronşlar, bronşiyoller ve terminal bronşiyollerden oluşur (16). İletici bölüm çoğunlukla goblet hücrelerinden zengindir ve kinosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir (17).

Orta hatta trakeanın 2 ayrı primer bronşa ayrılması ile bronşların dallanması başlar ve alveoller oluştuğunda dallanma sonlanır. Bu dallanma sistemi bronş ağacı olarak adlandırılır. Primer bronşlar histolojik özellik olarak trakea ile benzerdir. Bronş duvarı epitel, lamina propriya ve muskularis mukozadan oluşan mukoza, submukoza, kıkırdak ve adventisyadan oluşur. Trakeada muskularis mukoza bulunmamasıyla birlikte bronşun epitel kalınlığı, trakeanın epitel kalınlığından daha incedir (12).

Bronşlar dallandıkça epitel incilir ve goblet hücre sayısı azalır. Goblet hücreleri terminal bronşiyollere kadar bulunur. Terminal bronşiyollerden sonra ise

hiç bulunmaz. Clara hücrelerinin silyaları yoktur, Clara hücreleri terminal ve respiratuar bronşiyollerde bulunurlar. Clara hücreleri salgıladıkları sürfaktan benzeri bir madde ve glikoprotein ile bronşiyol epitelinin korurlar (13).



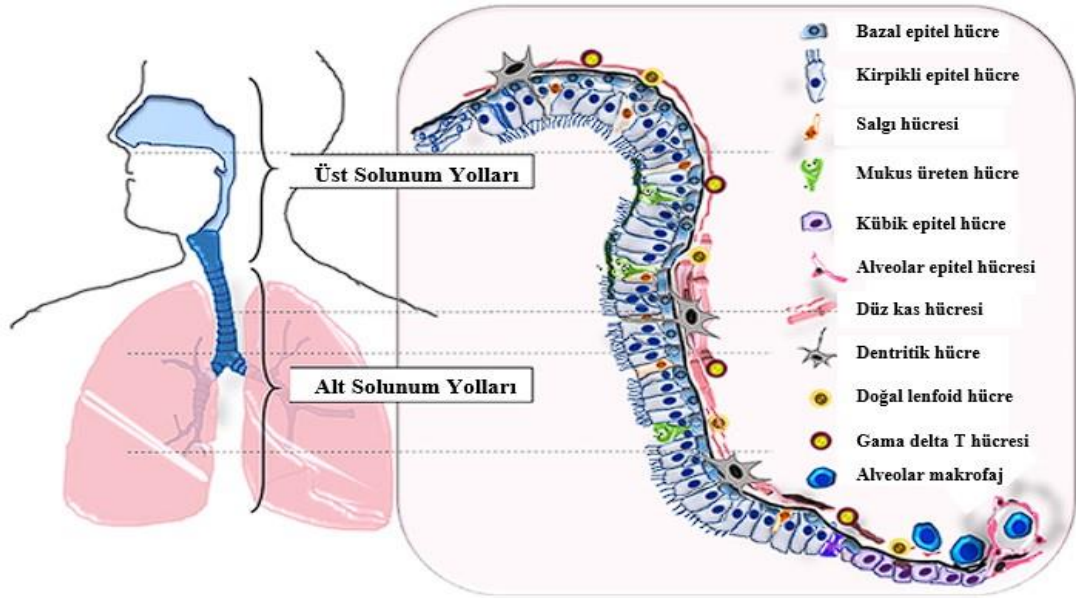
Şekil 2. Akciğer organizasyonunun şematik gösterimi (18).

Bronşiyollere doğru ilerledikçe epitel tek katlı prizmatik epitele dönüşür. Daha sonra da kübik şekil alır. Bronşiyol epitellerinde goblet hücre sayısı bronşlardan daha azdır. Prizmatik hücrelerin kinosilyumları da bronşiyollerde çok daha az görülmektedir. İnce seyreden lamina propria elastik liflerden zengindir. Lamina propria ile submukoza arasında yer alan muskularis mukoza büyük bronşlarda tam bir tabaka şeklindeyken; küçük bronşlarda kesintilere sahiptir. Submukozada daha az serömüköz beze rastlanır. Kıkırdak tabakası trakeada C harfi şeklindedir, bronşlarda yassı kıkırdak parçalarından oluşur, bronşiyollerde ise ortadan kaybolur. Submukozadan sonra bir bağ dokusu olan adventisya gözlenir. Lenfosit toplulukları Lamina propria ve adventisyada yer almaktadır (12).

Bronşiyol epiteli başlangıçta seyrek yerleşimli goblet hücrelerine sahiptir. Epiteli ise kinosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epiteldir. Epitelin kinosilyumu bronşiyolün çapında daralma oldukça tek katlı prizmatik epitel formunu alır. Terminal bronşiyollere doğru goblet hücreleri görülmemeye başlanır. Terminal bronşiyoller tek katlı alçak prizmatik veya kübik epitle döşeliyken respiratuar bronşiyoller tek katlı kübik epitele sahiptir. Respiratuar bronşiyollerden sonra kinosilyum yapıları artık görülmez. Goblet hücrelerinin kinosilyumlardan önce ortadan kalkması mukusun sistemde birikiminin önlenmesi açısından son derece

önemlidir. Aynı zamanda respiratuar bronşiyollerin duvarları kesintilidir. Alveoller buraya açılarak duvarların kesintili olmasına neden olur.

Terminal ve respiratuar bronşiyollerde bulunan hücreler; Clara hücreleri, bazal epitel hücreleri, granüllü hücreler bulunur. Clara hücreleri en yoğun olarak respiratuar bronşiyollerde bulunan, lipoprotein yapısında madde sentezleyen hücrelerdir. Apikal bölümleri lümene doğru kubbe şeklinde kabardığı için bu hücreleri tanımak kolaydır. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum, supranükleer golgi kompleksi, mitokondriyon ve çok miktarda sekretuar granül bulunur. Granüllerin protein içeriği sitoplazmanın asidofil boyanmasına neden olur. Bronşiyoller hasardan ve inflamasyondan koruyan Clara hücreleri tarafından sentezlenen Clara hücre proteini sekresyon ile hava yolunda bulunur ve seruma geçer. Bronşiyol epitelinin alt tabakasında lamina propriya bulunur. Bu lamina propriya elastik lifler içerir. Lamina propriyanın hemen altında, sirküler seyreden düz kas tabakası vardır. Bu tabakanın altında submukoza bulunmaz, kas tabakasını ince bir adventisya çevreler (13, 17).



Şekil 3. Alt ve üst solunum yollarının hücresel bileşimi (19).

Solunum sisteminin alt ve üst kısımları farklı işlevler için özelleşmiş hücreler içerir (20). Tüm solunum yolu boyunca bazal membrana bağlı bazal hücrelerle kaplı epitel bulunur. Skuamöz epitel hücreleri solunum yolunun başlangıcı olan burunda ve

solunum yolunun son kısmı olan alveollerde vardır. Silyalı ve silyalı olmayan kolumnar epitel üst solunum yolunu ve büyük bronşları oluştururken, küboidal epitel küçük bronşları ve bronşiyolları döşer. Epitel hücrelerini kaplayan yüzey sıvısı, mukus üreten hücrelerden salgılanan mukustan, salgı hücrelerinden salgılanan hava yolu sıvılarından, nötralize edici immünoglobulinlerden ve antimikrobiyalardan oluşur. Dendritik hücreler, gama delta T hücreleri ve doğal lenfoid hücreler gibi yerleşik lökositler mukozayı kaplarken, alveolar makrofajlar ise alt solunum yollarında ve alveollerde bulunur (19).

2.3. Akciğer Embriyolojisi

2.3.1. Akciğer tomurcuklarının oluşumu

Solunum sisteminin primordiyumu genellikle 28. günde orta hatta primordial farinksin kaudal ucunda laringotrakeal oluk (divertikül) olarak başlar. Laringotrakeal divertikül kaudal yönde genişledikçe ön bağırsaktaki trakeoözefageal septumları oluşturan trakeoözefagial kıvrımlardan ayrılır. Bu septumlar ise dorsalde özefagusu, ventralde laringotrakeal tüpü oluşturur. Laringotrakeal divertikülün endodermi akciğer epitelini ve bronşların epitelinin oluşmasını sağlar. Laringotrakeal tüpün endoderminden alt respiratuar organların epiteli ve trakeobronşial bezler oluşur. Laringotrakeal tüpü çevreleyen splanknik mezenşimden ise trakea ve akciğerlerin kıkırdak ve bağ dokusu, kas dokuları, kan ve lenfatik damarları meydana gelir. Laringotrakeal divertikülün distal ucu iki bronş tomurcuğuna ayrılacak olan solunum tomurcuğunu verir. Her bronş tomurcuğu kısa sürede genişleyerek bir ana bronş oluşturur. Ana bronş ise segmentel, subsegmentel ve lobar olmak üzere alt bölümlere ayrılır, Çevresiyle birlikte her segmentel bronş tomurcuğu bir bronkopulmoner segmentin primordiumudur. Dallanma yaklaşık 17 sıra oluşana kadar devam eder. Doğumdan sonra ise yaklaşık 24 sıra tamamlanmış olur (21-23).

- 4. haftada gelişen solunum tomurcuğu primer bronş tomurcukları denen iki keseciğe ayrılır.
- 5. hafta başında bu tomurcukların her biri çevreleyen mezenşim ile birlikte sağ ana bronşları ve sol ana bronşları meydana getirecek şekilde ilerler ve

Kaplan'ın. Somatic mezodermiden genişlen parietal plevra göğüs duvarını

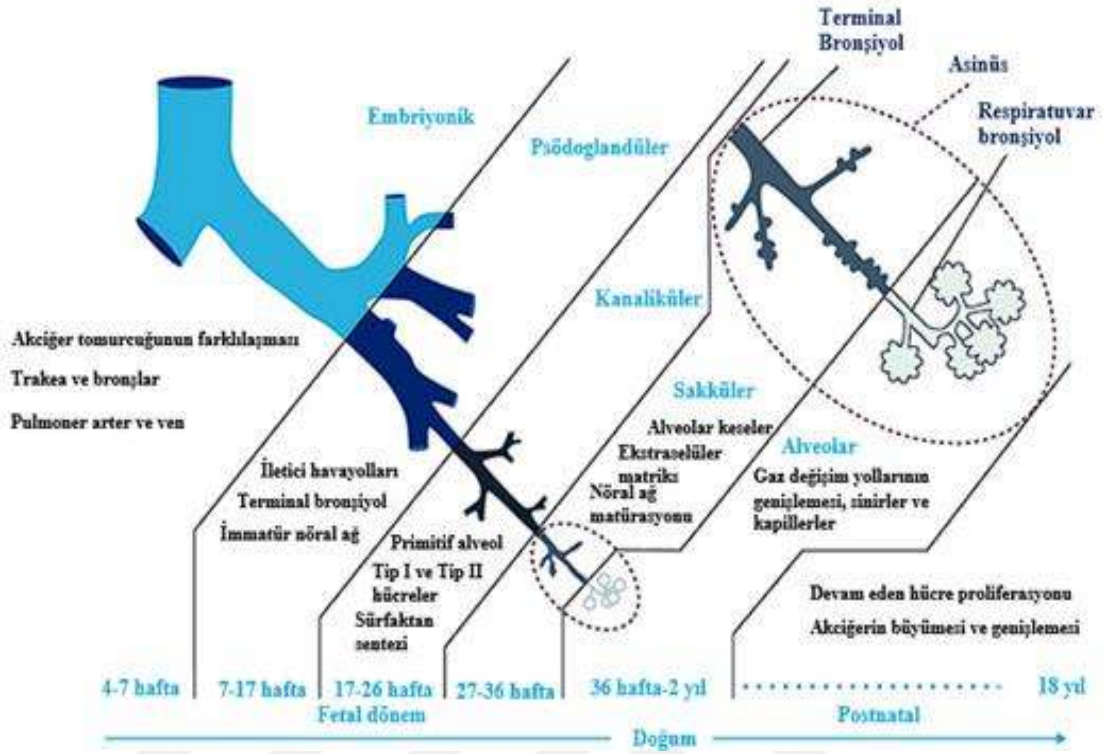
- Kaplan'ın. Somatic mezodermiden genişlen parietal plevra göğüs duvarını

Kaplan'ın. Somatic mezodermiden genişlen parietal plevra göğüs duvarını



Şekil 4. Akciğer gelişimi (24).

2.3.2. Akciğerlerin Olgunlaşması



Şekil 5. Akciğer gelişiminin evrelemesi (25).

Akciğerlerin embriyonik dönemden sonra olgunlaşması 4 evrede incelenir.

1- Psödoglandüler evre: Akciğerler bu evrede histolojik olarak ekzokrin salgı bezini andırır. Bu evrede gaz alışverişi fonksiyonu olmayan akciğerin tüm temel yapısal elemanları meydana gelir. Bu aşamada gerçekleşen doğum yaşamlı bağdaşmaz. Solunum mümkün değildir.

2- Kanaliküler evre: Bu evrede bronşların lümenleri genişler, akciğer dokusunun damarlanması artar. 24. haftaya kadar geçen süreçte terminal bronşiolardan respiratuvar bronşiol oluşmuştur. Respiratuvar bronşiolollerin her biri de 3-6 arası alveolar kanalları verir. Bu evre sonunda respiratuvar bronşiol uçlarında alveollerin başlangıç biçimi olan terminal keseler belirlediği için solunum mümkün hale gelir. Bu evrede doğan bebekler için yoğun bakım şartlarında fonksiyon gösterebilse de solunum sisteminin olgunlaşması yeterli değildir.

3- Terminal kese evresi: Terminal keseler çok sayıda görülür ve kese epitelleri incelmıştır. Epitel ve endotel hücreleri arasındaki kan hava bariyeri oluşur. 20. haftadan 26. haftaya kadar terminal keseler endoderm kökenli Tip I Pnömositler ile döşenmiş olurlar. Tip II Pnömositler 20. haftada belirir ve 6. ayın sonunda sürfaktan salgılamaya başlar. Ancak sürfaktan başlangıçta az miktarda üretilirken özellikle gebeliğin son evrelerinde, doğumdan önceki son haftalarda artar. 24. Haftadan sonra doğan fetüsler yaşayabilir, ancak sürfaktan yetersizliği nedeniyle solunum güçlüğü (respiratuar distress) çekerler.

4-Alveoler evre: Terminal kese evresinin sonlandığı ve alveolar aşamanın başladığı evredir. Terminal keselerin epitel çizgisi ince bir skuamöz epitel tabakasına dönüşür. Tip I pnömositler o kadar ince olur ki komşu kılcal damarlar alveol keselerine doğru şişer. Geç fetal dönemde akciğerlerin solunum kapasitesi vardır. Çünkü alveolar kapiller membran (pulmoner difüzyon bariyeri veya solunum membranı) gaz değişimine izin verecek kadar incelmıştır. Akciğerler bu önemli fonksiyonuna doğuma kadar başlamamasına rağmen bebek doğar doğmaz bunu yapabilecek kadar iyi gelişmişlerdir. Alveolar evrenin başlangıcında her bir respiratuar bronşiol alveolar keselerde sonlanır. Bu keseler birbirinden gevşek bir şekilde ayrılmış ince bağ dokudan oluşan duvarlara sahiptir. Olgun alveollerin çoğu doğumdan sonra gelişir. Primordial alveoller alveolar keselerin duvarında küçük bir çıkıntı şeklinde görülürken doğumdan sonra genişler. Bu da respiratuar bronşiyollerin ve alveollerin boyutundaki artıştan daha çok sayıca artışı ile ilgilidir.

Alveol gelişimi büyük ölçüde 3 yaşında tamamlanır, ancak yeni alveoller yaklaşık 8 yaşına kadar eklenir. Olgun alveollerin aksine, olgunlaşmamış alveoller ek primordial alveoller oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu alveollerin boyutları arttıkça olgun hale gelirler. Doğumdan önceki dönemde, alveoller küçük çıkıntılar şeklinde gözlenir. Doğumdan sonra, ilkel alveoller genişler. Akciğer büyümesi, ilkel alveol sayısındaki artış ile alveol büyüklüğündeki artıştan kaynaklanmaktadır.

Zamanında ve yeni doğmuş bebeğin akciğerinde yaklaşık 50 milyon (ergin sayısının 1/6'sı) alveol bulunur. Bu nedenle, röntgende, yenidoğan bebeklerin akciğeri, erişkin akciğerinden daha radyopaktır. 8 yaşında bir çocukta 300 milyon alveol bulunur. Alveollerin büyük çoğunluğu postnatal gelişir. Solunum hareketleriyle akciğerlere dolan amniyon sıvısı, akciğerlerin gelişimini uyaracağı için solunum hareketleri erken başlar. Doğum zamanı yaklaştıkça artar.

3-8 yaş arası olgunlaşmamış alveollerin sayısı artmaya devam eder. Alveollerin artışı, primordial alveollerin bölünmesini sağlayan bağ dokularının oluşması ile olur. Başlangıçta bu bölmeler kısa süre sonra gaz alışverişini sağlayacak kadar inceler (21, 22).

2.4. Karbon tetraklorür ve Kullanım Alanları

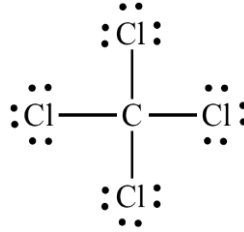
Karbon tetraklorür kolayca buharlaşabilen merkezinde bir karbon atomu ve etrafında dört klor iyonu bulunan doğal olarak meydana gelmesinin yanı sıra, birçok kimyasal reaksiyon sonucu oluşan, kararlılığı güçlü, kokusuz ve yanıcı olmayan bir moleküldür. Çevrede bulunan karbon tetraklorürün çoğu gaz haldedir (1, 2).

Endüstriyel olarak metan, propan, etan, propen veya karbon disülfürün klorlanmasıyla üretilir. Tahıl fümigantı, kemirgen öldürücü kimyasallar, katı yağlar, kauçuk çimentolar ve reçineler için çözücü olarak kullanılır. Özellikle sanayide yangın söndürücülerde, yağ giderme ve temizleme maddesi olarak kullanılmıştır. Daha önceki petrol türevi çözücülerin yüksek maliyeti nedeniyle kuru temizlemede karbon tetraklorür kullanılmaya başlanmış ve bu kullanım toksisitesi ve aşındırıcılığı nedeniyle durdurulmuştur. Şimdiye kadar en büyük kullanımı, hidroflorik asit ile reaksiyona girerek kloroflorohidro karbonların (CFH) üretiminde olmuştur. Bunlar aerosol itici gazlar, soğutucular ve köpürtücü maddeler olarak kullanılmıştır, ancak CFH'lerin kullanımının azalması ve son yıllarda bu maddelerin bazılarının yasaklanması, karbon tetraklorür üretiminde ve kullanımında azalmaya sonuçlanmıştır (26).

2.4.1. Karbon tetraklorürün etki mekanizması

Hayvanlarda karbon tetraklorür (CCl_4) toksisitesi, oksidatif stres aracılığı ile multisistemik hasar oluşturan deneysel bir model olarak sık kullanılmaktadır. CCl_4 'ün toksisitesi triklorometil radikalinin ($CCl_3\bullet$) oluşumuna bağlıdır, bu radikal oksijen varlığında triklorometil peroksil radikalini ($CCl_3O_2\bullet$) oluşturur. Oluşan serbest radikaller vücudun pekçok dokusunda potansiyel olarak hasar vericidir (27).

CCl₄ solunum yolu ile de vücuda girer ve metabolitlerinin çoğu böbreğe, karaciğere, beyne, akciğerlere ve iskelet kasına zarar verirken bir kısmı geçici olarak yağ dokusunda birikir. CCl₄'ün kısmı vücuttan atılmadan önce zararlı etkilere neden olabilen kloroform ve hekzakloroetan gibi diğer kimyasallara dönüşebilir (2).



Şekil 6. CCl₄ Lewis noktasal yapısı (28).

2.4.2. Karbon tetraklorürün insan organizması üzerindeki etkileri

Karbon tetraklorüre inhalasyon maruziyeti, endüstride bu kimyasalın neden olduğu zehirlenmelerin en sık nedenidir. Ancak deriden de kolayca emilebilir. İnsanlarda ve deney hayvanlarında esas etkilediği organ karaciğer olmakla birlikte akciğerler, böbrekler, böbrek üstü bezleri ve merkezi sinir sisteminde de hasara neden olmaktadır (26). CCl₄'ün metabolizması sonucu oluşan radikal ürünler hücresel mekanizmaları etkiler ve hücre zarlarına saldırarak lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu tür etkiler, maruziyetin seviyesine ve etkilenme derecesine göre geri döndürülebilir etkilerdir.

Yüksek düzeyde karbon CCl₄'e maruz kaldıktan sonra akut dönemde genellikle, mide bulantısı ve kusma, baş ağrısı, baş dönmesi ve uyku hali gibi zehirlenme belirtileri oluşur. Şiddetli vakalarda, stupor ve komaya ilerleyerek sinir hücrelerinde kalıcı hasar meydana gelebilir. CCl₄'ün böbrek, akciğer, cilt ve beyin üzerindeki etkileri de karaciğer kadar yaygın ve önemlidir. Üreme sisteme üzerindeki etkilerine bakıldığında ise sıçanlarda yapılan çalışmalar, uzun süreli inhalasyonun doğurganlığın azalmasına neden olabileceğini göstermiştir (2).

2.4.3. Karbon tetraklorürün neden olduğu akciğer toksisitesi

CCl_4 'ün neden olduğu akciğer hasarında inhalasyon ile maruziyetin yanında etkili olan başka yollar da vardır. Oral ya da deriden maruziyet de serbest radikallerin kan dolaşımı ile akciğere gelmesini sağlar. Pulmoner ödem, belirgin hemorajik konjesyon atmosferdeki karbon tetraklorüre yüksek seviyelerde maruz kalan insanların akciğerlerinde yaygın bir bulgudur. CCl_4 'ün akciğer üzerindeki indirekt etkisi ise şiddetli böbrek hasarına ve hepatotoksisiteye sekonder olarak gelişir. Böbrek yetmezliğinin neden olduğu ilerleyici üremi, eşlik eden elektrolit retansiyonu ve hücre dışı sıvı birikmesi olası bir pulmoner ödem nedenidir (2).

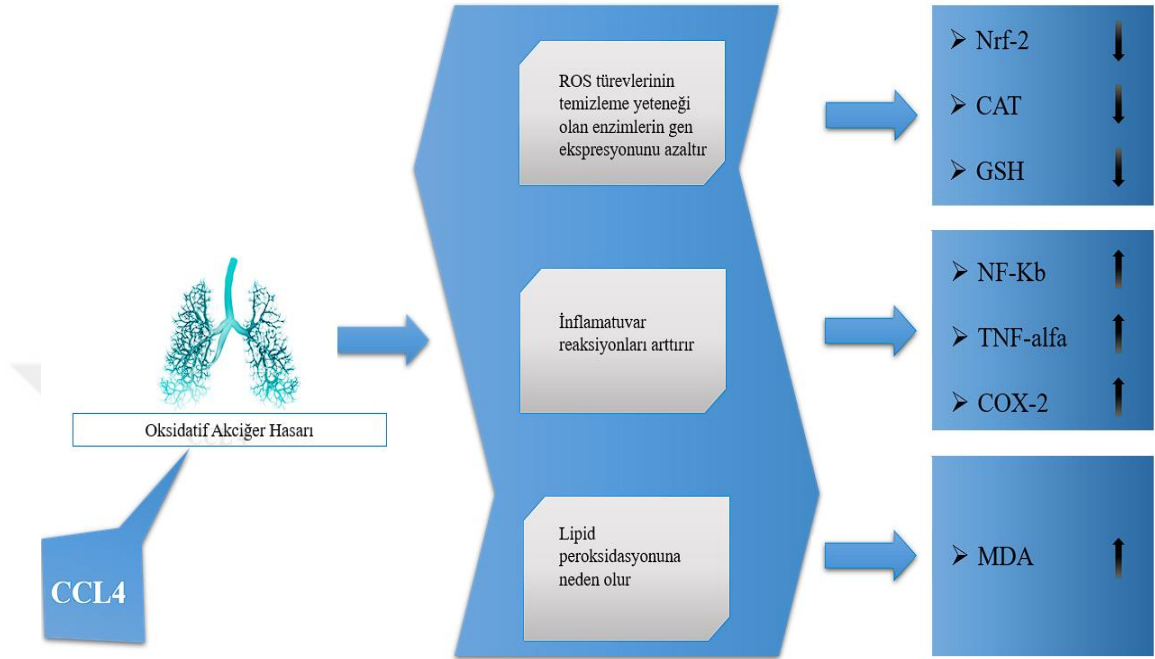
CCl_4 'ün neden olduğu hepatotoksisite ve bunu izleyen hepatik siroz, sitokrom P450'nin enzimatik kompleksi tarafından ROS üretilmesi ile gerçekleşir. Karaciğerdeki vasküler hasar akciğerleri de etkilemektedir. CCl_4 'ün neden olduğu karaciğer hasarı sonucunda karaciğerden akciğere sinyalleşme eksenini bozular. CCl_4 'ün hepatik hasar yaparak portal hipertansiyona neden olduğu bilinmektedir. Portal hipertansiyonun altta yatan karaciğer hastalığına sekonder olup olmadığına bakılmaksızın, portal hipertansiyon ile ilişkili pulmoner hipertansiyon gelişir (29, 30).

Akciğer dokusuna bakıldığında alveolar tip II hücrelerin CCl_4 'e maruz kalması fosfolipit sentezinde yer alan bazı enzimlerin ihtiyaç duyduğu bir kofaktör olan hücre ATP'de hızlı bir kayba neden olur. Akciğer dokusundan izole edilen mitokondriler ile yapılan çalışmalar, CCl_4 'ün ADP'den ATP sentezini katalize eden enzim kompleksini inhibe ettiğini göstermektedir. CCl_4 'ün solunması, alveolar tip II hücrelerde ATP seviyelerini düşürerek sürfaktan fosfolipid sentezini bozabilir (31). Tip I pnömositlerde sitoplazmada görülen dejeneratif değişikliklere, tip II pnömositlerde sürfaktan lamellerinin parçalanmasına neden olmaktadır (32).

Bronşiyollerde bulunan Clara hücresi ve alveolar Tip II hücrelerinin akciğerdeki sitokrom P-450 monooksijenazların başlıca lokuslarıdır. CCl_4 'ün metabolize edilmesi Clara hücrelerinde ve tip II pnömositlerde direkt hasara neden olur (33).

CCl_4 metabolizması sonucu açığa çıkan serbest radikaller, akciğer dokusunda hücre zarının esas bileşeni fosfolipitlerin yıkımı ile lipid peroksidasyonuna neden

olur, Aynı zamanda oluşan ROS'lar DNA yapısını etkileyerek dokudaki CAT, SOD gibi enzimatik antioksidanların aktivitesini azaltır. CCl₄ toksisitesi ile artan ROS üretimi, TNF- α , IL-1 β ve interlökin-2'nin (IL-2) gibi proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimine neden olur (34).



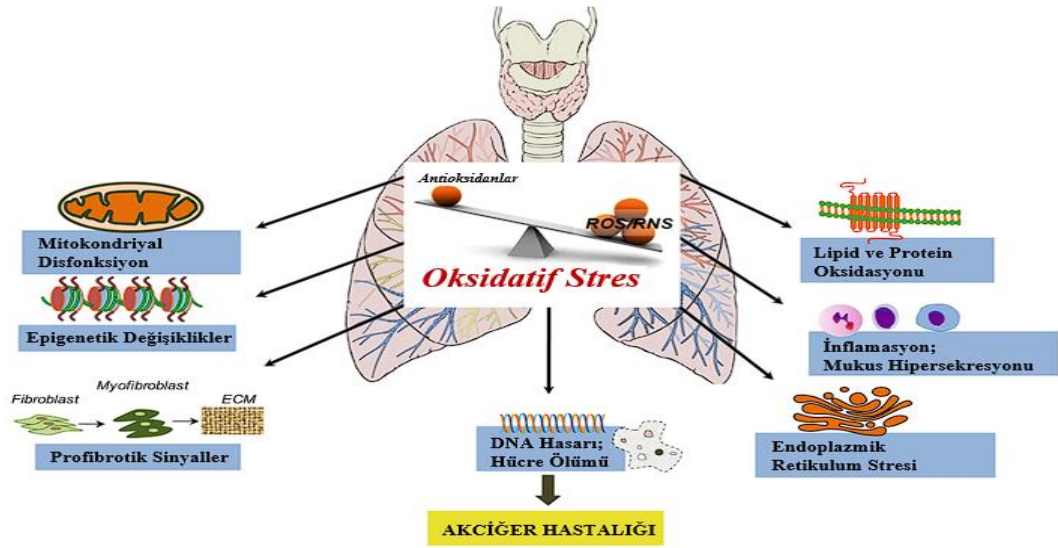
Şekil 7. CCl₄'ün neden olduğu oksidatif akciğer hasarının mekanizması (35).

2.5. Oksidatif Stres

Solunum yolu, hem endojen hem de eksojen süreçlerin neden olduğu oksidatif hasarın ana hedefidir. Fagositler tarafından üretilen ROS, kronik inflamatuvar akciğer hastalığı ile ilişkili doku hasarı oluşturur. Oksidatif stres, akciğer hasarı belirteçlerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artışa yol açar. CCl₄, sitokrom P450 enzimatik kompleks aracılığıyla ortaya çıkan metabolik değişikliklerden serbest radikallerin ve reaktif türlerin oluşumu yoluyla hasara sebep olabilir. CCl₄'ten triklorometil (CCl₃•) ve triklorometil peroksil (•OOCCl₃) olarak üretilen serbest radikaller; endoplazmik retikulum, golgi cisimciği, plazma zarı ve mitokondriyi etkileyerek hücre yapısını bozar (36).

Hem endojen hem de eksojen kaynaklardan gelen reaktif oksijen türleri, koroner arter hastalığı, inme gibi çeşitli hastalıklarının etiyolojisinde yer alabilir.

Antioksidan açısından zengin diyetler, bu patolojiler için azaltılmış risk ile ilişkilidir ve koruma genellikle C vitamini, E vitamini ve β -karoten gibi antioksidan vitaminler sayesinde olur. Antioksidan ürünler doğal olarak serbest radikalleri süpürme işlevi görebilir ve özellikle vücudun savunma sistemini uyarabilir. Flavonoidler, meyvelerde, sebzelerde ve bitkilerde bulunan polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidlerin ve diğer bitki fenoliklerinin, antioksidan aktivite, antiinflamatuvar etki, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, antimikrobiyal aktiviteler dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (37, 38).



Şekil 8. Oksidatif stresin akciğerde organeller düzeyinde etkileri (39).

Şekil 8'de gösterildiği gibi oksidatif stres, makromoleküler hasarı indüklemenin yanı sıra, inflamatuvar yanıtlar, mitokondriyal disfonksiyon, ER stresi, hücre ölümü ve epigenetik değişiklikler gibi diğer patolojik süreçlere neden olur. Deneysel kanıtlar, antioksidan tedavinin oksidatif stres aracılı makromoleküler hasarı ve anormal sinyal iletimlerini azaltabileceğini, hastalığın gelişmesinden ve ilerlemesinden koruyabileceğini göstermektedir (39).

ROS ve RNS türevlerini detoksifiye etme veya nötralize etme kapasitesinin azalmasıyla birlikte yüksek hücrel ROS ve RNS seviyeleri, oksidatif ve nitratif stres durumuna neden olur. Biyolojik sistemlerde lipit peroksidasyonu (LPO), hücrel membran lipitlerinin oksidasyonunu ifade eder ve kontrolsüz LPO, oksidatif

stres durumuna neden olan en önemli biyolojik süreçtir. Aşırı LPO proinflatuar yanıtın aktivasyonuna neden olur (39, 40).

2.6. Fonksiyonel Beslenme

Fonksiyonel besin terimi ilk olarak 1980'lerin ortalarında vücut işlevlerine yardımcı olan besleyici bileşenler içeren işlenmiş besinleri tanımlamak için Japonya'da ortaya çıkmıştır. Kore'de ise fonksiyonel besinler, normal beslenmeyi desteklemek amacıyla güvenilir dozlarda hap ve tablet formunda besin takviyesi olarak tanımlanmaktadır. Şu anda, fonksiyonel besinler için evrensel olarak kabul edilmiş bir terim yoktur. Ancak genellikle fonksiyonel besinler; normal beslenmenin bir parçası olarak tüketilmesi amaçlanan, doğal olarak biyolojik aktif bileşenler içeren sağlığı geliştirici ve hastalık riskini azaltıcı potansiyeli olan besinleri tanımlar.

Fonksiyonel besinler belirli mineraller, vitaminler, yağ asitleri, probiyotikler, diyet lifi içeren fitokimyasallar gibi biyolojik olarak aktif maddeleri içerirler. Meyve, sebzeler ve baharatlar fonksiyonel besinler için en ideal örneklerdir. Örneğin; domates likopen içeriği ile üzüm ise resveratrol'den zengin olduğu için fonksiyonel besinler olarak kabul edilirler. Fonksiyonel besinler, sağlıkla ilgili faydalar sağlayan ek bileşenler içermeli ve etkilerini normal bir diyetle tüketilebilen miktarlarda göstermelidirler (41-44).



Şekil 9. Fonksiyonel besin kavramının kapsadığı ürünler (45).

Bağıışıklık sistemini güçlendirme, kardiyovasküler problemler, osteoporoz, obezite, bazı kanser türlerinin riskini azaltma ve sağılığı iyileştirme potansiyeli fonksiyonel ürünlerin ön plana çıkmasına neden olmuştur (43).

Yaşam tarzındaki değışiklikler, daha az fiziksel aktivite ve yanlış beslenme, bulaşııcı olmayan hastalıkların günümüzde ciddi sorunlar yaratacak kadar yayılmasına neden olmaktadır. Bulaşııcı olmayan hastalıklar, her yıl 41 milyon insanı öldürmekte bu da dünya genelindeki tüm ölümlerin %74üne denk gelmektedir. Her yıl 17 milyon insan, 70 yaşından önce bulaşııcı olmayan hastalıklardan ölmektedir; Bu erken ölümlerin %86sı gelir düzeyi düşük ülkelerde meydana gelmektedir (46). Yaşam tarzı değışiklikleri ve diyet takviyelerinin tüketimi dışında, fonksiyonel besinlerin tüketimi de hastalıklara yakalanma riskini azaltabilir (47).

Fonksiyonel besinler başlığı altında bulunan nutrasötikler, "besin" ve "farmasötik" kelimelerinin birleşiminden oluşturulmuştur. Nutrasötikler, besin değerlerinden başka özellikle yararlı sağılık etkileri olan, besin kaynaklarından elde edilen bileşiklerdir. Son yıllarda, çok sayıda çalışma, bu tür bileşiklere odaklanmış, bunların toksik açıdan güvenilirliklerini ve obezite, diyabet, kanser nörodejeneratif hastalıklar üzerinde potansiyel etkilerini değıerlendirmiştir (48). Nutrasötik endüstrisi bitkisel/doğıal ürünler, diyet takviyeleri ve fonksiyonel besinler ile birlikte dir. (49)

Baharatlar, yiyeceklerin duyuşal kalitesini arttırmak için uzun yıllardır kullanılan fonksiyonel besinlerdir. Özellikle tropik ülkelerde tüketilen baharatların miktarı ve çeşitliliğı oldukça fazladır. Bunlar, yiyeceklere karakteristik tat, koku, keskinlik ve renk katar. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, çok küçük miktarlardaki diyet baharatlarının, hücreler üzerinde antioksidan, antimutajenik, antiinflamatuvar, bağıışıklık sistemini geliştirici etkileri üzerinde durmaktadır. Baharatlar, sağılıklı bir diyetin parçası olarak güvenilir dozlarda kullanıldıklarında çoğıu durumda toksik değıildir, ancak ilaç olarak kullanıldıklarında, uygulanan göreceli yüksek dozları, ilaçlarla ve besinlerle etkileşim olasılıkları nedeniyle zararlı etkiler sergileyebilirler (38, 49). Bitkisel kaynaklı bir baharat olan zerdeçal, içeriğıindeki polifenoller sayesinde terapötik özellikleriyle tanınmaktadır ve küresel pazarda çeşitli formölasyonları ve diyet takviyeleri mevcuttur (50).

Polifenollerin, gen düzeyinde ekspresyon, hücreler arası sinyalleşme, apoptoz, gibi çok sayıda mekanizma üzerinde etkisi vardır. Özellikle bulaşııcı

olmayan kronik hastalıklar üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Polifenollerin biyoyararlanımı, biyolojik aktivitelerini belirleyen önemli bir faktördür. Bu etkileri, polifenolün kimyasal özelliklerine, bağırsaklardaki emilimine ve metabolizma sürecindeki mevcut enzimlere bağlıdır (51, 52).

2.7. Kurkumin

Zerdeçal, en popüler araştırılan fonksiyonel besinlerden biridir ve *Zingiberaceae* familyasına aittir. Zerdeçal, Hindistan, Çin ve Güneydoğu Asya'da yetişen *Curcuma longa* Linn bitkisinden elde edilir. Genellikle 3-5 fit yüksekliğe ulaşır ve huni şeklinde sarı çiçekleri olan dikdörtgen yaprakları vardır. Zerdeçalın en yaygın kullanılan kısmı fitokimyasaldan zengin olan, vitamin ve mineral içeren köküdür. Zerdeçalın turuncu-sarı bir bileşeni olan kurkumin bir polifenoldür ve antiinflamatuvar, antioksidan, immünomodülatör, antibakteriyel, antikanserojenik, nöroprotektif, antihiperglisemik etkilere sahiptir (53, 54). Zerdeçalın temel polifenolik bileşenleri olan kurkumin, demethoxycurcumin (DMC) ve bisdemethoxycurcumin (BMC) topluca kurkuminoidler olarak isimlendirilir (50, 53).



Şekil 10. Kurkuminin biyoaktif türevleri (55).

Zerdeçaldaki kurkuminoidler öncelikle rizomlarda birikir. Zerdeçal rizomlarındaki kurkuminoidlerin içeriği, çeşitlere, yerlere, kaynaklara ve yetiştirme koşullarına göre değişir. Ayrıca hem kurkuminoidler hem de esansiyel yağlar, farklı ekstraksiyon yöntemleriyle içerik bakımından farklılık gösterir. Ekstraksiyon ve

depolama süreçlerinde ise kararsızdır. Dolayısıyla ticari zerdeçal ürünlerinin kalitesi önemli ölçüde değişebilir (56).

Zerdeçal ağırlıklı olarak nötr koşullarda katıdır. Kimyasal yapısı apolar olduğu için alkolde, asetonda ve dimetil sülfoksitte (DMSO) iyi çözünür (57). Kurkumin, hayvanlarda oral yoldan alınıp metabolizmaya uğradığında üretilen çoğu metabolitin, antioksidan özelliği bulunmaktadır (56, 57).

Zerdeçal, zengin bir karbonhidrat ve lif kaynağıdır. Ayrıca piridoksin, C vitamini, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve fosfor düzeyleri besin içeriği açısından zengin özellik sergilemesine neden olur (58).

Kanda ve dokuda düşük kurkumin seviyeleri; emiliminin zayıf olması, metabolizmasının ve eliminasyonun ise hızlı olmasından kaynaklanmaktadır. Düşük biyoyararlanıma rağmen, kurkuminin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, artrit, nörolojik hastalıklar için terapötik olarak etkinliği yüksektir (59). Zerdeçal, oral uygulamadan sonra indirgeme ve konjugasyon yoluyla metabolize edilir (60). Kurkumin, antioksidan, antiinflamatuvar, antienfeksiyöz, antikanserojen, karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkiler dahil olmak üzere birçok özelliğe sahiptir (61). Bununla birlikte, gebelik ve emzirme döneminde ve karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanımı kritik olarak değerlendirilmelidir (53).

2.7.1. Kurkuminin geleneksel tıpta kullanımı ve etki mekanizmaları

Zerdeçal, Asya ülkelerinin mutfaklarında baharat olarak kullanımının yanı sıra, böcek ilacı olarak da etkilidir. Ayurvedada yara iyileştirme, cilt problemleri ve solunum bozuklukları için kullanıldığı belirtilmektedir (50). Çin, Hindistan, İran ve Endonezya'da bazı geleneksel ilaçları formüle etmek için zerdeçal ve varyant fraksiyonlarını kullanılmaktadır. Zerdeçal yağı, antifungal, antimutajenik ve antibakteriyel aktiviteler gösteren esansiyel yağ asitleri içerir (53). Çeşitli proteinlere bağlanarak kinazların aktivitesini inhibe eder ve enflamatuvar enzimlerin, sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu düzenler (62). Kurkumin hücre zarından kolayca sitoplazmaya geçer ve apolar yapısı nedeniyle hücre zarı, endoplazmik retikulum gibi zarlı organellerde birikebilir (63).

2.7.2. Antioksidan aktivite

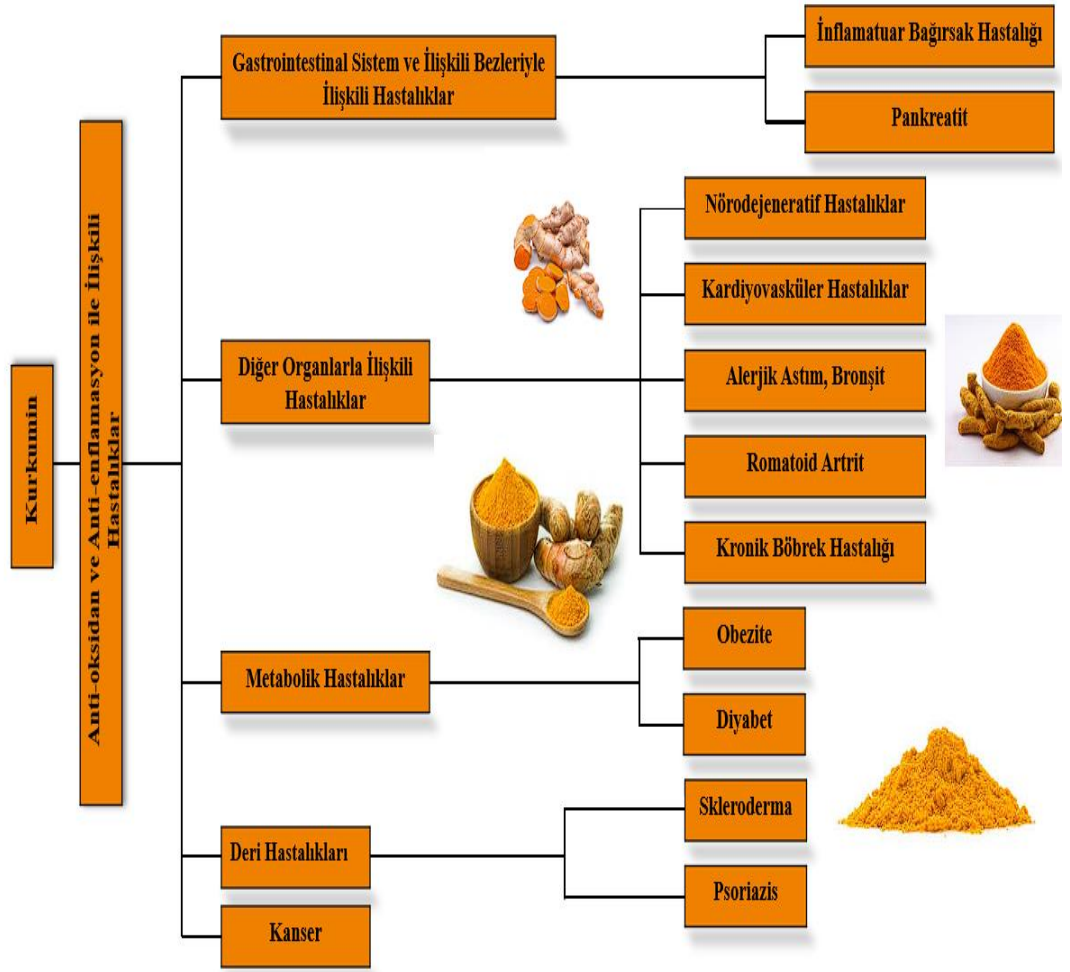
Kurkumin oksidatif stresin neden olduğu sistemik bulguları regüle etmektedir. Kurkuminin serbest radikaller üzerindeki etkisi birkaç farklı mekanizma ile gerçekleştirilir. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi farklı serbest radikal formlarını temizleyebilir ve serbest radikallerin nötralizasyonunda aktif olan GSH ve SOD enzimlerinin aktivitesini düzenleyebilir. Ayrıca ROS üreten enzimlerin inhibisyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan MDA serum konsantrasyonlarını azaltabilir. Kurkumin lipofilik bir bileşiktir, bu da onu peroksil radikallerinin etkili bir temizleyicisi yapar (64). Kurkumin doğal olarak birçok biyoaktif molekül içeren antioksidandır. Çeşitli organları oksidatif stres kaynaklı patolojilerden koruyabilir (57).

2.7.3. Antiinflamatuvar Aktivite

Oksidatif stres inflamasyonla yakından ilişkilidir. ROS ve RNS, proinflamatuvar gen ekspresyonunu artıran bir hücre içi sinyalleşme dizisini başlatır. Bir transkripsiyon faktörü olan NF-kappa B'nin (NF-κB) aktivasyonu ile TNF-α düzenlenir. TNF-α, çoğu hastalıkta inflamasyonun öncü sitokinidir. NF-κB, TNF-α'ya ek olarak çoğu inflamatuvar sitokin tarafından da aktive edilir. Kurkuminin birkaç farklı inflamatuvar uyaranla artan NF-κB aktivasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir. Kurkuminin inflamasyonu baskıladığı ve böylece potansiyel bir antiinflamatuvar ajan olarak etki mekanizmasını desteklediği gösterilmiştir (64, 65).

Kurkumin polifenolünün, histon/histon olmayan proteinlerin asetilasyonunun baskılanması ile metilasyonu etkileyerek TNF-α ekspresyonunu modüle etmektedir. Kurkumin aynı zamanda, proinflamatuvar sitokinleri, IL-1β, IL-8 ve TNF-α'yı azaltarak inflamasyonu engeller ve bu da sonunda NF-κB aktivasyonunun inhibisyonuna yol açar (57, 66).

Zerdeçal, sitokinler ve siklooksijenaz (COX)-2 ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi ilgili enzimler dahil olmak üzere proinflamatuvar mediatörlerin mRNA üretimini açıkça azaltır (67).



Şekil 11. Kurkuminin kronik hastalıklar üzerinde başlıca etkileri (68).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi (ZBEÜ), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 06.01.2022'de 2022-01-06/01 protokol numarası ile bu çalışmanın etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmanın her aşaması etik kurul yönergesine uygun olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (2022-98210206-04).

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Çalışmamızda ZBEÜ Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında üretilen 40 adet genç erişkin 10-12 haftalık, 300-350 gram ağırlığında Wistar albino türünde erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır. Gruplardan biri kontrol üçü deney grubudur. Deney süresince optimum laboratuvar koşulları altında (nem oranı $55\pm 8\%$, sıcaklık 22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) ve %21 ham protein içerikli pelet yemle ad libitum.beslenmiştir.

- ✓ 1.Grup (n=10): 21 gün boyunca her gün gavaj yoluyla 1 mililitre zeytinyağı alan grup.
- ✓ 2.Grup (n=10): 21 gün boyunca her gün gavaj yoluyla zeytinyağında çözünmüş 200 mg/kg kurkumin alan grup.
- ✓ 3.Grup (n=10): 21 gün boyunca gūnaşırı olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyonla 1/1 oranında zeytinyağında çözünmüş 0,5 ml/kg CCl₄ alan grup.
- ✓ 4.Grup (n=10): 21 gün boyunca her gün gavaj yoluyla zeytinyağında çözünmüş 200 mg/kg kurkumin ve gūnaşırı olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyonla 1/1 oranında zeytinyağında çözünmüş 0,5 ml/kg CCl₄ alan grup.

Deneyin son gününde intraperitoneal (ip) enjeksiyonla her denek için 10mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye), 90 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye) uygulanmıştır. Derin anestezi altında akciğer dokuları çıkarılmış ve immünohistokimyasal ve ışık mikroskopik incelemeler için dokular hazırlanmıştır.

3.2. CCl₄ ve Kurkuminin Hazırlanması

Akciğer dokusunda hasar oluşturmak amacıyla kullanılan CCl₄ (Saf Kimya, Türkiye), ZBEÜ Mühendislik Fakültesi, Maden Mühendisliği bölümünden alınmıştır. Akciğer hasarında tedavi edici ajan olarak kurkumin (Sigma Aldrich, Almanya) kullanılmıştır.

Deney başlayana dek kurkumin, üreticinin önerilerine göre -20 °C muhafaza edilmiştir. Her girişim öncesi kilogram başına 200 milligram kurkumin, oda sıcaklığındaki zeytinyağında çözünerek gavaj yoluyla hayvanlara verilmiştir. +4 °C muhafaza edilen CCl₄ ise her girişim öncesinde eşit oranda oda sıcaklığındaki zeytinyağında çözülerek 0.5 mililitre/kilogram olacak şekilde ip. olarak enjekte edilmiştir.

3.3. Dokuların Takibi

Her denekten çıkarılan sol akciğer dokusu %10luk formol (MERCK) çözeltisinde bekletilmiştir. Fiksasyon işlemine tabi tutulan akciğer dokuları makroskopisi yapılarak kasetlere alınmıştır. Kasetler etiketlenip dokular %10luk formol çözeltisinde 2 gün bekletilmiştir. Dokular akar suda 1 gece boyunca yıkandıktan sonra rutin doku takibi işlemi uygulanmıştır. Sıvı parafinde bekletilen dokular 1 günün sonunda parafine (MERCK) gömülüp ve bloklanmıştır.

Tablo 1. Doku Takibinde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulama süreleri

<i>İşlem</i>	<i>Madde</i>	<i>Uygulama Süresi</i>
<i>Fiksasyon</i>	%10 formalin	2 gün
<i>Fiksatifin uzaklaştırılması</i>	Akar su	1 gece
<i>Dehidratasyon</i>	%70 alkol	1 saat
	%70 alkol	1 saat
	%90 alkol	1 saat
	%90 alkol	1 saat
	%96 alkol	1 saat
	%96 alkol	1 saat
	%100 alkol	1 saat
	%100 alkol	1 saat
<i>Şeffaflaştırma</i>	Toluen 1	15 dakika
	Toluen 2	15 dakika
<i>Parafinizasyon</i>	Sıvı Parafin	1 gün

3.4. Kesitlerin Boyanma Yöntemleri

Shandon Finesse 325 marka mikrotom kullanılarak akciğer dokusunun parafin bloklarından 5µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitlerin 34 C° sıcaklıktaki su banyosunda açılması sağlandıktan sonra lam üzerine alınmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan kesitler boyama işleminden önceki gün 1 gece etüvde bekletilmiştir. Axio Lab A1 (Zeiss Germany) marka ışık mikroskobu ile akciğerin genel histolojik yapı özellikleri değerlendirilmiş ve Hematoksilen+Eozin (H+E), Masson Trikrom ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaları ile hazırlanan preparatlar incelenmiştir.

Hematoksilen+Eozin boyama:

Akciğer dokusunun genel morfolojisi H+E boyama ile incelenmiştir. Başlangıçta Toluen (MERCK) ile deparafinizasyon yapılan kesitler alkol serilerinden geçirilerek suya indirilmiştir. Hematoksilen çekirdek boyanmaları, eozin ise

sitoplazma boyanmaları için kullanılmıştır. Fazla boyadan arındırmak için yıkanan dokular alkol serilerinden geçirilmiş, şeffaflaştırma işlemi için tolüen kullanılmış ve entellan (MERCK) ile kapatılmıştır.

Tablo 2. Akciğer Dokusu İçin H+E Boyama Protokolü

İşlem	Kimyasal Madde	Uygulama Süresi
Deparafinizasyon	Toluen 1	15dk
	Toluen 2	15dk
Rehidratasyon	%100 alkol	1 dk
	%96alkol	3 dk
	%90 alkol	3dk
	%70 alkol	5dk
	Durgun Su	3dk
Yıkama	Hemotoksilen	15 dk
Boyama	Asit Alkol	Batır çıkar
Diferansiyasyon	Morartma	20dk
Boyama	Eozin	5 dk
Yıkama(suyunu uzaklaştırma)	%70 ,%90 alkol	Batır çıkar
Şeffaflaştırma	%96	5dk
	%100	2x10dk
	Toluen 1	15dk
	Toluen 2	15 dk

Mason trikrom boyaması:

Weigert, Ponso ve Light Green boyaları hazırlanarak Tablo 4'teki protokole göre boyama yapılmıştır. Weigert hematoksin ile nükleuslar, ponzo ile sitoplazma, Light Green ile bağ dokusu boyanmıştır.

Weigert hematoksin solüsyonu için A ve B olmak üzere 2 çözelti hazırlanmıştır. A çözeltisi 100 cc %96 alkol ve 1 gram hematoksin, B çözeltisi 95

cc distile su, 4cc FeCl₃ ve 1 cc HCl ile oluşturulmuştur. A ve B çözeltilerinden eşit miktarda alınıp karıştırılmış ve oluşan karışımın rengi koyu mor olarak gözlenmiştir.

Fuksinli Ponzo boyası %1'lik Ponceauxlidine (SIGMA) ve %1'lik Asit fuksin karıştırılarak hazırlanmıştır. %1'lik Ponceauxlidine;1 gram asit fuksin ile 100 cc distile su ile %1'lik Asit fuksin ise 1 gram ponzo ve 100 cc distile su ile oluşturulmuştur.

Light Green (MERCK) boyası için 100cc distile suya, 2 gram ışıık yeşili ve 3-4 damla asetik asit eklenmiştir.

PAS (Periyodik Asit Schiff):

Schiff reaktifini hazırlamak için 100 cc distile su önce kaynatılmış sonra 60°C'ye kadar soğutulmuştur. Ardından 1 gram bazik fuksin eklenip bir beher içerisine süzölmüştür. 2 gram potasyum metabisülfıt (K₂S₂O₅), süzölen solüsyona eklenmiştir. Karışımada daha sonra 300 mg aktif kömür ve yavaşça 20cc 1N HCl eklenmiş ve yeniden süzölmüştür. Süzölen karışım en son koyu renkli cam bir şişeye alınmıştır. Bu aşamada karışım zeytinyağı renginde görölmüştür. Schiff çözeltilisi, hava ile teması en az olacak şekilde şişelenip ışıktan etkilenmemesi için dışı alüminyum folyo ile sarılarak buzdolabında +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Yıkama solüsyonu için 180 cc çeşme suyu, %10'luk 10cc potasyum metabisülfıt (K₂S₂O₅) ve 10cc 1N HCl ile çözeltili oluşturulmuş ve 3 şaleye göre karışım bölüştürölmüştür. Periyodik asit solüsyonu, 100cc distile su içine 1 gram periyodik asit eklenerek hazırlanmıştır.

Tablo 3. Akciğer Dokusu için PAS Boyama Protokolleri

Kimyasal	Süresi
Toluen	15 dk
Toluen	15 dk
%100 alkol	1 dk
%96 alkol	3 dk
%90 alkol	3 dk
%70 alkol	5 dk
Durgun Su	3 dk
Periyodik asit	15 dk
Akar su	10 dk
Distille su çalkala	3kez
Schiff reaktifi	20 dk
Yıkama Solüsyonu1	5 dk
Yıkama Solüsyonu2	5 dk
Yıkama Solüsyonu3	5 dk
Akar su	5 dk
Hemotoksilen	10 dk
Morartma	20 dk
%70 alkol	Batır çıkar
%90 alkol	Batır çıkar
%96	5 dk
%100	2x10 dk
Toluen	15 dk
Toluen	15 dk

Tablo 4. Akciğer Dokusu için Masson Trikrom Boyama Protokolleri

Kimyasal	Süresi
Toluen 1	15 dk
Toluen 2	15 dk
%100 alkol	1 dk
%96alkol	3 dk
%90.alkol	3dk
%70 alkol	5dk
Durgun Su	3dk
Weigert	10dk
Morartma	15dk
Ponzo	10dk
%1 Asetik asit	Batır çıkar
Fosfotungustik asit	15dk
%1 Asetik asit	Batır çıkar
Light green	3 dk
%1 Asetik asit	Batır.çıkır
%70 alkol	Batır çıkar
%90 alkol	Batır çıkar
%96	5 dk
%.%100	2x10dk
Toluen 1	15dk
Toluen 2	15 dk

3.5. Histolojik Değerlendirme ve Akciğer Hasarının Skorlanması

Işık mikroskobu (Zeiss, Axio Lab A1, Almanya) ile bütün deneklere ait boyanmış preparatlar fotoğraflanmış ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. H+E ile boyanmış preparatlarda ise akciğer dokusunun histolojik skorlamaları yapılmıştır (4, 69). Buna göre, her kesitte rastgele 10 alan seçildi ve her alan Alveolar konjesyon, hemoraji, interalveolar septum kalınlığı, vakuolizasyon, makrofaj, infiltrasyon, ödem ve epitel deskuamasyonu (dökülmesi) parametreleri için 0: Hasar yok, 1: Hafif, 2: Orta, 3: Şiddetli olacak şekilde derecelendirilmiştir.

3.6. İmmünohistokimyasal İncelemeler

İnflamasyon düzeyini belirlemek için proinflatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1 β ifadeleri immünohistokimyasal yöntemle belirlenmiş ve boyanmış kesitlerden elde edilen fotoğraflar kullanılarak manuel olarak semikantitatif histolojik skorlama (h-skoru) yapılmıştır. Ekspresyon düzeylerini araştırmak amacıyla immünohistokimyasal Avidin-Biotin kompleks yönteminin uygulanması için kesitler önce deparafinizasyon işlemi için, 61 °C 'de inkübe edilmiştir. Daha sonra toluen ve azalan derecelerde alkol yüzdesine sahip serilerden geçirilip suya indirilmiştir. Sitrat tamponu (pH 6) ile muamele olan kesitler mikrodalgaya alınarak yüksek ısıya maruz bırakılmıştır. Sitrat solüsyonundan distile suya alınan kesitler, oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Kesitler PBS ile 3 kez 5 dakika yıkandıktan sonra, 15 dk boyunca %3'lük hidrojen peroksit ile bekletilmiştir. Spesifik olmayan bağlanmaları önlemek için 10 dk Ultra V block uygulamasının ardından üretici tarafından tavsiye edilen dilüsyonlarda hazırlanan TNF- α (Novus bio.) ve IL-1 β (Novus bio) primer antikorları kesitlere 24 saat boyunca +4 °C'de ve nemli bir ortamda uygulanmıştır. Bu aşamayı takiben kesitlere 30 dk süreyle sekonder antikor uygulanmış ve ardından yine PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır. Son olarak Streptavidin peroksidaz kompleksi 10 dk uygulanmış ve kesitler PBS'ye alınmıştır.

Kesitlere mikroskop altında istenen boyanma yoğunluğuna ulaşana dek diaminobenzidine kromojeni damlatılmış ve ardından zıt boyama Mayer's

hematoksilen kullanılarak yapılmıştır. Alkol serileri ve toluenden geçirilen kesitler entellan kullanılarak kapatılmıştır.

Kesitler histolojik skorlama yapılarak semikantitatif yöntemle değerlendirilmiştir.

- ✓ 0, boyanma yok
- ✓ 1+, zayıf ama tespit edilebilir boyanma
- ✓ 2+, orta veya belirgin boyanma
- ✓ 3+, yoğun boyanma.

H-skoru değeri, yoğunluk ile her bir yoğunluk kategorisine ait boyanmış hücre yüzdesinin çarpımından elde edilmiştir (70). Işık mikroskopunda yapılan skorlama için, objektif büyütmesi X40 olarak ayarlanmış ve kesitlerin her biri üzerinde rastgele 20 alan seçilmiştir. İstatistiksel analizlerde ortalamalar kullanılmıştır.

3.7. Biyokimyasal Analizler

Akciğer dokularında ELISA yöntemi kullanılarak MDA (Rel assay, Türkiye) ve SOD (Rel assay, Türkiye) düzeyleri ölçülmüştür (71, 72).

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler için SPSS 24.2 programı kullanılmıştır. Biyokimyasal parametrelerin indeksi ortalama±standart sapma kullanılarak hesaplanmıştır. Akciğer histolojik skorlaması sonucu elde edilen değerler ve immünohistokimyasal h-skoru verileri medyan (min-max) ile olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığına Shapiro-Wilk testi ile bakılmış ve normal dağılıma uyan niceliksel değerleri karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır.

Varyansların homojenlik durumuna göre Bonferroni ya da Dunnet doğrulama testleri ile gruplar arasında fark bulunursa bu farkın hangi gruplar arasında olduğu

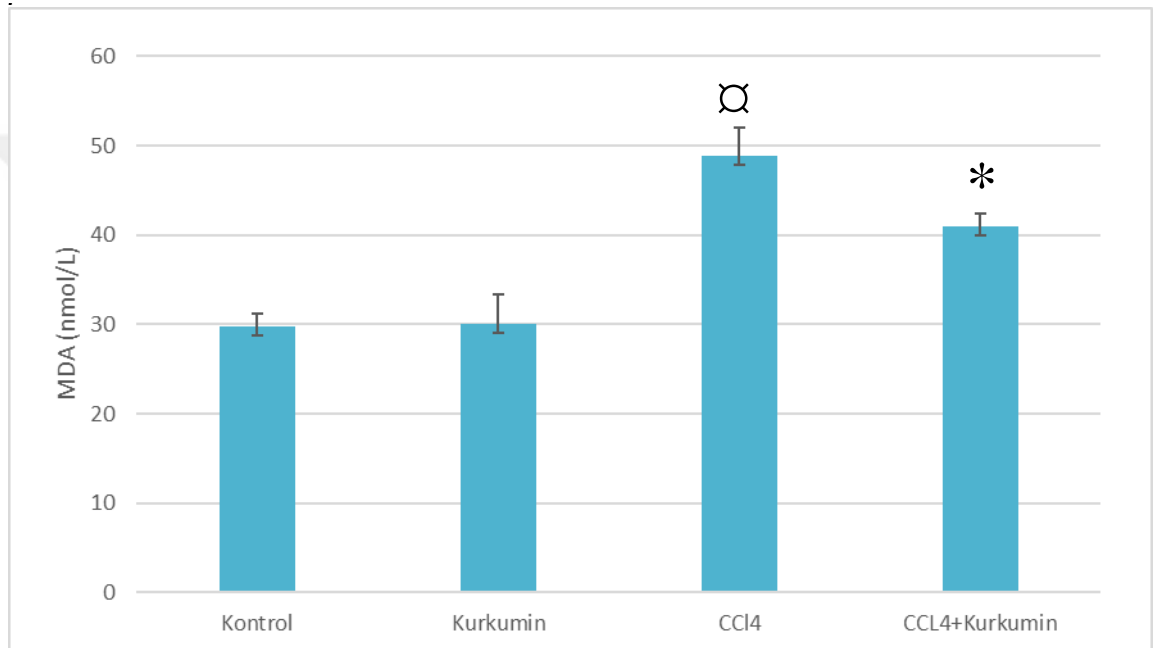
belirlenmiştir. Kruskal Wallis testi, normal dağılıma uyan niteliksel değerleri karşılaştırmak için kullanılmıştır. Bonferoni düzeltmeli Mann Whitney U testi ise ikili karşılaştırmalar için kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ olarak belirlenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Malondialdehit (MDA) MDA düzeyi en yüksek CCl₄ grubunda bulunmuştur ($p<0.01$). CCl₄+Kurkumin alan grupta MDA düzeyi CCl₄ grubu ile kıyaslandığında önemli derecede azalmıştır ($p<0.01$).



Şekil 12. Gruplara göre akciğer dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

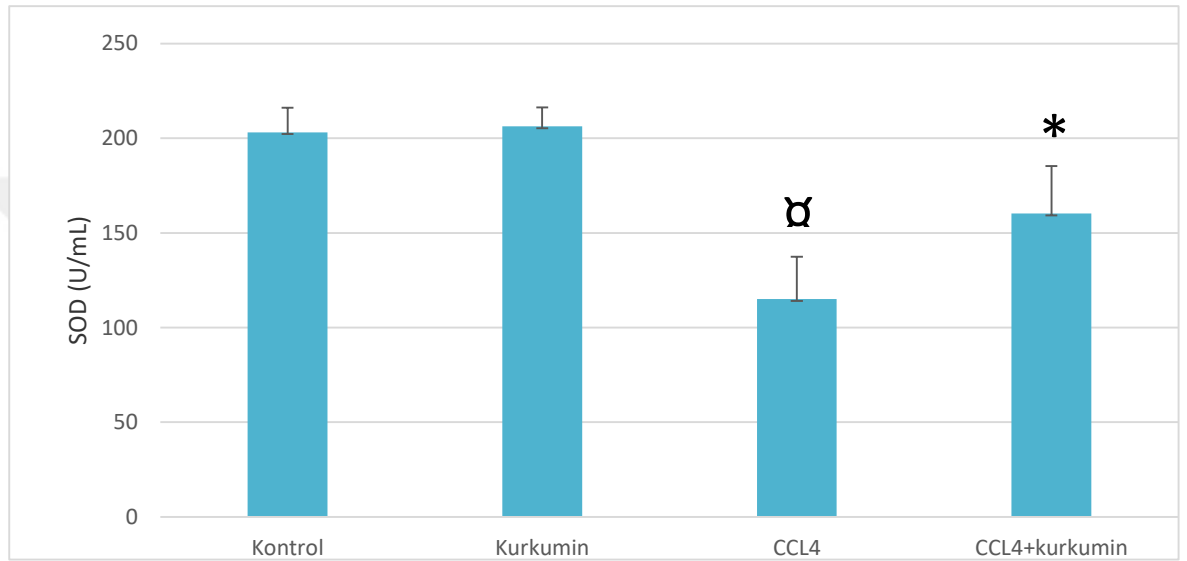
Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları gösterir.

* $p<0.01$ Kontrol, Kurkumin ve CCl₄+Kurkumin grupları ile kıyaslandığında

□ $p<0.01$ Kontrol, Kurkumin ve CCl₄ grupları ile kıyaslandığında

Süperoksitdismutaz (SOD);

SOD düzeyleri kıyaslandığında kontrol ve kurkumin gruplarında enzim seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaz iken CCl₄'e maruz kalan grupta SOD düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı görülmüştür ($p<0.01$). CCl₄+Kirkumin grubunda ise SOD düzeyleri kontrol ve kurkumin gruplarındaki enzim seviyelerine ulaşmasa da CCl₄ grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).



Şekil 13. Gruplara göre akciğer dokularında SOD düzeylerinin karşılaştırması

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları gösterir.

* $p<0.01$ Kontrol, Kurkumin ve CCl₄+Kirkumin grupları ile kıyaslandığında

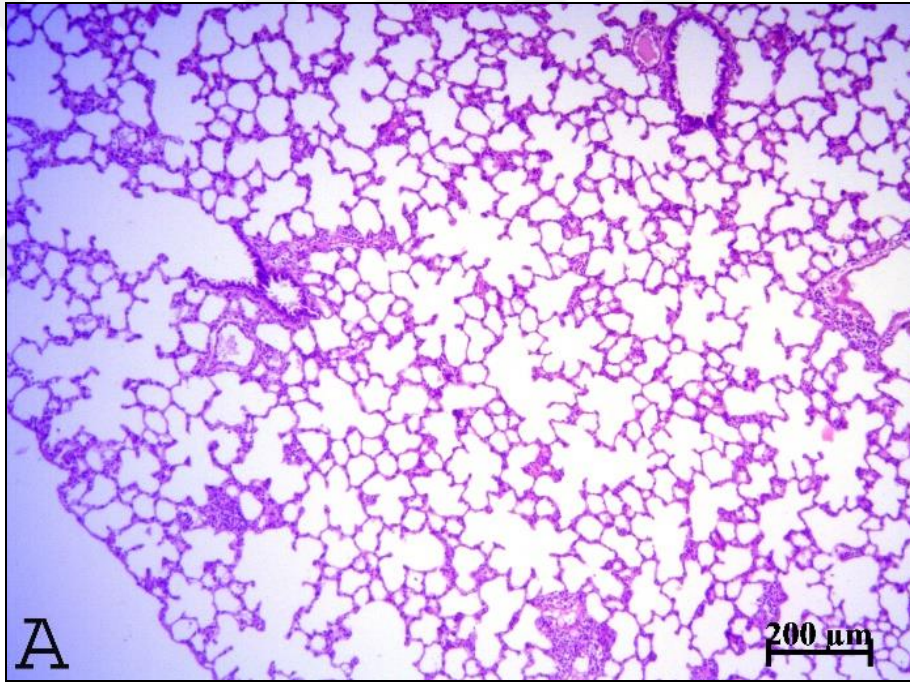
□ $p<0.01$ Kontrol, Kurkumin ve CCl₄ grupları ile kıyaslandığında

4.2. Histolojik Bulgular

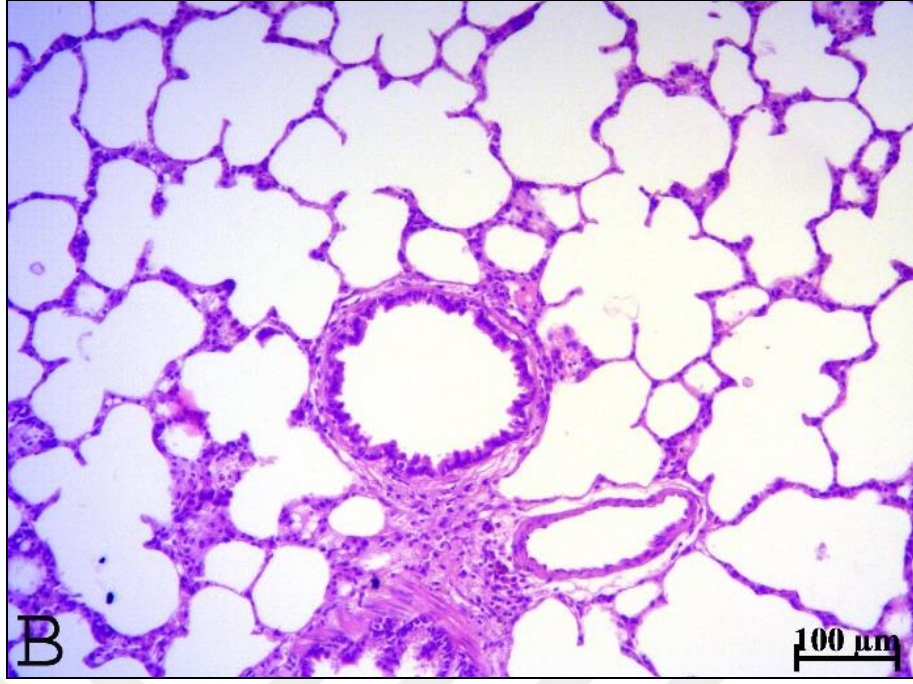
4.2.1. Hematoksilen+Eozin boyama

Kontrol Grubuna Ait H+E Bulguları

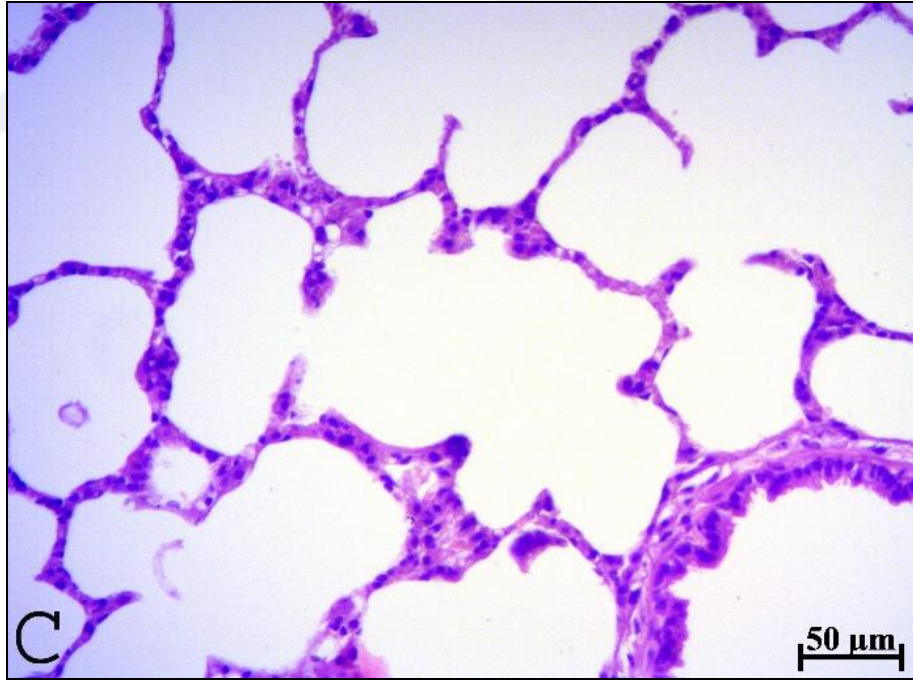
H+E boyanmış kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinde; bronş, bronşiyol ve alveol yapıları normal morfolojide izlenmiştir. Küçük büyütmede bakıldığında polihedral şekle sahip alveollerin tek katlı yassı epitel ile döşeli olduğu ve interalveolar septumların kapiller damarları da içeren ince bir bağ dokusu şeklinde olduğu, İnteralveolar septumun yer yer kesintiye uğrayarak Kohn deliklerini oluşturduğu gözlenmiştir. Yine alveolar duktusların genişleyerek alveolar keseleri oluşturduğu görülmüştür. Alveol yüzeyini oluşturan Tip1 ve Tip2 pnömositler X40 büyütmede tanımlanmıştır.



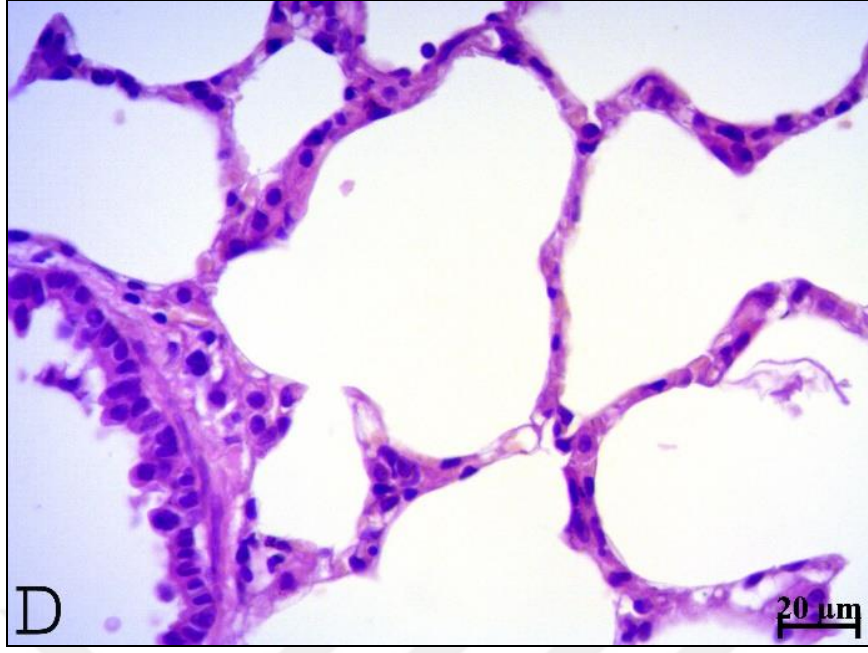
Şekil 14. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X5. İnce interalveoler septumların ön plana çıktığı normal akciğer morfolojisi sergileniyor. Ölçü çubuğu: 200 µm.



Şekil 15. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X10. Normal morfolojide bütünlüğü korunmuş bronşiyol epiteli. Ölçü çubuğu B: 100 µm.



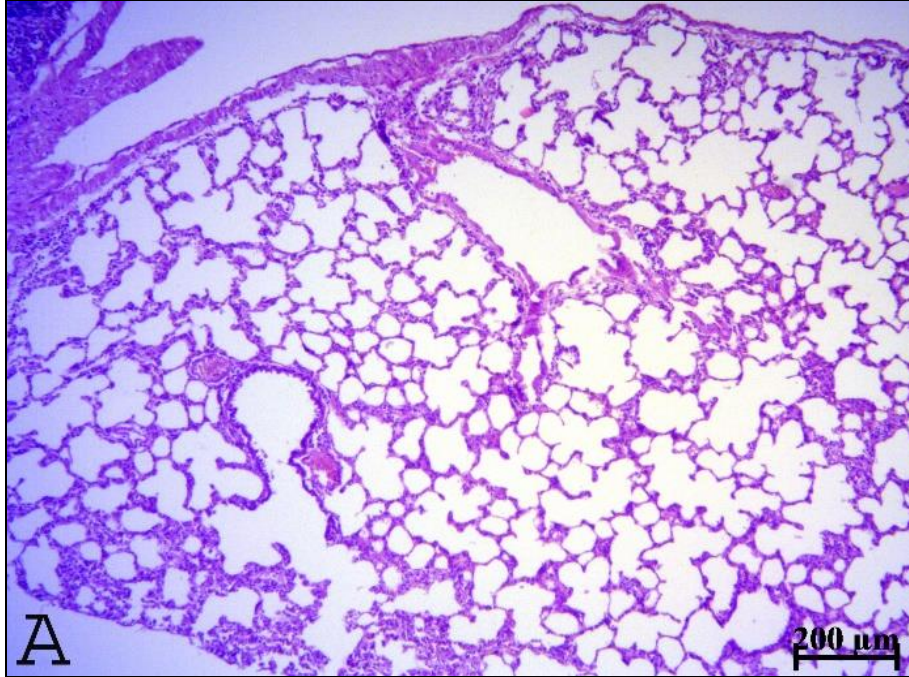
Şekil 16. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X20. Fibroblastlar Tip1 ve Tip2 pnömositler Ölçü Çubuğu C: 50 µm.



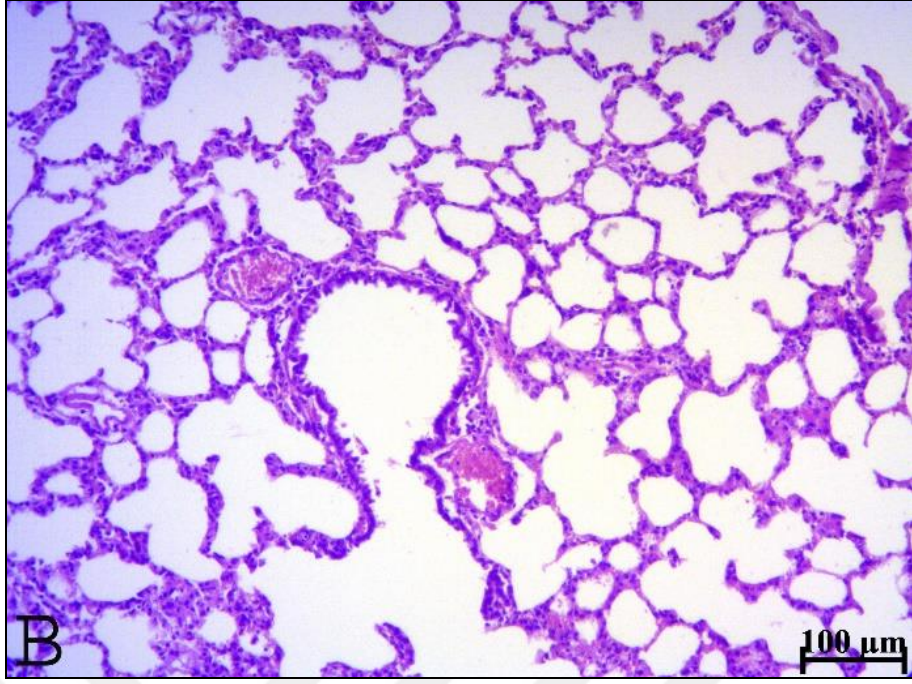
Şekil 17. Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinin H+E boyanması X40. Ölçü çubuğu D: 20 µm.

Kurkumin Grubu

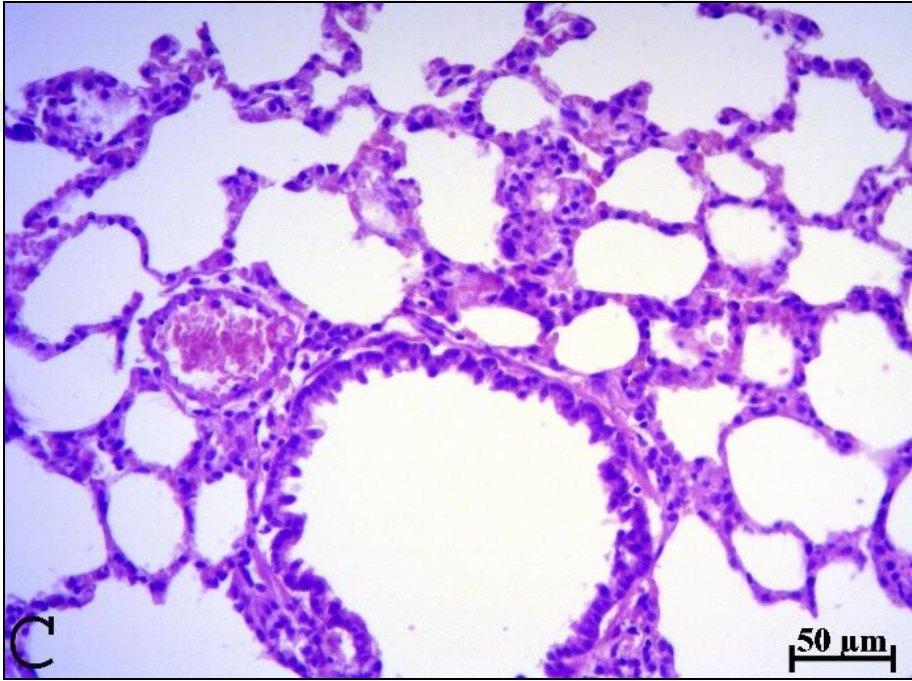
Kurkumin verilen gruptaki sıçanların akciğer dokularının kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.



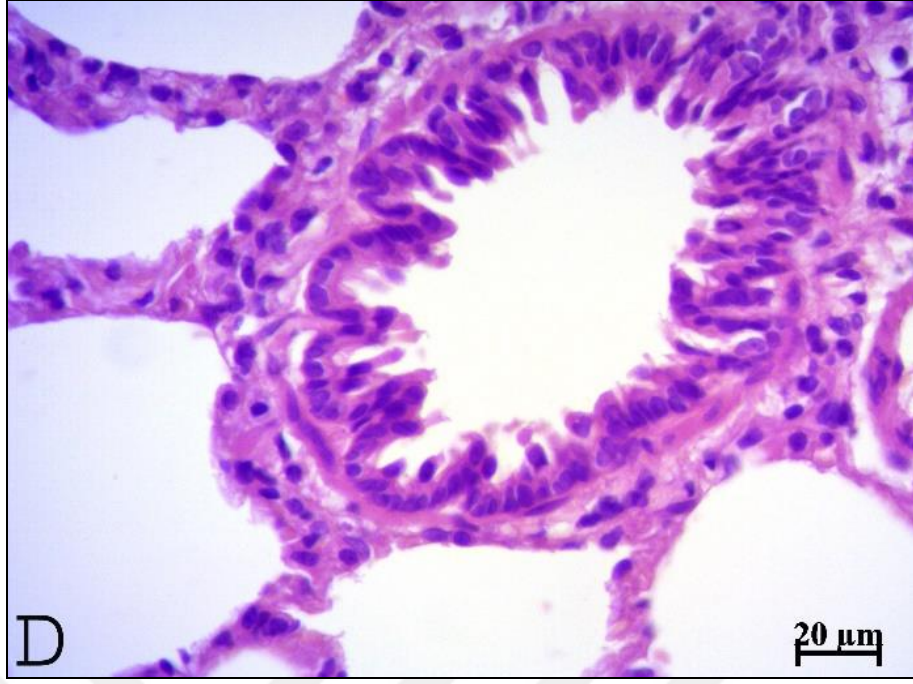
Şekil 18. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyanması X5. Normal akciğer histolojik yapısı gözlenmekte. Ölçü çubuğu: A: 200 µm.



Şekil 19. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X10. Normal kalınlıkta interalveolar septumlar. Ölçü çubuğu B: 100 µm.



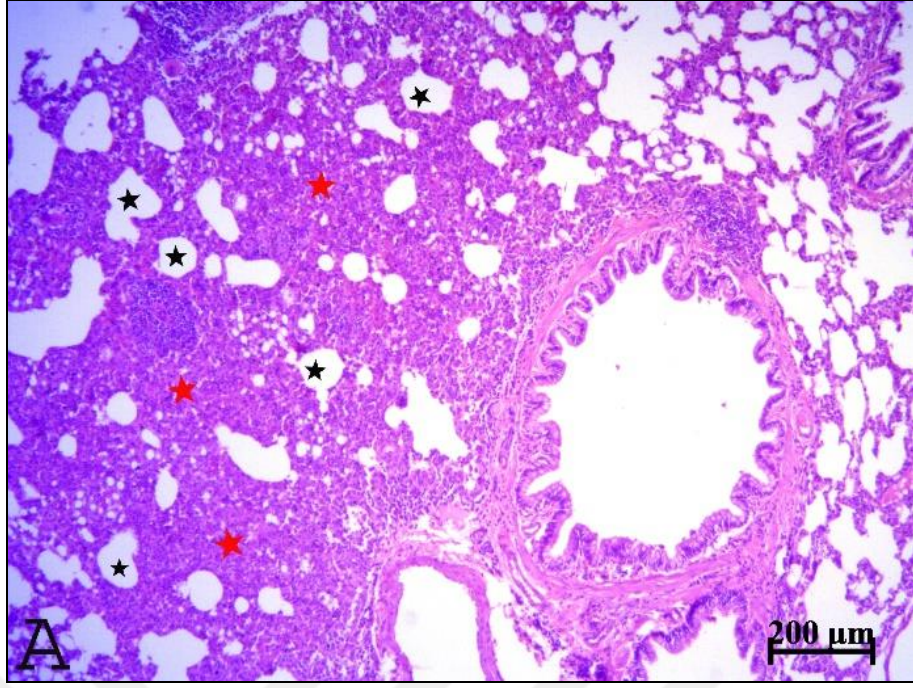
Şekil 20. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20 büyütme. Epitel bütünlüğü sağlam görünen bir bronşiyol. Ölçü çubuğu: C: 50 µm,



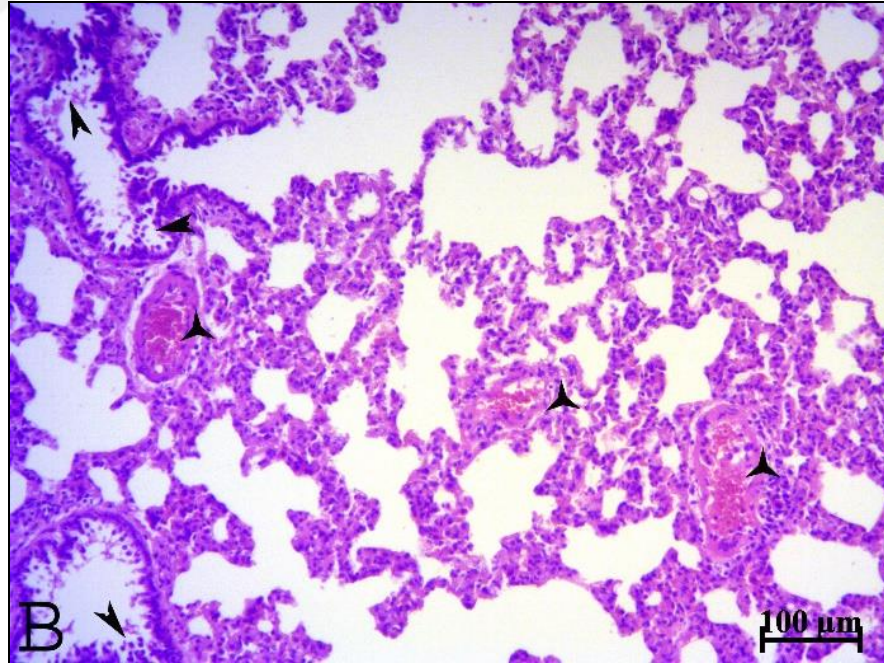
Şekil 21. Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40. Ölçü çubuğu D: 20 µm.

CCl₄ grubu

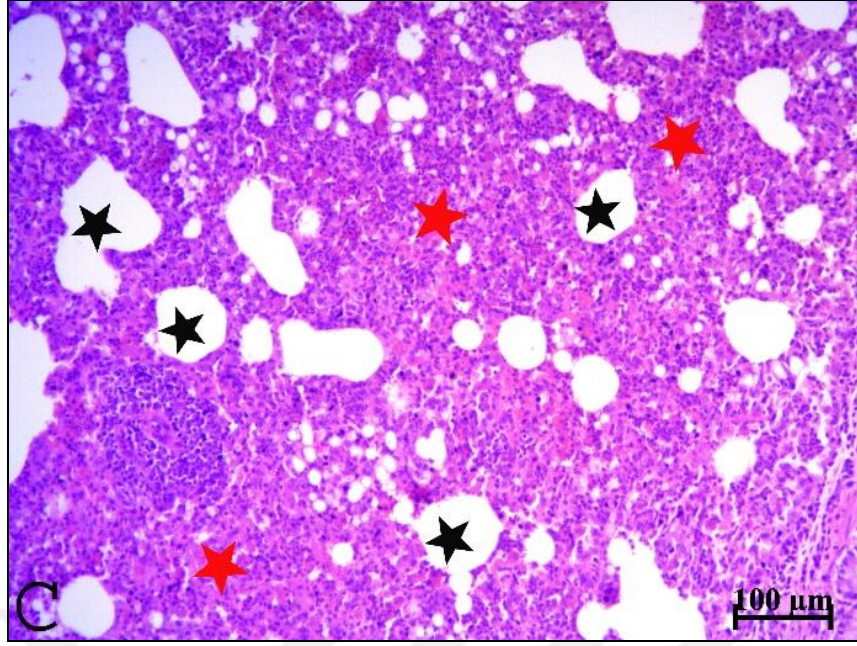
CCl₄ uygulanan gruptaki sıçanların akciğer dokusu incelendiğinde normal morfolojiden uzak görünüm sergilediği görülmüştür. Alveoller arası septumların yer yer oldukça kalınlaştığı ve akciğer dokusunun sıkı parankimatöz bir yapıya büründüğü görülmüştür. İnteralveolar septumların kalınlaştığı bu alanlarda yoğun vakuolizasyonlar gözlenmiştir. Akciğer dokularındaki hücre yapısı incelendiğinde yer yer yoğun nötrofilik hücrelerin yanında, alveolar makrofajlar ve lenfositik infiltrasyon alanları gözlenmiştir. Bu gruba ait akciğer dokularında diğer bir dikkat çekici bulgu ise yoğun hemoraji ve konjesyona sahip alanların varlığı olmuştur. Kanama alanlarında eritrositlerin küçük hava yollarında sıkışması ile oluşan çubuk şekilli eritrosit kristalleri gözlenmiştir. Ayrıca perivasküler ve interalveolar ödem bu grupta çok yoğun olmamakla beraber yer yer bulunmaktadır.



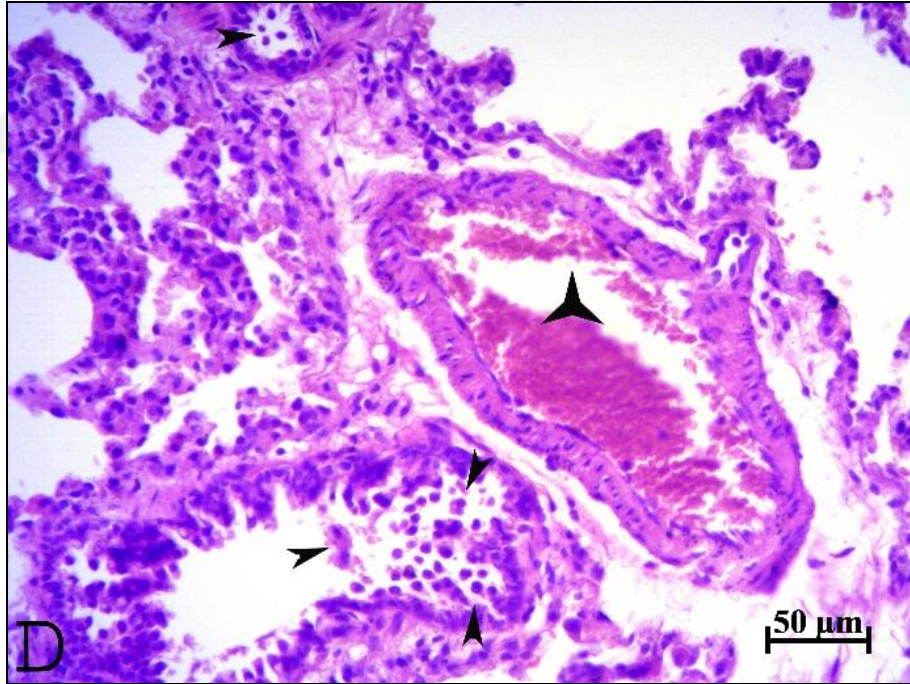
Şekil 22. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X5. Alveolar septumlarda kalınlaşma (kırmızı yıldız), vakuolizasyon (siyah yıldız). Ölçü çubuğu A: 200 µm.



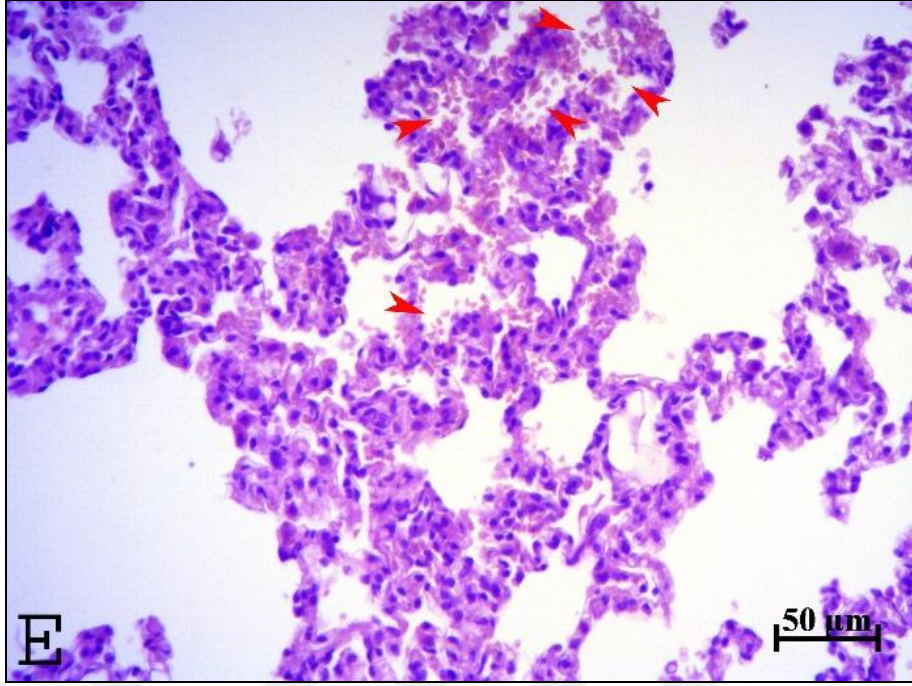
Şekil 23. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X10. Epitel deskuamasyonu (siyah ok başı) ve vazokonjestion (üç başlı siyah yıldız). Ölçü çubuğu B: 100 µm.



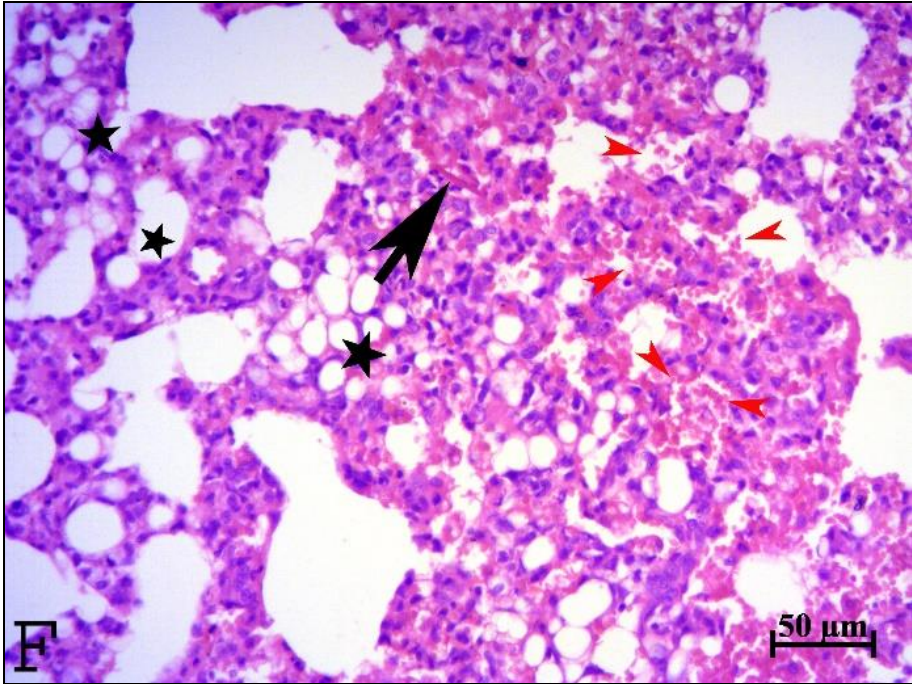
Şekil 24. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X10. Alveolar septumlarda kalınlaşma (kırmızı yıldız), vakuolizasyon (siyah yıldız) Ölçü çubuğu C: 100 µm.



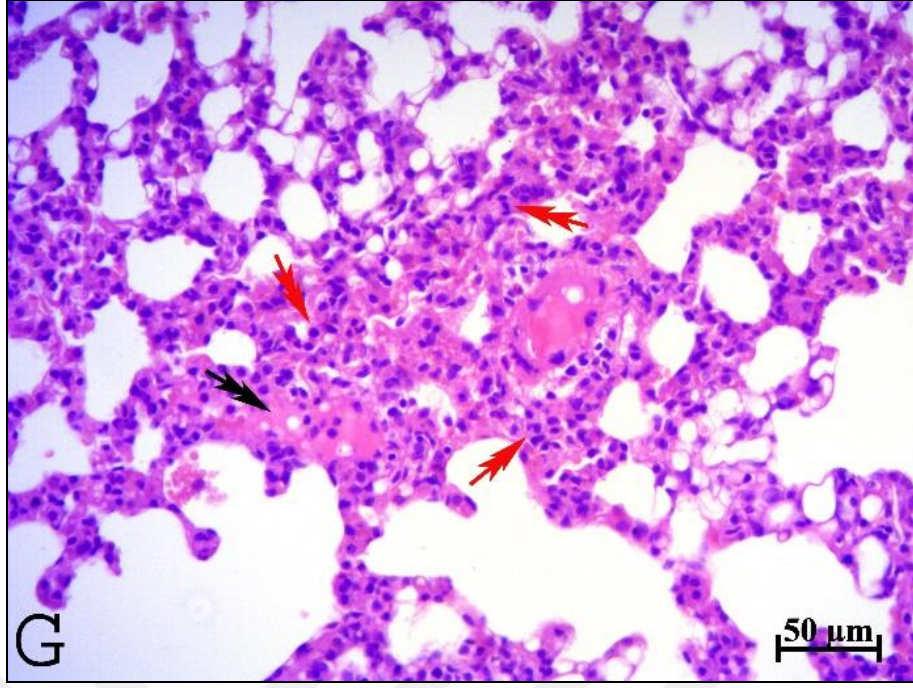
Şekil 25. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması.X20. Epitel deskuamasyonu ve vazokonjesyon. Ölçü çubuğu D: 50 µm,



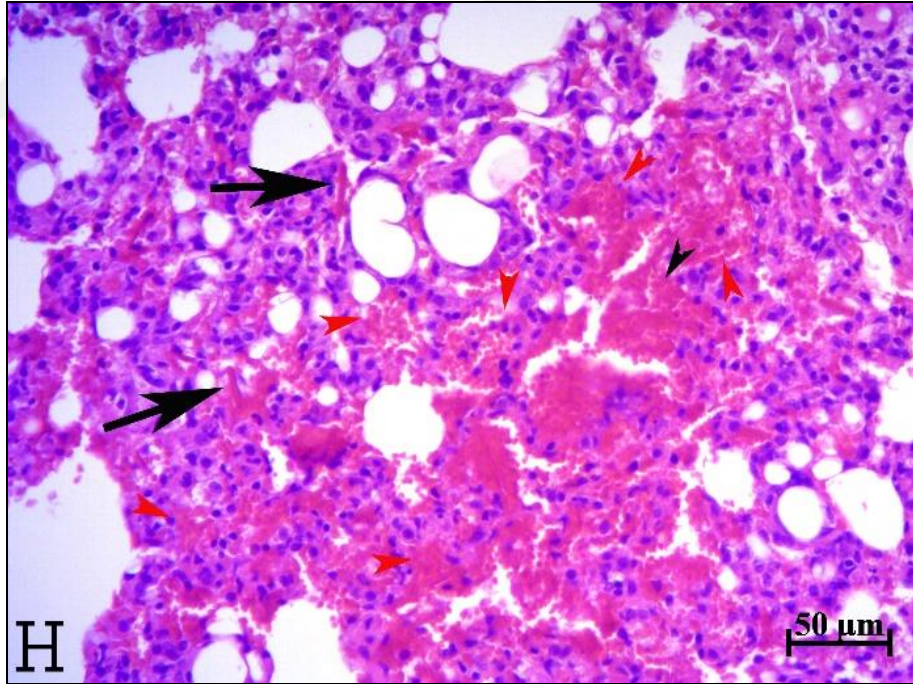
Şekil 26. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. Alveolar ve septal kanama alanları (kırmızı ok başı), Ölçü çubuğu E: 50 µm.



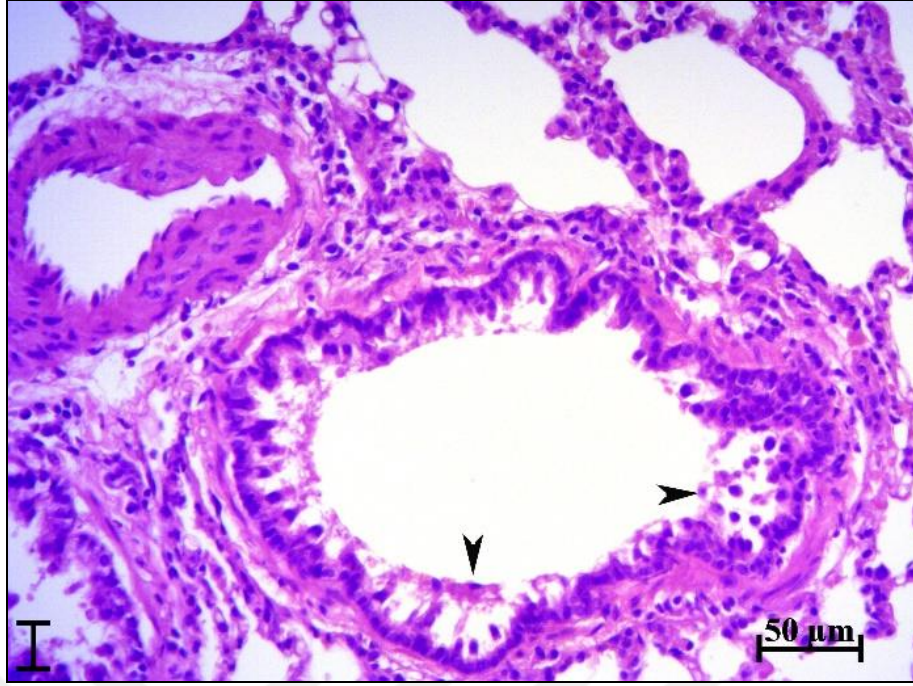
Şekil 27. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. vakuolizasyon (siyah yıldız), alveolar ve septal kanama alanları (kırmızı ok başı), eritrosit kristalleri (siyah kalın ok), Ölçü çubuğu: F: 50 µm.



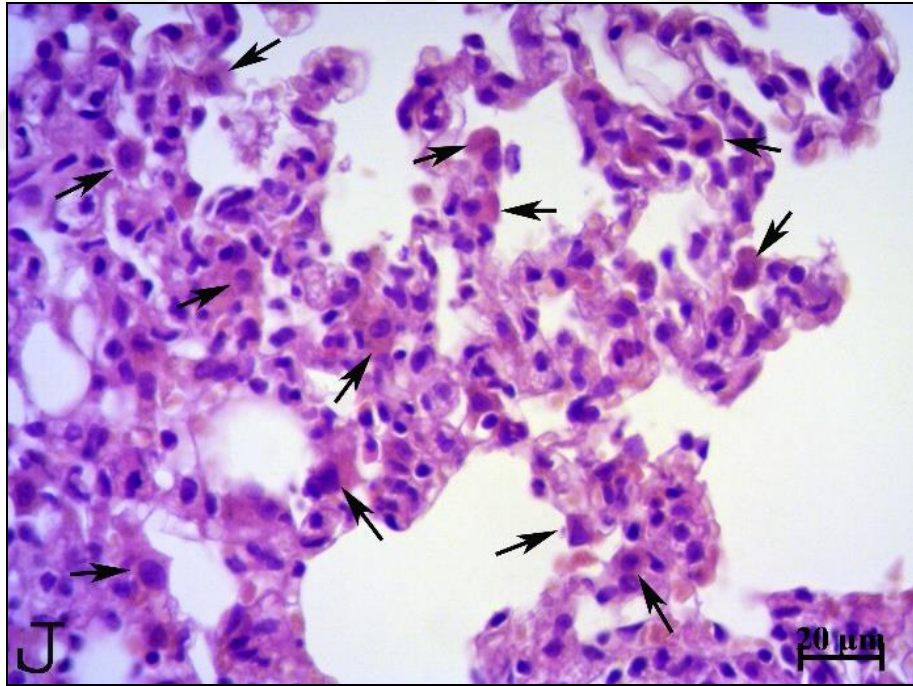
Şekil 28. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. Alveolar septumda ödem (siyah çift başlı ok), alveolar septumlarda lenfositik infiltrasyon (kırmızı çift başlı ok). Ölçü çubuğu: G: 50 µm.



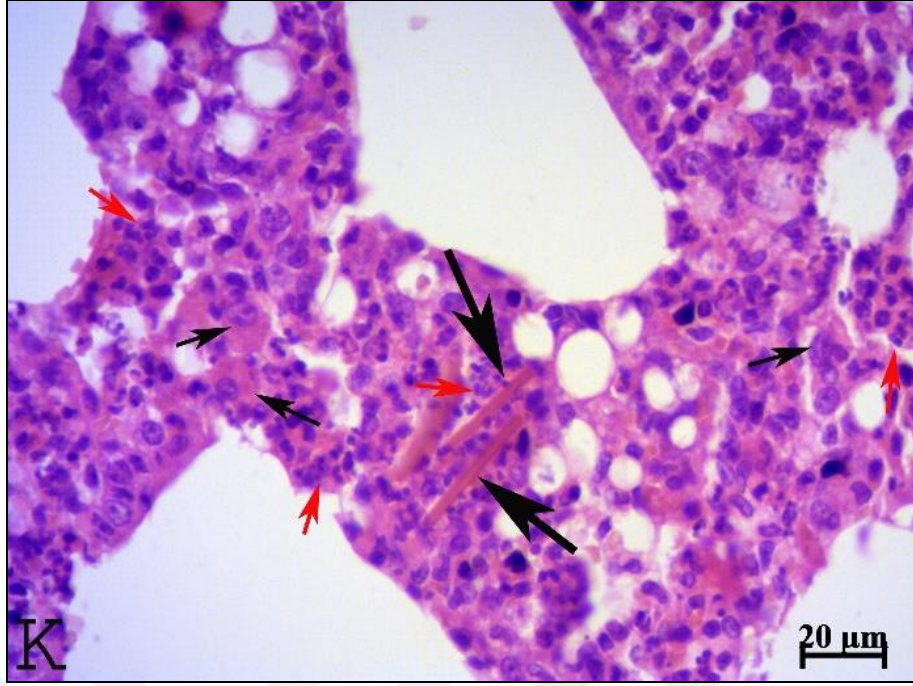
Şekil 29. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. Alveolar ve septal kanama alanları (kırmızı ok başı), eritrosit kristalleri (siyah kalın ok). Ölçü çubuğu H: 50 µm.



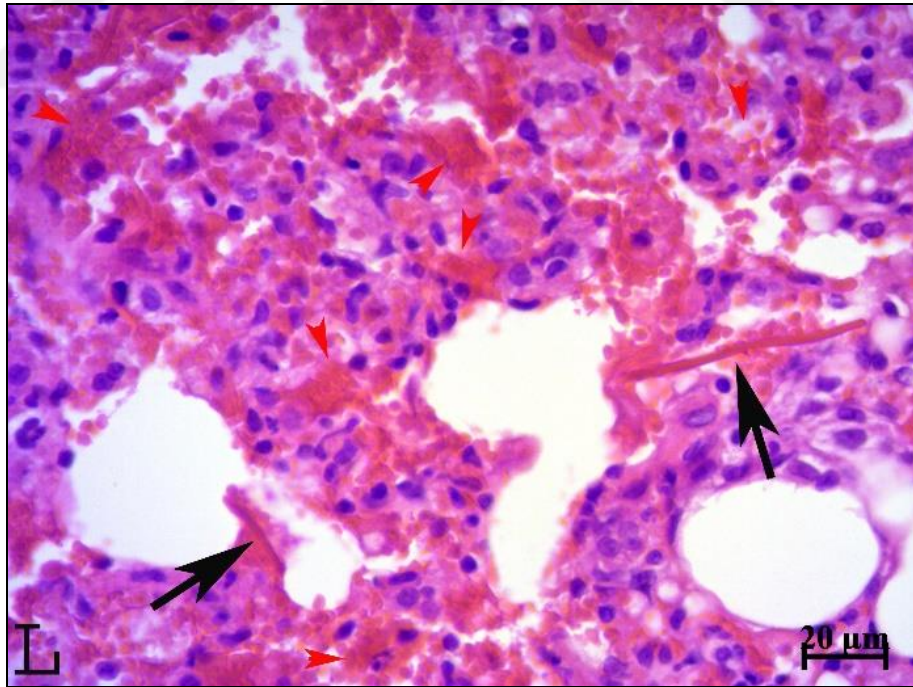
Şekil 30. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. epitel deskuamasyonu (siyah ok başı), Ölçü çubuğu I: 50 µm.



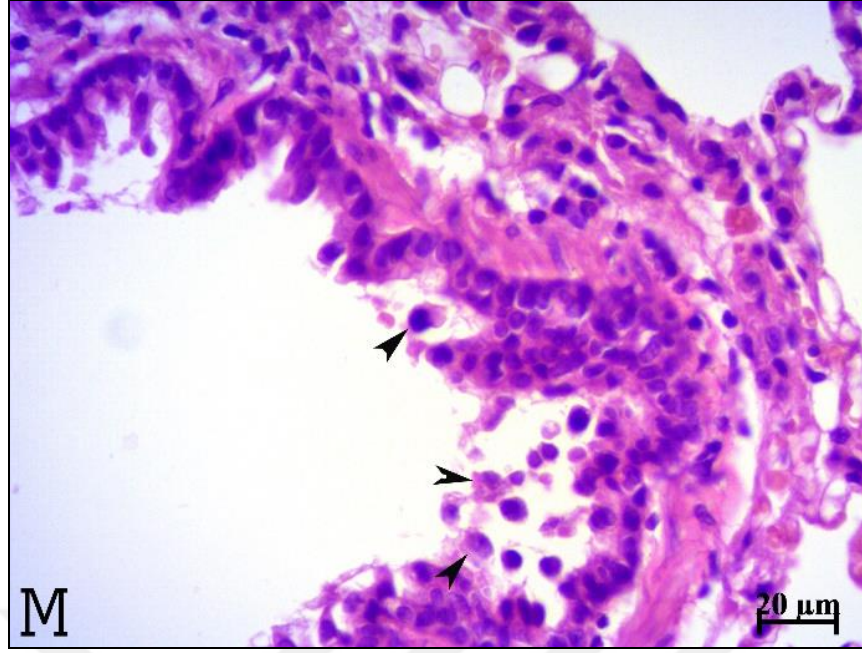
Şekil 31. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40. alveolar ve septal makrofajlar (siyah ince ok), Ölçü çubuğu J: 20 µm.



Şekil 32. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40. eritrosit kristalleri (siyah kalın ok), alveolar ve septal makrofajlar (siyah ince ok), alveolar septumlarda nötrofilik infiltrasyon (kırmızı ince ok). Ölçü çubuğu K: 20 µm.



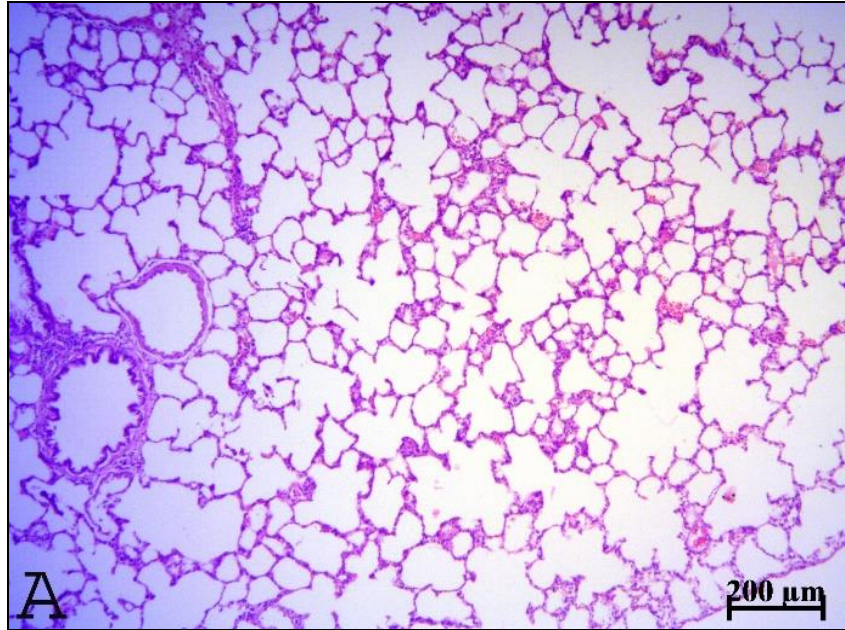
Şekil 33 CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40, eritrosit kristalleri (siyah kalın ok), Ölçü çubuğu L: 20 µm.



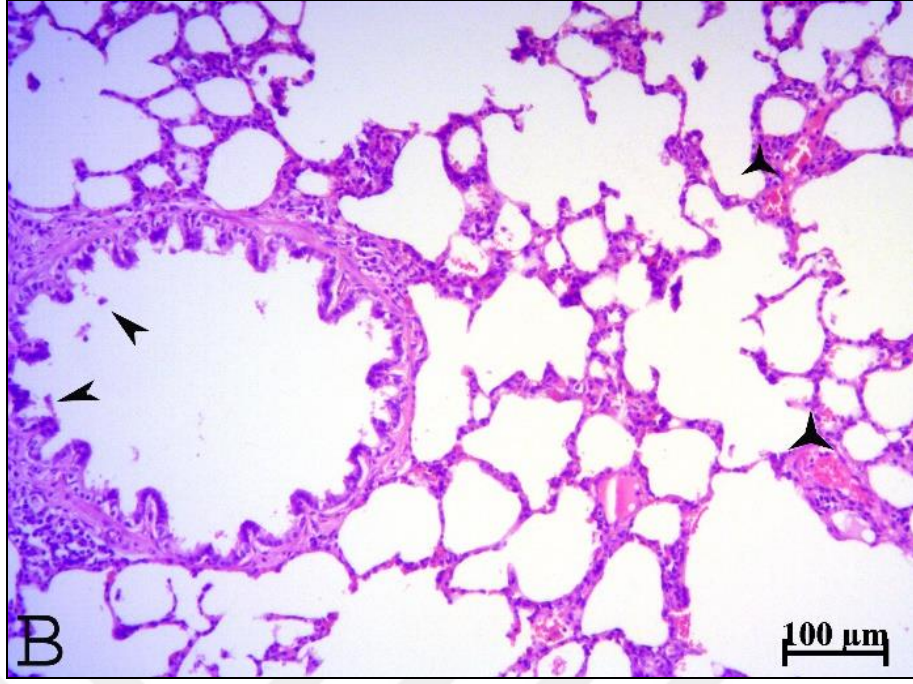
Şekil 34. CCl₄ grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40. epitel deskuamasyonu (siyah ok başı), Ölçü çubuğu M: 20 μm.

CCl₄+Kurkumin

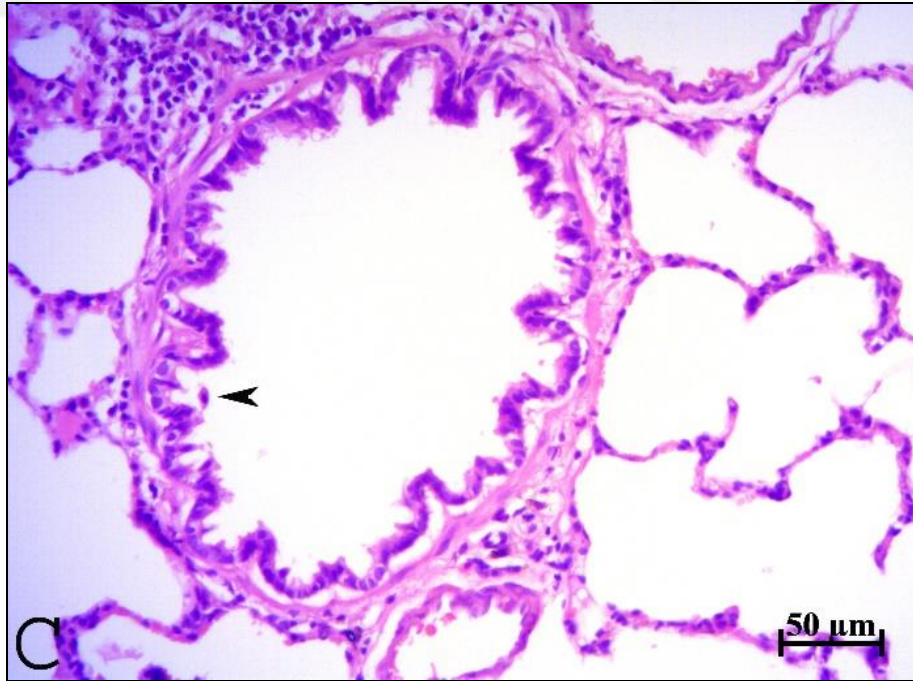
CCl₄ ve kurkuminin birlikte verildiği grupların akciğer dokuları incelendiğinde CCl₄ grubu deneklerin akciğerlerinde gözlenen hasarlı alanların yanında normal histolojik yapıya sahip çok sayıda alanın varlığı dikkat çekmiştir.



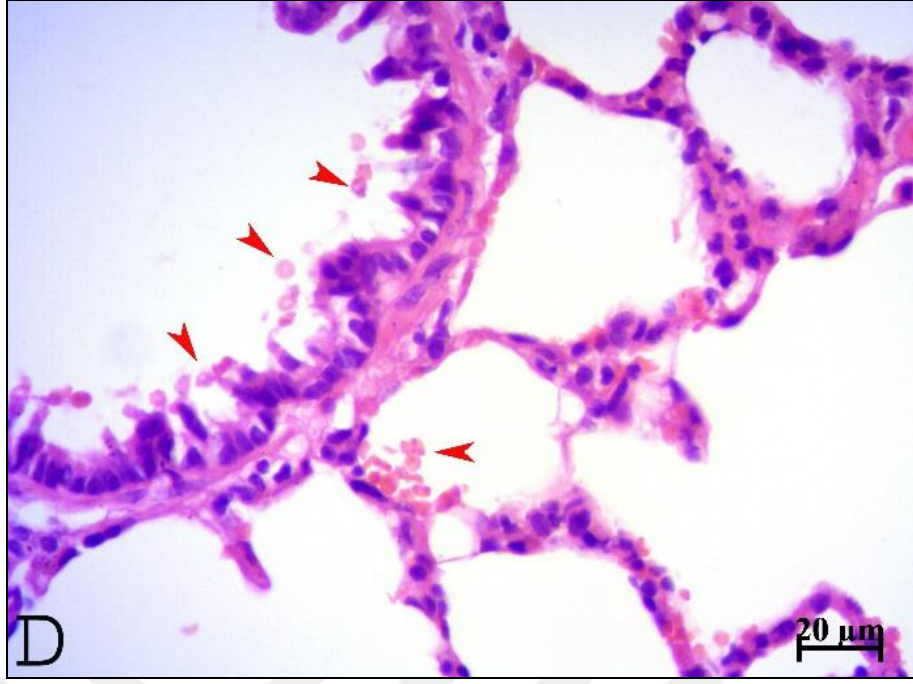
Şekil 35. CCl₄+Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X5. Ölçü çubuğu A: 200 μm.



Şekil 36. CCl₄+Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X10. Sınırlı alanlarda bronşiyal epitelde deskuamasyon (siyah ok başı) ve vazokonjesyon (üç başlı siyah yıldız) görülmekte. Ölçü çubuğu B: 100 µm.



Şekil 37. CCl₄+Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X20. Bronşiyal epitelde deskuamasyon (siyah ok başı). Ölçü çubuğu C: 50 µm.



Şekil 38. CCl₄+Kurkumin grubuna ait deneklerin akciğer dokularının H+E boyaması X40. Alveol ve bronşiol lümenlerinde kanama (kırmızı ok başı) Ölçü çubuğu D: 20 μm.

4.2.2. Gruplara göre akciğer skorlamasının istatistiksel analizi

Akciğer dokusundaki hasarın derecelendirilmesi için yapılan skorlama Tablo 5'te ifade edilmiştir.

	Kontrol	Kurkumin	CCl ₄	CCl ₄ +Kurkumin
Alveoler Konjesyon	0 (0.0-1.0)	0.25 (0-0.5)	2.75 [*] (2.0-3.0)	1.25 ^{*†} (1.0-2.0)
Hemoraji	0 (0-0)	0 (0-0)	3.0 [*] (3.0-3.0)	1.0 ^{*†} (1.0-1.5)
Septum Kalınlığı	0.5 (0-1.0)	0.5 (0.5-0.5)	3.0 [*] (3.0-3.0)	1.0 ^{††} (0.5-1.0)
İnfiltrasyon	0.75 (0-1.0)	0.75 (0-1.0)	3.0 [*] (3.0-3.0)	1.0 ^{††} (1.0-1.0)
Epitel dökülmesi	0 (0-1.0)	0 (0-1.0)	1.75 [*] (1.5-2.0)	1.0 ^{**†} (0.5-2.0)
Ödem	0 (0-0)	0 (0-0)	1.5 [*] (0-2.0)	0 ^{††} (0-0)
Makrofaj	0 (0-0)	0 (0-0)	3.0 [*] (3.0-3.0)	0.25 ^{††} (0-1.0)
Vakuolizasyon	0 (0-0)	0.25 (0-0.5)	3.0 [*] (3.0-3.0)	0.75 ^{***††} (0-1.5)

Tablo 5. Deneklere ait akciğer dokularından elde edilen histopatolojik skorlama sonuçları. Veriler ortanca(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

*p<0.01 ve **p<0.05 kontrol ve kurkumin grupları ile karşılaştırıldığında,

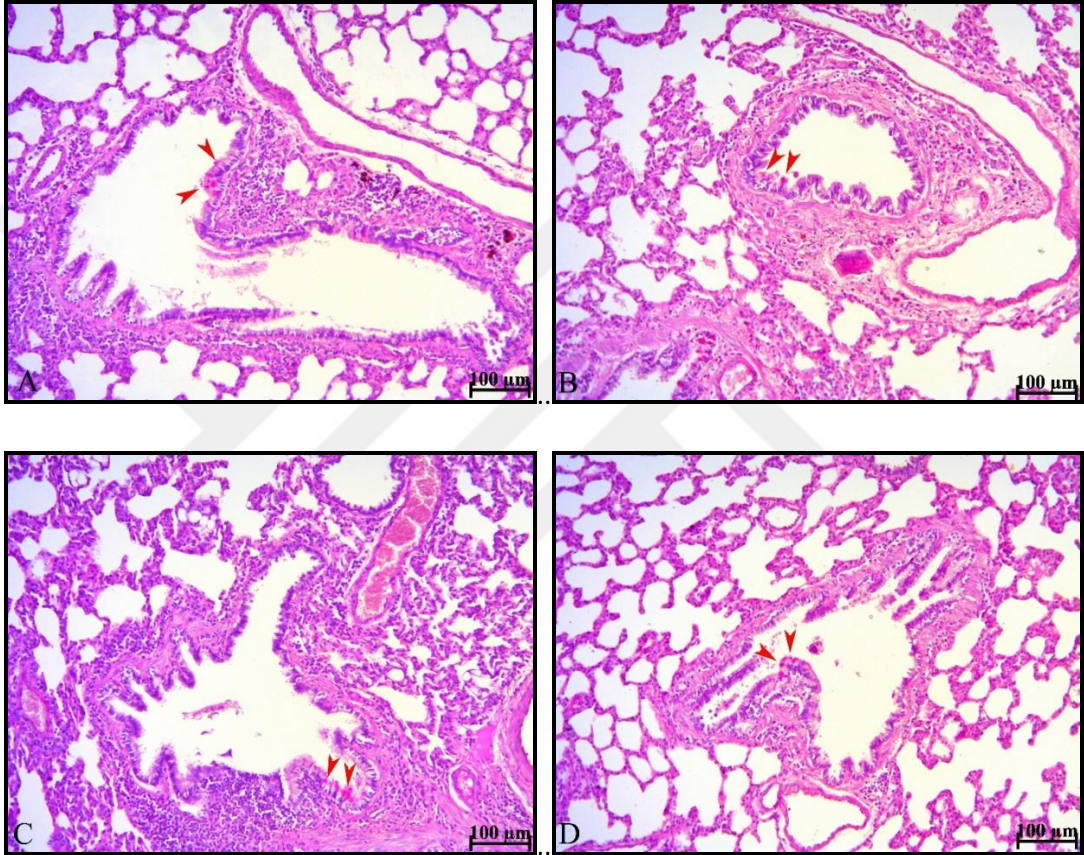
***p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

†p<0.05 CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında,

††p<0.01 CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında (n= 10).

4.2.3.PAS

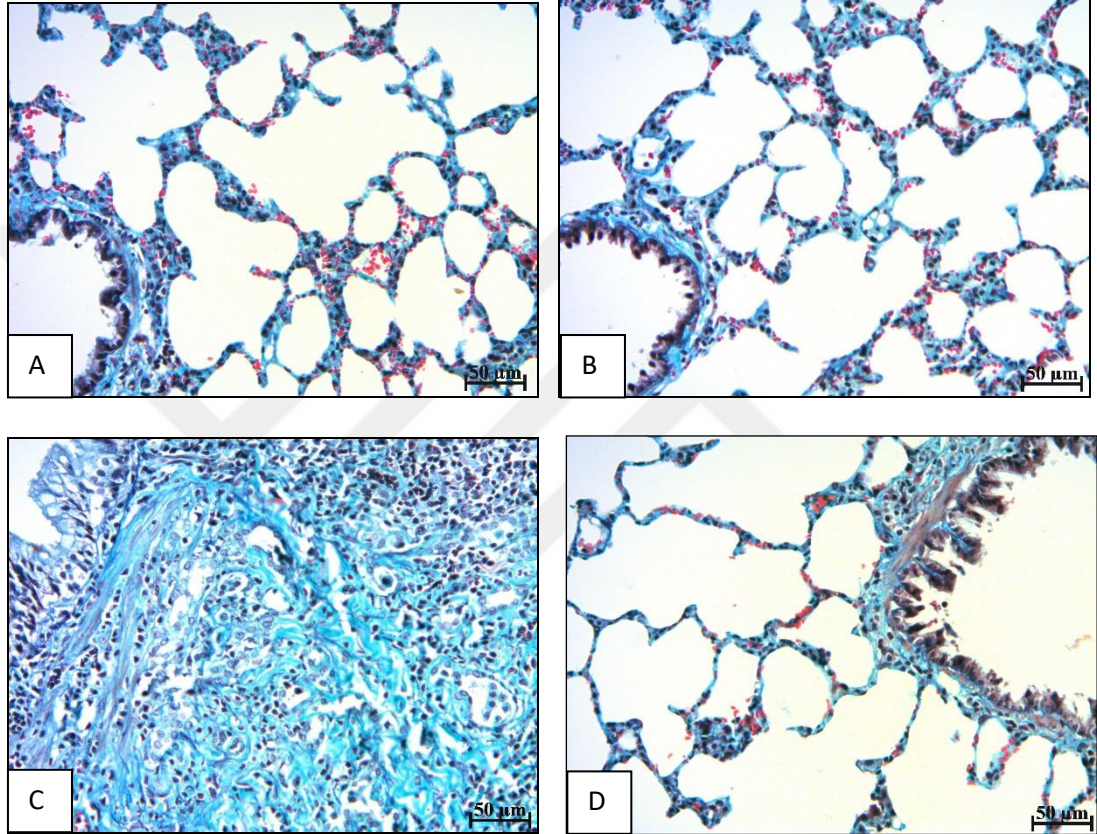
Tüm gruplara ait akciğer dokularının PAS boyama metodu ile boyanmış preparatları incelendiğinde bronşiollerdeki goblet hücresi varlığı açısından grupların birbirine benzer görünüm arz ettiği bununla birlikte CCl₄ grubunda bronşiyol epitelde dökülme gözlenen alanlarda goblet hücrelerinin de döküldüğü gözlenmiştir.



Şekil 39. Tüm gruplara ait akciğer dokularının PAS boyama sonuçları X10. Goblet hücresi (kırmızı ok başı). A: Kontrol, B: Kurkumin, C: CCl₄, D: CCl₄+Kurkumin..Ölçü çubuğu: 100 µm.

4.2.4. Masson Trikrom

Tüm gruplara ait akciğer dokularının Masson Trikrom boyama metodu ile boyanmış preparatları incelendiğinde, CCl₄ grubunda yoğun kolajen lif artışına bağlı kalınlaşma dikkat çekmektedir. CCl₄+Kurkumin grubunda ise Kontrol ve kurkumin gruplarına benzer şekilde hem alveolar septum hem de bronşiyol çevresi bağ dokusu normal morfoloji sergilemiştir.

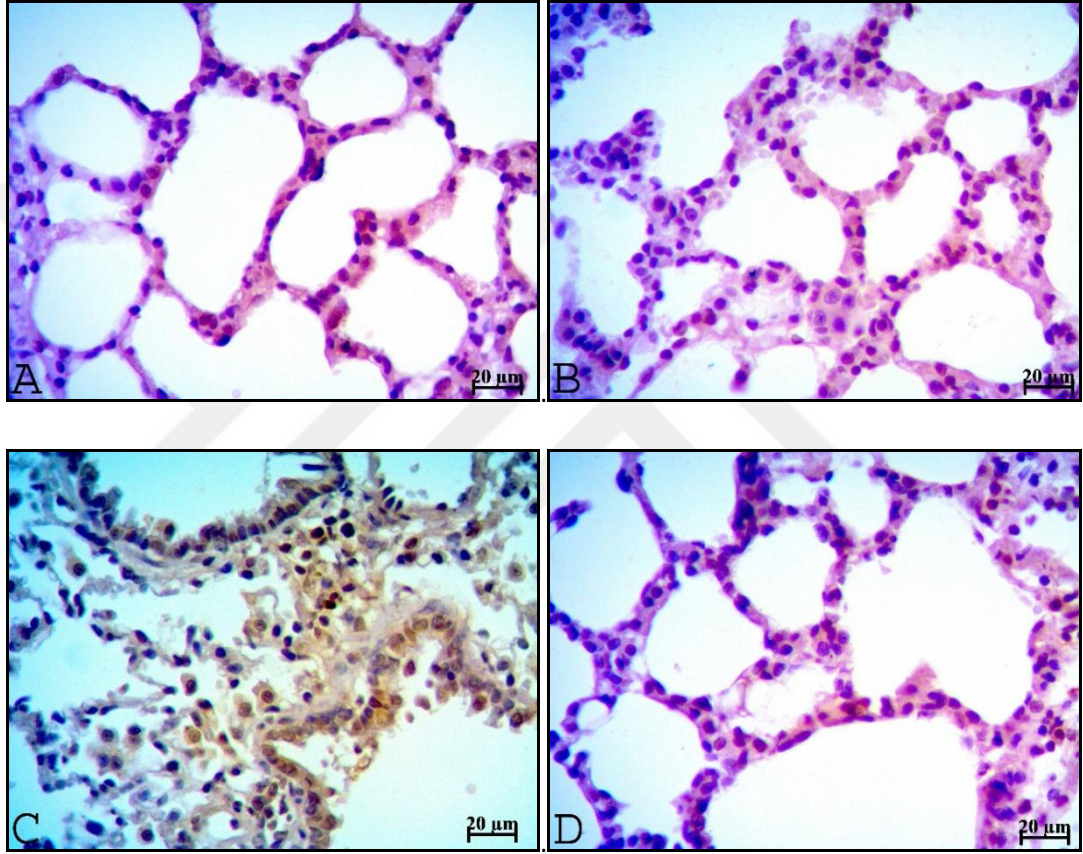


Şekil 40. Tüm gruplara ait akciğer dokularının Masson trikrom boyama sonuçları. A, B, D: Normal kalınlıkta alveolar septumlar ile normal kalınlıkta bronşiyol çevresi bağ dokusu görünmekte. C: İltihabi hücre infiltrasyonuna bağlı artmış alveolar septum kalınlıkları ile bronşiyol çevresinde yer alan bağ dokuda yoğun kollajen lif artışına bağlı kalınlaşma. A: Kontrol, B: Kurkumin, C: CCl₄, D: CCl₄+Kurkumin. Ölçü çubuğu: 50 µm.

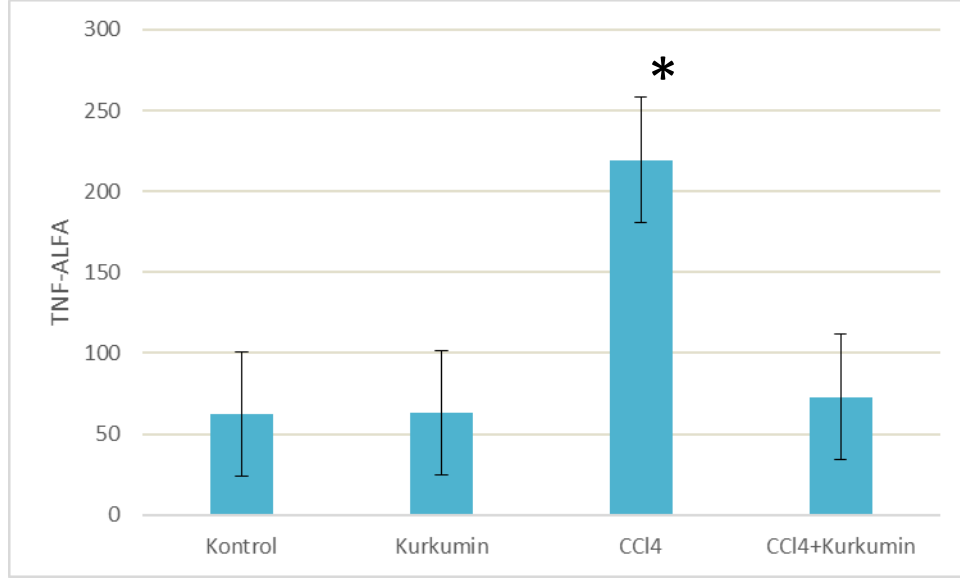
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

TNF- α

İmmünohistokimyasal boyama ile TNF- α ifadesinin H-skoruna göre, CCl₄ grubunda en yüksek yoğunlukta ekspresyon görülmüştür (p<0.01). CCl₄+Kurkumin grubu ise kontrol ve kurkumin grupları ile benzer özellikler sergilemiştir.



Şekil 41. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki TNF- α ifadesini belirlemek için yapılan immünohistokimyasal boyama görüntüleri X40. A: Kontrol, B: Kurkumin, C: CCl₄ D: CCl₄+Kurkumin. Ölçü çubuğu: 20 μ m.



Şekil 42. Gruplara göre akciğer dokularında TNF- α ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi

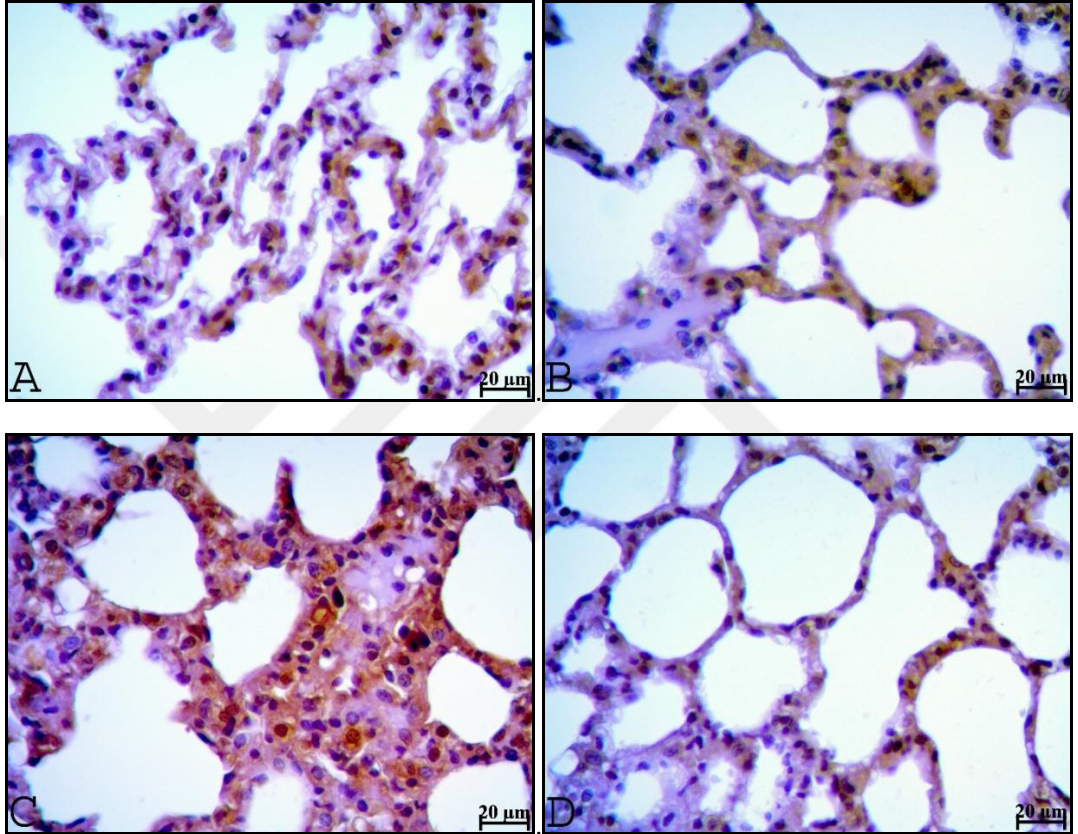
Veriler ortanca(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları gösterir.

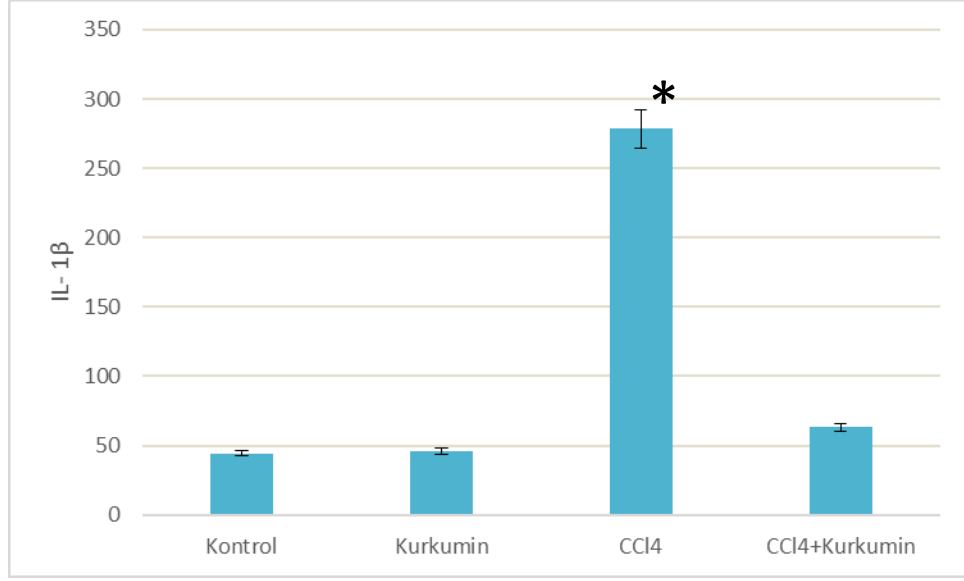
* $p < 0.01$ kontrol, kurkumin ve CCl₄+kurkumin grupları ile kıyaslandığında.

IL-1 β

İmmünohistokimyasal boyama ile IL-1 β ifadesinin H-skoru değerlendirmesine göre en yüksek ekspresyon CCl₄ grubunda görülmüştür ($p < 0.01$). CCl₄+Kurkumin grubu ise kontrol ve kurkumin grupları ile benzer özellikler sergilemiştir ($p < 0.01$).



Şekil 43. Tüm gruplarda akciğer dokusundaki IL-1 β ifadesini belirlemek için yapılan immünohistokimyasal boyama görüntüleri X40. A: Kontrol, B: Kurkumin, C: CCl₄, D: CCl₄+Kurkumin. Ölçü çubuğu: 20 μ m.



Şekil 44. Gruplara göre akciğer dokularında IL-1 β ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi

Veriler ortanca(minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

Kullanılan semboller istatistiksel olarak farklı grupları gösterir.

* $p < 0.01$ kontrol, kurkumin ve CCl₄+kurkumin grupları ile kıyaslandığında.

5. TARTIŞMA

Hava kirliliğine, kimyasallara ve toksik maddelere kronik olarak maruz kalmak; astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve akciğer kanseri vakalarının sayısını artırır (73). İnflamasyon, hipoksi, hiperoksi, ilaçlar, kimyasallar dahil olmak üzere çeşitli olaylar oksidatif stres için başlatıcı olarak görülmektedir (74). Akciğerler, ROS aracılı oksidatif hasara karşı oldukça hassastır (75). Oksidatif stres sonucu oluşan akciğer hasarı, akut inflamatuvar hasar olarak başlar ve daha sonra kronik fibrozise dönüşür. Oksidatif stres ayrıca vasküler tonusu etkileyerek pulmoner damarların yoğunluğunda azalmaya ve pulmoner arteriyol duvarlarında kalınlaşmaya neden olur (74).

CCl₄ ratlarda birden fazla sistem üzerinde organ hasarı modeli yapmak için sıklıkla kullanılan genotoksik bir kimyasaldır (69, 76-78). Biz de çalışmamızda oksidatif stres aracılı akciğer hasarı modeli oluşturmak için CCl₄ kullandık. Akciğer dokusundaki hasar için gūnaşırı 10 günlük CCl₄ maruziyeti yeterli bulunmaktadır. CCl₄ sıklıkla çalışmamızda olduğu gibi eşit hacimde zeytinyağında çözölerek hazırlansa da mısır yağında çözölerek de hazırlanabilir (4, 69, 79). Düşük doz CCl₄ uygulaması (0.4 ml/kg) ip olarak hepatik siroza, pulmoner dolaşımın bozulmasına ve akciğer hasarına yol açmaktadır (4).

CCl₄'e maruziyet yolunun seçilmesinde farklı maruz kalma yollarına göre doku dağılımı incelendiğinde, CCl₄ dokularda en yoğun inhalasyon sonucu saptanmıştır çünkü solunan kimyasallar arteriyel dolaşıma girer ve doğrudan vücuttaki organlara taşınır. Gastrik infüzyonda intestinal, hepatik ve pulmoner geçiş sırasında eliminasyon mekanizmaları aktifken oral bolus olarak verilirse eliminasyon kapasitesinin aşılabileceği düşünölmektedir. CCl₄'ün dokulardaki metabolizması dokunun perfüzyon hızına ve lipit içeriğine bağlıdır. Örneğin CCl₄ beyin ve karaciğer tarafından hızla alınır, yağlı dokularda yavaş ama çok yüksek konsantrasyonlarda birikir. Bu nedenle, bazı dokulardaki CCl₄ konsantrasyonları kan seviyelerini yansıtmayabilir (80).

Sıçanlarda CCl₄ kullanımının esas hedef organı karaciğerdir. Sirozun akciğer ve karaciğerde neden olduğu değişiklikleri inceleyen bir çalışmada, karaciğer ve akciğer dokusunda lipit peroksidasyonunda ve sirozlu hayvanların akciğerinde

inflamasyon öncüsü sitokinlerin ekspresyonlarında artış gözlenmiştir (81). CCl₄'ün pulmoner sistemde ve pulmoner damarların boyutunda değişikliklere neden olan bir karaciğer sirozu modeli oluşturduğu söylenmektedir (81). CCl₄; akciğer dokusunda normal alveolar yapının kaybı, alveolar septumların belirgin düzensiz kalınlaşması ve şiddetli pulmoner fibroza neden olur. Pulmoner arteriyollerde vasküler düz kas hipertrofisi ve ekstraselüler matriks birikimi akciğer ve siroz arasındaki bağlantıya dair kanıtlar sağlar (30). CCl₄'ün multi sistemik hasarına yönelik Jiang ve ark. yaptıkları çalışmada CCl₄'ün karaciğerde mikroveziküler steatoz, fokal nekroz alanları, böbrekte orta düzeyde glomerüler atrofi, akciğerde fokal pulmoner ateletazi ve dalakta konjesyona neden olduğunu gözlemlemiştir (76).

CCl₄ antioksidan enzim sistemini inhibe ederek akciğer doku hasarını artırır. CCl₄; glutatyon redüktaz (GR), indirgenmiş glutatyon (GSH) ve GPX seviyelerini azaltır (4, 27, 77, 82, 83). Antioksidan bir enzim olan SOD aktivitesi, CCl₄ uygulanan gruplarda önemli ölçüde azalmaktadır (77, 81, 84). Biz de çalışmamızda antioksidan enzim kapasitesini belirlemek için akciğer dokusunda SOD düzeyini inceledik. CCl₄ uygulamasına tabi tutulan grupta SOD düzeyi en düşük bulunurken kurkumin CCl₄'ün neden olduğu bu etkiyi tersine çevirmede etkiliydi (p<0.01).

CCl₄ metabolizması sonucu açığa çıkan radikaller, membranın çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu durum lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA'nın artışına yol açar (5, 85). Artan lipid peroksidasyonu ve MDA daha fazla ROS oluşumu ile sonuçlanarak oksidatif stresin ve akciğer hasarının devam etmesine neden olur (4, 69, 84). Çalışmamızda MDA, CCl₄ grubunda en yüksek seviyede idi ve antioksidan özellikleri bilinen kurkumin MDA düzeyini CCl₄ grubuna göre önemli derecede azalttı (p< 0.01).

TNF- α , bağışıklık sisteminin ana düzenleyici sitokinlerinden biridir. Yüksek TNF- α seviyesi, diğer proinflamatuvar sitokinleri ve ROS oluşumunu artırır (4). Oksidatif stresle indüklenen akciğer hasarının incelendiği bir çalışmada deney hayvanlarında proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , TNF- α ve IL-6 konsantrasyonları bronkoalveolar lavaj sıvılarında ve kanda incelenmiş ve CCl₄'e maruz kalma sonrası 24 saat içinde önemli ölçüde artarak gözlem süresi boyunca kontrol hayvanlarına göre yüksek kalmıştır. IL-1 β , TNF- α ve IL-6 seviyeleri maruziyet sonrası 24 saat

içinde maksimuma ulaşmıştır (86). Sirozlu hayvanların akciğerinde de TNF- α ve IL-1 β ekspresyonlarında artış gözlenmiştir (81). Çalışmamızda TNF- α ve IL1- β ekspresyonlarını indirekt immunohistokimyasal yöntemle gösterdik ve h-Skoru ile değerlendirdik. CCl₄ grubunda TNF- α ve IL1- β ifadeleri anlamlı düzeyde yükseldi ve kurkumin ile tedavi edilen grupta ise kontrol ve kurkumin grupları ile benzer bulundu.

Alveolar makrofaj, bir dizi büyüme faktörünü, sitokinleri, kemokinleri, araşidonik asit metabolitlerini ve oksijen radikallerini sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir. Alveolar makrofajlar ve damar sistemini çevreleyen interstisyel makrofajlar, enfeksiyöz ve alerjenik uyaranlara erken yanıt veren immün efektör hücrelerdir (87). Alveolar makrofaj, birçok akut akciğer hasarı modelinde zengin bir TNF- α kaynağıdır (88). Bizim çalışmamızda da histolojik skorlamada ve görüntülerde alveolar makrofajlar CCl₄ grubunda oldukça yaygındı. İmmünohistokimyasal olarak boyandığında CCl₄ grubunda TNF- α pozitifliği de bu bulguları desteklemektedir ($p < 0.01$).

Literatüre bakıldığında CCl₄ ile oluşturulmuş akciğer hasarının histopatolojik incelemelerinde inflamasyon, konjesyon, ödem, vakuolizasyon, epitel dökülmesi ve alveolar makrofafların sayıca artışı öne çıkan bulgulardır. CCl₄ uygulanan gruplardaki deneklerin akciğer dokularının histolojik incelenmesinde Lamina propria ile bazal membran arasında ödemli alanların artışı ile birlikte alveoller arasındaki interstisyel doku yoğunluğu da artmış ve fibrozisli infiltrasyonlar gözlenmiştir (4, 69, 84). Bizim çalışmamızda kontrol ve kurkumin grupları ile kıyaslandığında perivasküler alandaki bu ödem CCl₄'e maruz kalan grupta daha fazla olsa da ($p < 0.01$) akciğer ödeme neden olan diğer kimyasallar ile kıyaslandığında CCl₄'ün masif düzeyde ödeme neden olduğu söylenememektedir (89).

Akciğerdeki CCl₄ hasarının en belirgin özellikleri interalveolar septumların sertleşmesi ve alveol duvarlarının kalınlaşmasıdır. CCl₄ dejenere kan hücrelerinin damarlarda birikerek kan damarlarının bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Hücrelerin çökmesi ile kan kılcal damarlarının tıkanması yaygın görülür. Bronşiyollerin lümeni daralarak göreceli daha kısa solunum yolu oluşur. Çeşitli yerlerden kırılma alveoller septumlarda yaygındır (69). Salgılanan sitokinler sonucunda akciğerde inflamatuvar hücre artışı olur. Bu durum interstisyel inflamasyon

ve fibrozis yaparak diffüz alveolar hasar görüntüsü oluşturmaktadır (69, 78, 79). Diğer çalışmalarda alveolar kırılma olarak tanımlanan bulgu bizim çalışmamızda septum kalınlığının çok fazla artarak vakuol görüntüsü oluşturduğu alanlarda görülmedi. Septumların sertleştiği ve çok kalınlaşmadığı alanlarda septumun kırılmış parçaları bulunmaktaydı.

Masson Trikrom boyanmış akciğer doku kesitlerinde CCl_4 'ün neden olduğu interstisyel bağ dokusunda artış bulunmaktadır. Sirozlu hayvanların akciğerinin peribronşiyol ve perivasküler adventisiasında hücre dışı matriks birikiminin göstergesi olarak yoğun mavi boyanma gösterilmiştir. CCl_4 ile tedavi edilen gruptaki akciğer parankiminin yanı sıra arteriyollerin media ve adventisiasında kollajen birikiminde artış bulunmaktadır (30, 78). Çalışmamızda yoğun bağ dokusu CCl_4 grubunda görülmekteydi kurkumin ile tedavi edilen grup ise normale yakın bir morfoloji sergilenmesini sağladı ($p < 0.01$).

Kronik astım modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda PAS boyama sonucunda inflamasyon alanlarında goblet hücre artışı görülmektedir (90, 91). Ancak bizim çalışmamızda belirgin olan epitel dökülmesi, goblet hücrelerinin sayıca değerlendirilememesine neden olmaktadır. Yine de epitel dökülmesi yoğun olmayan sınırlı alanlara bakıldığında CCl_4 grubunda goblet hücrelerinin varlığından söz edilmektedir.

Akut maruziyet grubuna giren çalışmamızda CCl_4 'e maruz kalan deneklerin akciğer dokularının H+E boyamalarında yoğun kanama alanları dikkat çekmekteydi ($p < 0.01$). Kanamanın yoğunlaştığı bu alanlarda eritrositlerin kümeler halinde görülerek çubuk formu oluşturduğu alanları eritrosit kristalleri olarak tanımladık. CCl_4 'ün neden olduğu akut ve kronik maruziyeti inceleyen bir çalışmada her iki durumda da gruplarda diffüz alveolar hasar görülmüştür. Akut maruziyet hem interstisyel hem de intraalveolar fibroze neden olmuştur. Akut maruziyeti takiben intraalveolar kristalize hemoglobin bulunan bir çalışmada; kristalize hemoglobin bulgusu eritrosit çubukları ile uyumlu bulunmaktadır (92).

Oksidatif hasarın neden olduğu hastalıklara karşı güvenli ve etkili tedaviler için fitokimyasallar kullanılmaktadır. Meyvelerin ve kabuklu yemişlerin önemli bir bileşeni olan Ellagic asidin CCl_4 'ün neden olduğu akciğer hasarına etkisini inceleyen bir çalışmada; enflamatuar proteinlerin, NF- κ B, COX-2 ve proinflatuar

sitokinlerden TNF- α ifadelerinin azaldığı belirtilmiştir (85). Biz de antioksidan özellikleri güçlü çalışmalarla desteklenen zerdeçalın etken maddesi kurkuminin CCl₄'ün neden olduğu hasara etkisini inceledik.

Zerdeçal tedavileri, farelerin pulmoner inflamasyon yanıtlarını azaltmaktadır. Kurkumin, serum MDA seviyelerini düşürür ve IL-1 β , TNF- α ekspresyonlarını inhibe eder. Antiinflamatuvar etkilerinden dolayı kurkumin tedavisi, aspire edilen gastrointestinal dekontaminasyon ajanlarının neden olduğu akciğer hasarlarını önleyici etkilere sahiptir (93).

Oral kurkumin uygulaması karaciğer, akciğer, böbrek ve beyin gibi farelerin çeşitli organlarında lipit peroksidasyonunu önemli ölçüde azaltır (94, 95). H. pylori ile enfekte olmuş 36 gastrit hastasının mide mukozasında IL-1 β , TNF- α ve COX-2 üretimi üzerinde kurkuminin etkisi araştırılan bir çalışmada kurkumin grubunda sitokin üretiminde azalma saptanmamıştır. Çalışma, kurkuminin tek başına H. pylori ve inflamatuvar sitokinlerin üretimi üzerinde sınırlı bir antibakteriyel etkiye sahip olabileceği sonucuna varmıştır (96). İnsan çalışmalarında kullanılan kurkuminin biyoyararlanımı oldukça zayıftır. Kullanılan doz, biyoyararlanımı etkileyecek yeni formülasyonların kullanılması sonuçları etkileyebilir. Bizim çalışmamızda gastrik infüzyon yoluyla oral kurkumin kullanılmasına rağmen kurkuminin CCl₄'ün neden olduğu IL-1 β , TNF- α ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Kurkumin lökosit, nötrofil ve eozinofil hakimiyetini azaltarak antienflamatuvar ve immünomodülatör etkiler gösterir (97). Zerdeçal, dalaktaki T lenfositlerinin sayısının azalmasına ve buna paralel olarak insan periferik kanındaki T-lenfositleri ve monositleri etkileyen Concanavalin A reseptör ekspresyonunda önemli bir azalmaya neden olmaktadır (98). Bizim çalışmamızda da histolojik incelemelerde CCl₄ grubunda gördüğümüz lenfositik hücrelerin hakimiyeti CCl₄ ile birlikte kurkumin verdiğimiz gruplarda gözlenmedi.

Sınırlı sayıda olan insan çalışmalarına baktığımızda; randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada inatçı astımı olan çocuklarda rutin tedavilerinin yanında 6 ay süreyle kurkumin verilmiştir ancak plasebo ve kurkumin grubu arasında hiçbir fark bulunmamıştır. Yine de kurkumin, plaseboya kıyasla çocukların geceleri daha az uyanmasına, kısa etkili β -adrenerjik agonistlere olan ihtiyacının azalmasına ve takiplerde hastalığın kontrolünün daha iyi seyretmesine olanak sağlamıştır (99).

Kurkuminin solunum, alerjik ve immünolojik bozukluklar üzerindeki etkilerine bakıldığında trakeal düz kas üzerinde gev eticidir ve kronik obstrüktif akciğer hastalıklarında bronkodilatör etki ile potansiyel terapötik bir ajan olarak değerlendirilebilir (100). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda zerdeçal uygulaması, akciğer hasarını iyileştirir ve oksidatif stres belirteçlerini kısmen doza bağlı bir şekilde normale getirir (101). Bizim  alışmamızda da akciğer hasarının histolojik bulguları olan interalveolar septum kalınlığı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveolar konjesyon ve kanama ve ödem bulguları kurkumin ile tedavi edilen grupta anlamlı derecede azalmıştır.

Zerdeçal, antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmaları aracılığıyla pek çok sistem üzerinde etkilidir. Bu faydalar, kurkumin biyoyararlanımını önemli  l de artıran formülasyonlarda daha etkili hale gelir (64, 67).

Genel olarak daha uzun ve kaliteli bir yaşam sürmeyi hedefleyen toplumlarda besin takviyeleri ön plana çıkmaktadır. Türkiye'de ve dünyada artan sağlık sorunlarına paralel olarak fonksiyonel ürünlere olan ilgi de artmıştır (102). Bu bağlamda deney hayvanlarında uyguladığımız dozda koruyucu etkisinin olduğunu g rd  m z kurkuminin fonksiyonel besin olarak sağlıklı beslenmeye ek diyetle etkin kullanılması için insanlar üzerinde yapılan daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Deney hayvanlarında yapılan bu çalışmanın insan çalışmalarının artmasına yönelik umut verici olacağını düşünüyoruz. Aynı zamanda biyoyararlanımının artmasını sağlayan yeni form lasyonları kullanmak kurkumin ile yapılan çalışmaların daha güçlü olmasını sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR

CCl₄'ün neden olduğu akciğer hasarına karşı kurkuminin koruyucu etkisinin incelendiği bu çalışmamızda: akciğer hasarının incelenmesinde CCl₄' e akut maruziyetin yararlı bir deneysel model olduğunu gözlemledik.

1. Oksidatif stresin neden olduğu hasarı ve antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için akciğer dokusunda SOD ve MDA düzeyini inceledik. Kurkumin, CCl₄'ün neden olduğu MDA artışını azaltmış ve SOD seviyelerinin de CCl₄ grubundan daha yüksek olmasını sağlamıştır.
2. Gruplar arasında akciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde CCl₄ grubunda belirgin akciğer doku hasarı ortaya çıkmıştır. CCl₄, akciğer hasarının histolojik skorlamasında ödem, interalveolar septum kalınlığı, konjesyon, hemoraji, alveolar makrofajlar, vakuolizasyon, epitel dökülmesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu dahil tüm parametreler için anlamlı bir artışa neden olmuştur.
3. Kurkumin, CCl₄'ün neden olduğu tüm histopatolojik değişiklikleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır.
4. Çalışmamızda akciğer dokularındaki antiinflamatuvar süreci değerlendirmek için TNF- α ve IL1- β ifadeleri indirekt immunohistokimyasal yöntemle gösterilmiştir. CCl₄ grubunda TNF- α ve IL1- β anlamlı düzeyde yüksek iken söz konusu sitokinlerin immün ifadeleri kurkumin ile tedavi edilen grupta kontrol ve kurkumin grupları ile benzer bulunmuştur.
5. Bu çerçevede değerlendirildiğinde kurkuminin oksidatif stresin yol açtığı hasara karşı koruyucu olduğu söylenebilir. Kurkuminin antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmalar yoluyla akciğerler üzerinde gösterdiği bu etkiler; solunum, alerjik ve immünolojik hastalıklar için olası terapötik bir ajan olarak düşünülmesini sağlamaktadır.
6. Kurkuminin fonksiyonel besin olarak sağlıklı beslenmeye ilaveten diyetle yer alması için besin-ilaç etkileşimleri ve biyoyararlanımı göz önünde bulundurulmalıdır.

7. Özel gruplarda beslenme önerileri yapılabilmesi için bu konu ile ilgili daha fazla insan çalışmasına ihtiyaç vardır.
8. Yaptığımız araştırmalar doğrultusunda CCl_4 'ün neden olduğu oksidatif stres aracılığı ile ortaya çıkan akciğer hasarında kurkuminin etkilerinin gösterildiği bir çalışma ile karşılaşmadık. Çalışmamızın bu konuda literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.



7. KAYNAKÇA

1. Unsal V, Cicek M, Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Rev Environ Health* 36(2):279-95, 2021.
2. Faroon O. Toxicological profile for carbon tetrachloride Atlanta, Georgia: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Department of Health and Human Services. Public Health Service. 2005. Erişim Adresi: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp30.pdf> Erişim Tarihi: 26.09.2023
3. Ahmad B, Khan MR, Shah NA. Amelioration of carbon tetrachloride-induced pulmonary toxicity with *Oxalis corniculata*. *Toxicology and Industrial Health* 31(12):1243-51, 2015.
4. Kurt A, Tumkaya L, Yuce S, Turut H, Cure MC, Sehitoglu I. The protective effect of infliximab against carbon tetrachloride-induced acute lung injury. *Iran J Basic Med Sci* 19(6):685-91, 2016.
5. Taslidere E, Esrefoglu M, Elbe H, Cetin A, Ates B. Protective effects of melatonin and quercetin on experimental lung injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Exp Lung Res* 40(2):59-65, 2014.
6. Lee JC, Kinniry PA, Arguiri E, Serota M, Kanterakis S, Chatterjee S. Dietary curcumin increases antioxidant defenses in lung, ameliorates radiation-induced pulmonary fibrosis, and improves survival in mice. *Radiat Res* 173(5):590-601, 2010.
7. Almatroodi SA, Alrumaihi F, Alsahli MA, Alhommrani MF, Khan A, Rahmani AH. Curcumin, an Active Constituent of Turmeric Spice: Implication in the Prevention of Lung Injury Induced by Benzo(a) Pyrene (BaP) in Rats. *Molecules* 25(3), 2020.
8. Alizadeh M, Kheirouri S. Curcumin reduces malondialdehyde and improves antioxidants in humans with diseased conditions: a comprehensive meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomedicine (Taipei)* 9(4):23, 2019.
9. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 595:105-25, 2007.
10. Ahsan R, Arshad M, Khushtar M, Ahmad MA, Muazzam M, Akhter MS. A Comprehensive Review on Physiological Effects of Curcumin. *Drug Res (Stuttg)* 70(10):441-7, 2020.

11. Lelli D, Sahebkar A, Johnston TP, Pedone C. Curcumin use in pulmonary diseases: State of the art and future perspectives. *Pharmacol Res.*115:133-48, 2017.
12. Eşrefoğlu M, editor. Özel Histoloji. 2. baskı, s. 179-204, İstanbul: İstanbul Kitapevleri; 2015.
13. Hasan O. Ozan Anatomi. 3.baskı, s. 221-250, Ankara: Klinisyen Tıp Kitapevleri; 2014.
14. Netter FH. Atlas of Human Anatomy. Sixth ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2014.
15. Paulsen F, Waschke J. Sobotta atlas of human anatomy. 16th edition, English version with Latin nomenclature ed. Munich: Elsevier Munich; 2018.
16. Ross HM PW, editor. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. 6. Baskı ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 2014.
17. Carlos JL. Temel Histoloji (Çeviri:Aytekin Yener, Solakoğlu Seyhun). 10 ed: Nobel Tıp Kitapevleri; 2006.
18. Han B, Hirahara H. Effect of Gas Oscillation-Induced Irreversible Flow in Transitional Bronchioles of Human Lung. *Journal of Flow Control, Measurement & Visualization* 04:171-93, 2016.
19. LeMessurier KS, Tiwary M, Morin NP, Samarasinghe AE. Respiratory Barrier as a Safeguard and Regulator of Defense Against Influenza A Virus and Streptococcus pneumoniae. *Frontiers in Immunology* 11, 2020.
20. Barkauskas CE, Chung M-I, Fioret B, Gao X, Katsura H, Hogan BLM. Lung organoids: current uses and future promise. *Development* 144(6):986-97, 2017.
21. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The developing human : clinically oriented embryology. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier Philadelphia, PA; 2013.
22. Klatt EC, Robbins SL, Cotran RS. Robbins and Cotran atlas of pathology. [1st] ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier Philadelphia, PA; 2006.
23. Sadler TW, Langman J. Langman's medical embryology. 12th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
24. Lecturio Medical MCL, Broncial Tree Anatomy. Erişim Adresi: <https://www.lecturio.com/concepts/bronchial-tree/> Erişim Tarihi: 21.08.23

25. Holgate S, Grigg J, Agius R, Ashton J, Cullinan P, Exley K. Every breath we take: The lifelong impact of air pollution 2016. Erişim Adresi: <https://www.rcplondon.ac.uk/file/2912/download> Erişim tarihi:26.09.2023.
26. McGregor D, Lang M. Carbon tetrachloride: Genetic effects and other modes of action. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 366(3):181-95, 1996.
27. Ganie SA, Haq E, Hamid A, Qurishi Y, Mahmood Z, Zargar BA. Carbon tetrachloride induced kidney and lung tissue damages and antioxidant activities of the aqueous rhizome extract of *Podophyllum hexandrum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 11(1):17, 2011.
28. Illustrated Glossary of Organic Chemistry, Carbon tetrachloride, Lewis Structure. Erişim Adresi: http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/C/carbon_tetrachloride.html Erişim tarihi: 21.08.23
29. Liu CH, Huang XT, Li YY, Zheng X, Li N, Mi SQ. [The anti-portal hypertension effect of oleanolic acid in CCl₄-induced cirrhosis rats]. *Zhong Yao Cai*. 35(6):930-5, 2012.
30. Das M, Boerma M, Goree J, Lavoie E, Fausther M, Gubrij I. Pathological Changes in Pulmonary Circulation in Carbon Tetrachloride (CCl₄)-Induced Cirrhotic Mice. *PloS one*. 9:e96043, 2014.
31. Ma JYC, LaCagnin LB, Bowman L, Miles PR. Carbon tetrachloride inhibits synthesis of pulmonary surfactant disaturated phosphatidylcholines and ATP production in alveolar type II cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*. 1003(2):136-44, 1989.
32. Stewart BW, Le Mesurier SM, Lykke AWJ. Correlation of biochemical and morphological changes induced by chemical injury to the lung. *Chemico-Biological Interactions* 26(3):321-38, 1979.
33. Fakjian N, Buckpitt AR. Metabolism of bromobenzene to glutathione adducts in lung slices from mice treated with pneumotoxicants. *Biochemical Pharmacology*. 33(9):1479-86, 1984.
34. Khalil I, Ghani M, Khan MR, Akbar F. Evaluation of biological activities and in vivo amelioration of CCl₄ induced toxicity in lung and kidney with *Abutilon pannosum* (G.Forst.) Schltdl. in rat. *Journal of Ethnopharmacology* 249:112395, 2020.

35. Aslan A, Hussein Y, Gök Ö, Beyaz S, Erman O, Baspinar S. Ellagic acid ameliorates lung damage in rats via modulating antioxidant activities, inhibitory effects on inflammatory mediators and apoptosis-inducing activities. *Environmental Science and Pollution Research*. 27, 2019.
36. Salatti Ferrari R, da Rosa DP, Forgiarini LF, Bona S, Simões Dias A, Marroni NP. Oxidative Stress and Pulmonary Changes in Experimental Liver Cirrhosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012:486190, 2012.
37. Prior RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of Clinical Nutrition* 78(3):570S-8S, 2003.
38. Verma R, Pandey M, Saraf S. Nutraceuticals: New Era of Medicine and Health. *Asian Journal of Clinical Nutrition* 3, 2010.
39. Thimmulappa RK, Chattopadhyay I, Rajasekaran S. Oxidative Stress Mechanisms in the Pathogenesis of Environmental Lung Diseases. In: Chakraborti S, Parinandi NL, Ghosh R, Ganguly NK, Chakraborti T, editors. *Oxidative Stress in Lung Diseases: Volume 2*. Singapore: Springer Singapore p. 103-37, 2020.
40. Shaban NZ, Awad OM, Fouad GM, Hafez AM, Abdul-Aziz AA, El-Kot SM. Prophylactic and curative effects of *Carica papaya* Linn. pulp extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*.30(10): 27815-32, 2023.
41. Subirade M . Report on Functional Foods. Food Quality and Standards Service (AGNS) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOS) R, Italy 2007. Erişim Adresi: http://ernaehrungsdenkwerkstatt.de/fileadmin/user_upload/EDWText/TextElemente/PHN-Texte/WHO_FAO_Report/Functional_Foods_Report_FAO_Nov2007.pdf Erişim Tarihi: 26.09.2023
42. Kim JY, Kim DB, Lee HJ. Regulations on health/functional foods in Korea. *Toxicology* 221(1): 112-8, 2006.
43. Topolska K, Florkiewicz A, Filipiak-Florkiewicz A. Functional Food-Consumer Motivations and Expectations. *Int J Environ Res Public Health* 18(10), 2021.
44. Chen M-F. The mediating role of subjective health complaints on willingness to use selected functional foods. *Food Quality and Preference* 22(1): 110-8, 2011.
45. Mohanty S, Singhal K. Functional Foods As Personalised Nutrition: Definitions and Genomic Insights pp. 513-35, 2018.

46. WHO. Noncommunicable Diseases Report, 2022. Erişim Adresi <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> Erişim Tarihi 20.07.2023.
47. Plasek B, Lakner Z, Kasza G, Temesi Á. Consumer Evaluation of the Role of Functional Food Products in Disease Prevention and the Characteristics of Target Groups. *Nutrients* 12(1): 69, 2019.
48. Teodoro JS, Duarte FV, Rolo AP, Palmeira CM. Chapter 28 - Mitochondria as a Target for Safety and Toxicity Evaluation of Nutraceuticals. In: Gupta RC, editor. *Nutraceuticals*. Boston: Academic Press: pp. 387-400, 2016.
49. Das L, Bhaumik E, Raychaudhuri U, Chakraborty R. Role of nutraceuticals in human health. *J Food Sci Technol* 49(2): 173-83, 2012.
50. Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules* 24(16), 2019.
51. Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr* 21: 381-406, 2001.
52. Condezo-Hoyos L, Gazi C, Pérez-Jiménez J. Design of polyphenol-rich diets in clinical trials: A systematic review. *Food Research International* 149: 110655, 2021.
53. Ahmad RS, Hussain MB, Sultan MT, Arshad MS, Waheed M, Shariati MA. Biochemistry, Safety, Pharmacological Activities, and Clinical Applications of Turmeric: A Mechanistic Review. *Evid Based Complement Alternat Med* 7656919, 2020.
54. Farooqui T, Farooqui AA. Chapter 2 - Curcumin: Historical Background, Chemistry, Pharmacological Action, and Potential Therapeutic Value. In: Farooqui T, Farooqui AA, editors. *Curcumin for Neurological and Psychiatric Disorders*: Academic Press: pp. 23-44, 2019.
55. Xu X-Y, Meng X, Li S, Gan R-Y, Li Y, Li H-B. Bioactivity, Health Benefits, and Related Molecular Mechanisms of Curcumin: Current Progress, Challenges, and Perspectives. *Nutrients* [Internet] 10(10), 2018.
56. Li S, Yuan W, Deng G, Wang P, Yang P, Aggarwal B. Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.) *Pharmaceutical Crops*, 5: 28-54, 2011.

57. Ghosh S, Banerjee S, Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem Toxicol* 83: 111-24, 2015.
58. Uma Pradeep K, Geervani P, Eggum BO. Common Indian spices: nutrient composition, consumption and contribution to dietary value. *Plant Foods Hum Nutr* 44(2): 137-48, 1993.
59. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics* 4(6): 807-18, 2007.
60. Schneider C, Gordon ON, Edwards RL, Luis PB. Degradation of Curcumin: From Mechanism to Biological Implications. *J Agric Food Chem* 63(35): 7606-14, 2015.
61. Hasanzadeh S, Read MI, Bland AR, Majeed M, Jamialahmadi T, Sahebkar A. Curcumin: an inflammasome silencer. *Pharmacological Research* 159: 104921, 2020.
62. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": From kitchen to clinic. *Biochemical Pharmacology* 75(4): 787-809, 2008.
63. Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bendorowicz-Pikuła J, Sikora E. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Letters* 433(3): 287-93, 1998.
64. Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health. *Foods* 6(10), 2017.
65. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 24(10):R453-62, 2014.
66. Paul S, Sa G. Curcumin as an Adjuvant to Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Oncology* 11, 2021.
67. Hassanzadeh K, Buccarello L, Dragotto J, Mohammadi A, Corbo M, Feligioni M. Obstacles against the Marketing of Curcumin as a Drug. *Int J Mol Sci* 21(18), 2020.
68. He Y, Yue Y, Zheng X, Zhang K, Chen S, Du Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? *Molecules* 20(5): 9183-213, 2015.

69. Ahmad B, Khan MR, Shah NA. Amelioration of carbon tetrachloride-induced pulmonary toxicity with *Oxalis corniculata*. *Toxicology and Industrial Health* 31(12): 1243-51, 2013.
70. Sapmaz-Metin M, Topcu-Tarlacalisir Y, Uz YH, Inan M, Omurlu IK, Cerkezkayabekir A. Vitamin E modulates apoptosis and c-jun N-terminal kinase activation in ovarian torsion–detorsion injury. *Experimental and Molecular Pathology* 95(2): 213-9, 2013.
71. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol* 123(3): 520-31, 1986.
72. Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. *Indian J Biochem Biophys* 21(2): 130-2, 1984.
73. Flood-Garibay JA, Méndez-Rojas M, Pérez-Cortés EJ. Respiratory immune system and consequences due to particulate matter in air pollution. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*57(3): 170-80, 2019.
74. Cannavò L, Perrone S, Viola V, Marseglia L, Di Rosa G, Gitto E. Oxidative Stress and Respiratory Diseases in Preterm Newborns. *Int J Mol Sci* 22(22), 2021.
75. Zuo L, Wijegunawardana D. Redox Role of ROS and Inflammation in Pulmonary Diseases. *Adv Exp Med Biol* 1304: 187-204, 2021.
76. Jiang L, Huang J, Wang Y, Tang H. Metabonomic Analysis Reveals the CCl₄-Induced Systems Alterations for Multiple Rat Organs. *Journal of Proteome Research* 11(7): 3848-59, 2012.
77. Ganie SA, Haq E, Hamid A, Qurishi Y, Mahmood Z, Zargar BA. Carbon tetrachloride induced kidney and lung tissue damages and antioxidant activities of the aqueous rhizome extract of *Podophyllum hexandrum*. *BMC Complement Altern Med* 11: 17, 2011.
78. Sahreen S, Khan MR, Khan RA. Effects of *Carissa opaca* fruits extracts on oxidative pulmonary damages and fibrosis in rats. *BMC Complement Altern Med* 14: 40, 2014.
79. Mizuguchi S, Takemura S, Minamiyama Y, Kodai S, Tsukioka T, Inoue K. S-allyl cysteine attenuated CCl₄-induced oxidative stress and pulmonary fibrosis in rats. *Biofactors* 26(1): 81-92, 2006.

80. Sanzgiri UY, Srivatsan V, Muralidhara S, Dallas CE, Bruckner JV. Uptake, Distribution, and Elimination of Carbon Tetrachloride in Rat Tissues Following Inhalation and Ingestion Exposures. *Toxicology and Applied Pharmacology* 143(1):120-9, 1997.
81. Salatti Ferrari R, da Rosa DP, Forgiarini LF, Bona S, Dias AS, Marroni NP. Oxidative stress and pulmonary changes in experimental liver cirrhosis. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 486190, 2012.
82. Khan RA, Alkreathy HM, Saboorshah A, Ahmed M, Khan S. Protective effects of *Trifolium alexandrinum* L. against lung injury induced by environmental toxin CCl₄ in experimental rats. *Food Nutr Res* 60: 30433, 2016.
83. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. Protective effect of *Sonchus asper* extracts against experimentally induced lung injuries in rats: a novel study. *Exp Toxicol Pathol* 64(7-8): 725-31, 2012.
84. Rajesh M. Protective activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn. on carbon tetrachloride-induced peroxidative damage. *Indian Journal of Pharmacology* (ISSN: 0253-7613) 36(5), 2004.
85. Aslan A, Hussein YT, Gok O, Beyaz S, Erman O, Baspinar S. Ellagic acid ameliorates lung damage in rats via modulating antioxidant activities, inhibitory effects on inflammatory mediators and apoptosis-inducing activities. *Environ Sci Pollut Res Int* 27(7): 7526-37, 2020.
86. Srinivas A, Rao PJ, Selvam G, Goparaju A, Murthy BP, Reddy NP. Oxidative stress and inflammatory responses of rat following acute inhalation exposure to iron oxide nanoparticles. *Human & Experimental Toxicology* 31(11): 1113-31, 2012.
87. Brody AR. Whither goes the alveolar macrophage? Another small chapter is written on the localized response of this crucial cell. *J Lab Clin Med* 131(5): 391-2, 1998.
88. Naidu BV, Woolley SM, Farivar AS, Thomas R, Fraga CH, Goss CH. Early tumor necrosis factor- α release from the pulmonary macrophage in lung ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127(5): 1502-8, 2004.

89. Adar A, Can EY, Elma Y, Ferah MA, Kececi M, Muderrisoglu H. A new and simple parameter for diagnosis pulmonary edema: Expiratory air humidity. *Heart & Lung: The Journal of Cardiopulmonary and Acute Care* 52: 165-9, 2022.
90. Dong L, Wang Y, Zheng T, Pu Y, Ma Y, Qi X. Hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles attenuate allergic airway inflammation and airway remodeling in chronic asthma mice. *Stem Cell Res Ther* 12(1): 4, 2021.
91. Zou B, Fu Y, Cao C, Pan D, Wang W, Kong L. Gentiopicroside ameliorates ovalbumin-induced airway inflammation in a mouse model of allergic asthma via regulating SIRT1/NF- κ B signaling pathway. *Pulm Pharmacol Ther* 68: 102034, 2021.
92. Pääkkö P, Anttila S, Sormunen R, Ala-Kokko L, Peura R, Ferrans VJ. Biochemical and morphological characterization of carbon tetrachloride-induced lung fibrosis in rats. *Arch Toxicol* 70(9): 540-52, 1996.
93. Gunaydın M, Guzel A, Guzel A, Alacam H, Salis O, Murat N. The effect of curcumin on lung injuries in a rat model induced by aspirating gastrointestinal decontamination agents. *J Pediatr Surg*. 47(9): 1669-76, 2012.
94. Soudamini KK, Unnikrishnan MC, Soni KB, Kuttan R. Inhibition of lipid peroxidation and cholesterol levels in mice by curcumin. *Indian J Physiol Pharmacol* 36(4): 239-43, 1992.
95. Lee GH, Lee HY, Choi MK, Chung HW, Kim SW, Chae HJ. Protective effect of *Curcuma longa* L. extract on CCl₄-induced acute hepatic stress. *BMC Res Notes* 10(1): 77, 2017.
96. Koosirirat C, Linpisarn S, Changsom D, Chawansuntati K, Wipasa J. Investigation of the anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Int Immunopharmacol* 10(7): 815-8, 2010.
97. Memarzia A, Khazdair MR, Behrouz S, Gholamnezhad Z, Jafarnejhad M, Saadat S. Experimental and clinical reports on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Curcuma longa* and curcumin, an updated and comprehensive review. *Biofactors* 47(3): 311-50, 2021.

98. Abu-Rizq HA, Mansour MH, Safer AM, Afzal M. Cyto-protective and immunomodulating effect of *Curcuma longa* in Wistar rats subjected to carbon tetrachloride-induced oxidative stress. *Inflammopharmacology* 16(2): 87-95, 2008.
99. Manarin G, Anderson D, Silva JME, Coppede JDS, Roxo-Junior P, Pereira AMS. *Curcuma longa* L. ameliorates asthma control in children and adolescents: A randomized, double-blind, controlled trial. *J Ethnopharmacol.* 238: 111882, 2019.
100. Memarzia A, Saadat S, Behrouz S, Boskabady MH. *Curcuma longa* and curcumin affect respiratory and allergic disorders, experimental and clinical evidence: A comprehensive and updated review. *Biofactors* 48(3): 521-51, 2022.
101. Liu K, Chen HL, Huang H, Jing H, Dong GH, Wu HW. Curcumin attenuates cardiopulmonary bypass-induced lung oxidative damage in rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 17(4): 395-402, 2012.
102. Çakiroğlu FP, Uçar A. Consumer attitudes towards purchasing functional products. *Age* 18(25): 494, 2018.

8.EKLER

Ek 1: Türkçe Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 06/01/2022
TOPLANTI NO : 2022/01

- 1-** 04/11/2021 tarih ve 2021/09 sayılı toplantıda uygun bulunan Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Mete KEÇECİ'nin sorumluluğunda yürütülen 2021-26-04/11 Protokol no'lu "Karbon Tetraklorür Uygulanmış Sıçanlarda Kurkumin'in Testis Üzerindeki Koruyucu Etkisi" konulu çalışmada hayvanlardan alınan dokulardan sıçan akciğer dokusu ile 2022-01-06/01 Protokol no'lu "Karbon Tetraklorür Uygulanmış Sıçanlarda Kurkumin'in Akciğer Üzerindeki Koruyucu Etkisi" konulu yeni bir çalışma yapma talebinin uygunluğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Emine YILMAZ CAN /
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

9.ÖZGEÇMİŞ

2014 yılında Çorum Anadolu Öğretmen Lisesi'nden mezun oldum. 2018 yılında Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölümünde lisans eğitimimi tamamladım. 2019 yılında başladığım Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıp eğitimime devam etmekteyim. 2020 yılında Yüksek Lisans eğitimine başladığım Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmalarımı sürdürmekteyim.

