

Puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların karaciğerinde COX-1 ve COX-2'nin immunohistokimyasal lokalizasyonu*

Gökhan NUR¹, Sevda ELİŞ YILDIZ², Mümtaz NAZLI³, Mahmut SÖZMEN⁴

¹Hatay Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Hatay; ²Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulu, Kars; ³Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Burdur; ⁴Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

Özet: Çalışmamızda, puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların karaciğerinde siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin immunohistokimyasal lokalizasyonu incelendi. Çalışmada 50 günlük 30 erkek sıçan (Sprague-Dawley ırkı) kullanıldı. Sıçanlar deneme, sham ve kontrol olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Deneme grubundaki (n=10) sıçanlara subkutan yolla her gün 1 mg/kg dozda capsaicin, % 10 ethanol, % 1 tween, % 80 distile su içeren karışım bir hafta süre ile enjekte edildi. Sham grubunu (n=10) oluşturan sıçanlara da aynı deneme grubundaki sıçanlarda olduğu gibi subkutan yolla CAP yerine sadece % 10 ethanol, % 1 tween, % 80 distile su içeren karışım subkutan olarak yapıldı. Kontrol grubuna (n=10) ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Bir haftanın sonunda her üç gruptaki hayvanların vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra eter ile ötenazi edildi ve karaciğer dokuları alındı. Grupların canlı ağırlıkları karşılaştırıldı. COX-1 ve COX-2 lokalizasyonu, immunohistokimyasal yöntemle tespit edildi. Streptavidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks tekniği uygulandı. COX-1'in immunoreaktivitesi deneme, sham ve kontrol gruplarında vena sentralis ve Kiernan aralığı çevresindeki hepatositlerin sitoplazmasında gözlemlendi. Her üç grupta da immunoreaktivite birbirine benzer yoğunlukta bulundu. COX-2 ise deneme, sham ve kontrol gruplarında vena sentralisler etrafında ve Kiernan aralığına kadar olan portal alanda gözlemlendi.

Anahtar sözcükler: Capsaicin, COX-1, COX-2, immunohistokimya, karaciğer.

Immunohistochemical distribution of COX-1 and COX-2 in the liver to during the puberty period of rats applied with capsaicin

Summary: In this study, the effect of capsaicin on the immunohistochemical distribution of cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) were examined in liver of the rat at the pubertal age. Thirty rats (Sprague-Dawley) aging 50 days old were used in this study. Rats were divided into three groups; experimental, sham and control group. Experimental group (n = 10) rats, was injected 1 mg / kg doses of capsaicin (10% ethanol, 1% tween, containing 80% distilled water mixture) subcutaneously every day for a period of one week. Sham group (n = 10) rats, were subcutaneously injected with a mixture containing 10% ethanol and 1% tween within 80% distilled water. The control group made no application. A week after the last injection, rats of three groups body was weighed and euthanized with ether anesthesia and liver tissues were taken. Body weights compared within the groups. The tissue localization of COX-1 and COX-2 was analysed by immunohistochemical method. Streptavidin-biotin-peroxidase complex technique was applied. COX-1 immunoreactivity experimental, sham and control groups were observed in centralis vein and the environment Kiernan centrilobular region. Immunoreactivity was found in similar concentrations in all three groups. COX-2 is a experimental, sham and control groups were observed in centralis vein and Kiernan centrilobular region in the portal area.

Key words: Capsaicin, COX-1, COX-2, immunohistochemistry, liver.

Giriş

Capsicum annum cinsinden olan acı kırmızı biber Solanacea familyasına dâhil olan bir bitki olup etken maddesi capsaicin (CAP) olarak bilinmektedir (13,25,27). CAP organizmada başta kardiovasküler, gastrointestinal ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistemin histo-fizyolojileri üzerine etki göstermektedir (8,29). Yapılan çalışmalarda capsaicinin yağ dokuda lipid mobilizasyonunu uyardığı ve serum trigliserid seviyesini

düşürdüğünü ifade edilmiştir (9). Capsaicinin ağrı duyu-suyla doğrudan ilişkisi olduğunu açıklığa kavuşturan çalışmalar olmuştur (4,30). Siklooksijenaz (COX) enzimi, prostaglandin (PG) yapımı için anahtar rolü olan enzimdir. COX enziminin, COX-1 ve COX-2 olmak üzere 2 izoformu vardır (1,2,29). Hücre koruyucu bir enzim olan COX-1, normal mide mukozasında bulunur. COX-2 ise yangı ile ilişkili olup, epitelyal hücre, makrofajlar ve fibroblastlar gibi pek çok hücrede, tümör

* Bu çalışma 16-19 Mayıs 2012 tarihinde Denizli'de düzenlenen XI Ulusal Histoloji ve Embriyoloji kongresinde Poster bildiri (P011) olarak sunulmuştur.

promoterları ve büyüme faktörlerinin etkisi ile hızla eksprese olup ve yangısal alanlardaki patolojik PG'lerin yapımından sorumlu olan COX izoformudur (1,14,15,28). COX-1 ve COX-2 enzimleri, dokulara göre dağılımları, ekspresyonlarının regülasyonu, fizyolojik rolleri bakımından farklılık gösterirler (5,22,23,30,33). COX-1, gastrointestinal sistemin korunması, renal homeostazis, vasküler homeostazis, uterus fonksiyonları, embriyo implantasyonları ve doğum gibi işlevleri ile hücrede homeostazisin sağlanması için gerekli PG'lerin oluşumundan sorumlu olan izoenzimdir. Baskılayıcı bir role sahip COX-2, yangından sorumlu olan bir izoenzimdir. COX-2 enzimi yangıda veya iltihapta çok önemli role sahiptir (4,22,23, 31-33). COX-2, çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri veya mitojenler tarafından uyarılarak yangısal süreçte görev alan makrofajlar, monositler, sinoviyal hücreler, kondrositler, fibroblastlar ve endotel hücrelerde eksprese edilmekte ve karaciğerde metabolize olmaktadır (6,7,13).

Bu çalışmada; puberte döneminde capsaisin (CAP) uygulanan sıçanların karaciğerinde siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimlerinin lokalizasyonunun immunohistokimyasal olarak saptanması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Karar no: 08.01.2010/01) tarafından onaylanan bu çalışmada herhangi bir çalışmada kullanılmamış her grupta 10'ar adet olmak üzere 30 erkek sıçan kullanıldı. Araştırmaya gelişimsel özelliklerde ki farklılıklar sebebi ile puberte (50. gün) dönemdeki sıçanlar alındı. Sıçanlar deneme, sham ve kontrol olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Deneme grubundaki sıçanlara 1 mg/kg dozdaki capsaisin % 0,9'luk serum fizyolojik içerisinde çözündürülüp % 1 tween 20 ilave edildikten sonra subkutan olarak 0,3 cc insülin enjektörü ile 1 hafta süre ile her gün enjekte edildi. CAP oranının belirlenmesinde Tütüncü ve Özfiliz'in (2009) yaptığı çalışma (32) dikkate alındı. Sham grubundaki sıçanlara ise sadece 0.3 cc %1 tween 20 ve %0,9 serum fizyolojik içeren karışım subkutan olarak 0,3 cc insülin enjektörü ile enjekte edildi. Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Daha sonra bir hafta ara verilip bu sürenin sonunda her üç gruptaki hayvanların vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra eter anestezi ile ötenazi edilip karaciğer dokuları alındı.

Sıçanlardan alınan karaciğer dokuları COX-1 ve COX-2'nin immunoreaktivitesini belirlemek için % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra toplanan doku örnekleri dereceli alkoller, metil benzoat ve benzollerden geçirilerek parafinde bloklandı. Parafin bloklarından alınan 5 µm'lik kesitlere COX-1 ve COX-2 immunoreaktivitesini incelemek için oda sıcaklığında 1 saat süre ile nemli ortamda anti-COX-1 (Cyclooxygenase 1 antibody [5F6/F4] (ab695)) ve anti-COX-2 (Santa Cruz, (M-19): sc-1747) primer antikoru 1/200 oranında

uygulandı. Bu arada negatif kontrol grubu için dokuların üzerine sadece Phosphante buffer solution (PBS) damlatıldı. Primer antikorların inkübasyonundan sonra indirekt yöntemlerden biri olan Streptavidin-biotin peroksidaz tekniği kullanıldı (21). Kromojen uygulaması için 3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC) eklendi. Kesitlere AEC solüsyonu eklendikten sonra ışık mikroskopunda kontrol edilerek immunoreaktivitenin gelişme durumuna göre reaksiyon distile su ile durduruldu. Zıt boyama için Mayer hematoksiline kullanıldı. Alan seçiminin rastgele olmasına özen gösterilerek fotoğraflar iki araştırmacı tarafından ışık mikroskopunda çekildi ve değerlendirme semi-kantitatif olarak immunoreaktif bir skora göre immunoreaksiyon dağılımı ve yoğunluğu araştırıldı (20,35). Buna göre, hiç pozitif hücre olmadığında 0; pozitif boyalı hücrelerin oranı <1/100 ise 1; 1/100 ile 1/10 arasında ise 2; 1/10 ile 1/3 arasında ise 3; 1/3 ile 2/3 arasında ise 4; ve >2/3'den fazla ise 5 verildi. Daha sonra pozitif hücrelerin ortalama yoğunluğunu ifade eden bir skor hesaplandı. Buna göre hiç boyanma olmadığında 0 değeri alırken, zayıf immunoreaktivitede 1+, orta derecede immun reaktivite varlığında 2+ ve güçlü (artmış) boyanma varlığında 3+ olarak değerlendirildi.

İstatiksel Analiz: İstatiksel değerlendirmede SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16.0 paket programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Anlamlılık eşik değeri olarak $p < 0.005$ kullanıldı.

Bulgular

Canlı Ağırlık Bulguları: Çalışma başladıktan sonra, tüm gruplar 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 14. günde toplam 9 kez tartıldı. Tartımlar sonucunda elde edilen veriler, çalışma boyunca grup içinde istatistiksel olarak analiz edildi.

Deneme Grubunda Günlere Göre Canlı Ağırlık Karşılaştırması: CAP grubu içinde, günlere göre canlı ağırlık ortalamasında bir artış olmasına rağmen günlere göre bu artış hızı az ve istatistiki düzeyde ($p < 0,05$) anlamlı değildi (Tablo 1). CAP grubu canlı ağırlık ortalaması, 0. gün ile karşılaştırıldığında 7. günde % 9.26, 14. günde ise 7. güne kıyasla % 1.42 oranında azalarak % 9.05 oranında artış göstermişti.

Sham Grubunda Günlere Göre Canlı Ağırlık Karşılaştırması: Sham grubu içindeki sıçanlarda günlere göre canlı ağırlık ortalamasında düzenli bir artış kaydedildi. Ancak bu artış istatistiki olarak ($p < 0,05$) anlamlı değildi (Tablo 2). Sham grubu canlı ağırlığı ortalaması, 0. gün ile karşılaştırıldığında 7. günde %11,1, 14. günde ise %17,46 oranında artmıştır.

Kontrol Grubunda Günlere Göre Canlı Ağırlık Karşılaştırması: Kontrol grubundaki sıçanlar da günlere göre canlı ağırlık ortalamasında düzenli bir artış kaydedildi. Bu artış istatistiki olarak ($p < 0,05$) göre 0. ve

Tablo 1. Deneme grubu içinde günlere göre canlı ağırlık karşılaştırması

Table 1. The comparison of body weight changes in the experimental group through the study

Gün	N	Canlı ağırlık (gr)	0.güne göre yüzde artış	SD	F
0. gün	10	144,68	-	23,65	0,32
1. gün	10	149,98	3,66	25,84	
2.gün	10	150,63	4,08	26,51	
3. gün	10	150,65	4,28	23,53	
4. gün	10	151,73	4,91	22,72	
5.gün	10	154,45	6,77	23,59	
6.gün	10	156,54	8,22	23,87	
7.gün	10	158,02	9,26	24,65	
14.gün	10	157,78	9,05	26,65	

*p<0,05 (SD: Standart sapma, F: F değeri)

Tablo 2. Sham grubu içinde günlere göre canlı ağırlık karşılaştırması

Table 2. The comparison of body weight changes in the sham group through the study

Gün	N	Canlı ağırlık (gr)	0.güne göre yüzde artış	SD	F
0. gün	10	140,42	-	31,70	0,53
1. gün	10	146,56	4,41	30,47	
2.gün	10	148,16	5,55	32,37	
3. gün	10	148,69	5,98	29,20	
4. gün	10	149,89	6,84	30,12	
5.gün	10	153,54	9,40	31,86	
6.gün	10	155,52	10,76	30,81	
7.gün	10	156,13	11,10	29,23	
14.gün	10	164,87	17,46	27,34	

*p<0,05 (SD: Standart sapma, F: F değeri)

Tablo 3. Kontrol grubu içinde günlere göre canlı ağırlık karşılaştırması

Table 3. The comparison of body weight changes in the control group through the study

Gün	N	Canlı ağırlık (gr)	0.güne göre yüzde artış	SD	F
0. gün	10	159,27*	-	22,69	2,55
1. gün	10	163,76	2,82	23,87	
2.gün	10	165,50	3,95	24,40	
3. gün	10	166,78	4,71	24,03	
4. gün	10	170,15	6,84	23,81	
5.gün	10	175,15	9,92	24,21	
6.gün	10	177,73	11,62	23,76	
7.gün	10	181,03	13,69	25,21	
14.gün	10	200,10*	26,06	26,45	

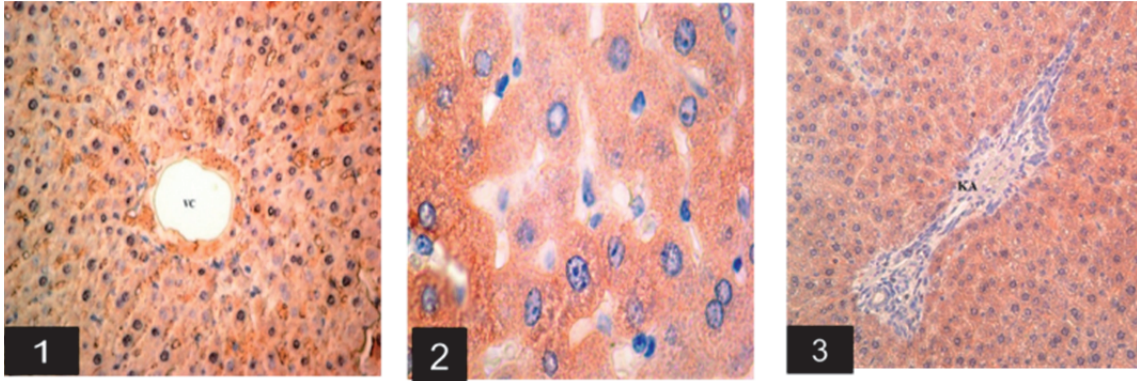
p<0,05 (SD: Standart sapma, F: F değeri)

14. günler arasında anlamlı bir fark oluşturmamakta idi (Tablo 3). Kontrol grubundaki canlı ağırlığı ortalaması, 0. gün ile karşılaştırıldığında 7. günde %13.69, 14. günde ise %25.60 oranında artmıştı.

Üç grubun da 14. gün canlı ağırlık ortalamaları 0. gün ile karşılaştırıldığında CAP grubu % 9.05, sham grubu % 17.46 ve kontrol grubu % 25.60 oranında artmıştır.

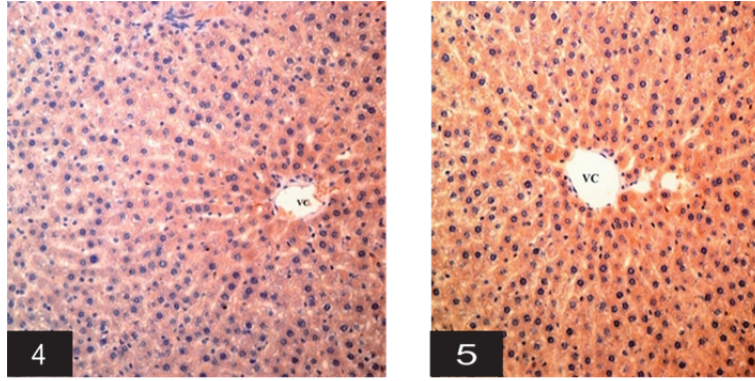
Immunohistokimyasal Bulgular: COX-1 ekspresyonu kontrol, sham ve CAP gruplarına ait karaciğer preparatlarında değerlendirildi (Şekil 1,2,3,4,5). COX-1, tüm CAP, sham ve kontrol gruplarında vena sentralisler etrafında ve Kiernan aralığını çevreleyen hepatositlerde sitoplazmik tarzda olduğu tespit edildi. Her üç gruptaki

immunoreaktivite birbirleri ile karşılaştırıldığında benzer yoğunlukta olduğu görüldü. COX-2 ekspresyonu CAP, sham ve kontrol gruplarına ait karaciğer preparatlarında değerlendirildi (Şekil 6,7,8). COX-2, deneme grubunda vena sentralisler etrafında ve Kiernan aralığına kadar olan portal alanda homojen ve sitoplazmik bir tarzda görüldü. Kontrol grubunda ise, vena sentralis bölgesi daha az immunoreaktivite gösterirken, perilobüler bölgenin Kiernan aralığına bitişik dış bölgesinde ise daha yoğun bir immunoreaktivite gözlemlendi. Sadece sekonder antikorun uygulandığı negatif kontrol preparatlarında hiçbir boyanma görülmedi.



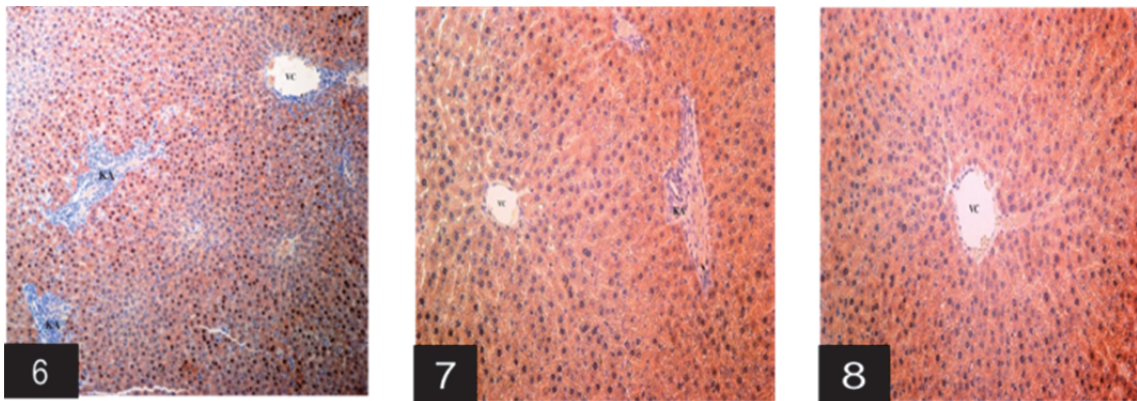
Şekil 1. CAP grubu. Sıçan karaciğer dokusunda COX-1 pozitif reaksiyon. Hepotositlerde yaygın sitoplazmik immunoreaktivite. VC: vena sentralis, Bar: 100µm. ; Şekil 2. CAP grubu sıçan karaciğer hepatosit sitoplazmasında COX-1 immunoreaktivitesi. Bar: 20µm. ; Şekil 3. CAP grubu karaciğer dokusunda COX-1 immunoreaktivitesi. Perilobüler bölgede immunoreaktivite. KA:Kiernan aralığı. Bar: 100µm.

Figure 1. CAP group. COX-1 positive reaction in rat liver. Diffuse COX-1 immunoreactivity in the cytoplasm of hepatocytes. VC: central vein. Bar: 100µm. ; Figure 2. CAP group. COX-1 immunoreactivity in the cytoplasm of hepatocytes in rat liver. ; Figure 3. CAP group, COX-1 immunoreactivity in liver tissue. Perilobüler immunoreactivity in the region. KA: Kiernan centrlobuler region. Bar: 100µm.



Şekil 4. Kontrol grubu. Sıçan karaciğer dokusunda COX-1 pozitif reaksiyon. Hepotositlerde yaygın sitoplazmik immunoreaktivite. VC: vena sentralis, Bar: 100µm.; Şekil 5. Sham grubu. Sıçan karaciğer dokusunda COX-1 pozitif reaksiyon. Hepotositlerde yaygın sitoplazmik immunoreaktivite. VC: vena sentralis, Bar: 100µm.

Figure 4. Control group. COX-1 positive reaction in rat liver. Diffuse COX-1 immunoreactivity in the cytoplasm of hepatocytes. VC: central vein. Bar: 100µm.; Figure 5. CAP group. COX-1 positive reaction in rat liver. Diffuse COX-1 immunoreactivity in the cytoplasm of hepatocytes. VC: central vein. Bar: 100µm.



Şekil 6. CAP grubu. Karaciğer dokusunda COX-2 immunoreaktivitesi. Vena sentralis ve Kiernan aralığı çevresi hepatosit sitoplazmalarında immunoreaktivite. VC: Vena sentralis, KA: Kiernan aralığı. Bar: 100µm; Şekil 7. Kontrol grubu. Karaciğer dokusunda COX-2 immunoreaktivitesi. Vena sentralis ve Kiernan aralığı çevresi hepatosit sitoplazmalarında immunoreaktivite. VC: Vena sentralis, KA: Kiernan aralığı. Bar: 100µm.; Şekil 8. Sham grubu. Vena sentralis ve Kiernan aralığı çevresi hepatosit sitoplazmalarında immunoreaktivite. VC: Vena sentralis. Bar: 100µm.

Figure 6. CAP group. COX-2 immunoreactivity in the liver tissue. Centralis vein and the environment Kiernan centrlobuler region hepatocyte cytoplasm immunoreactivity. VC: Central vein, KA Kiernan centrlobuler region. Bar: 100µm.; Figure 7. Control Group. COX-2 immunoreactivity in the liver tissue. Centralis vein and the environment Kiernan centrlobuler region hepatocyte cytoplasm immunoreactivity. VC: Central vein, KA Kiernan centrlobuler region. Bar: 100µm. Figure 8. Sham group. COX-2 immunoreactivity in the liver tissue. Centralis vein and the environment Kiernan centrlobuler region hepatocyte cytoplasm immunoreactivity. VC: Central vein. Bar: 100µm.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada capsaisin uygulanan sıçanların karaciğerlerinde COX-1 ve COX-2 nin immunohistokimyasal lokalizasyonu ve canlıların ağırlık değişimleri araştırıldı.

Srinivasan ve Satyanarayana (24), yedi hafta boyunca fare yemlerine % 2 CAP ilave ederek hayvanları beslemişlerdir. Uygulamanın ilk dört haftasında hayvanlarda kilo artışı görülürken, beşinci haftadan itibaren kilolarında bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Sambaiah ve Satyanarayana (19) ile Oh ve Ohta (17), sıçanlarla yaptıkları çalışmalar, CAP'ın non-steroid yağ asitlerini mobilize ettiğini ve bu suretle ana enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağladığını tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada kullandığımız CAP'a bağlı olarak diğer çalışmalardaki (18,19,24) bulgulara paralel olarak deney gruplarında yem alımında artış ve bu artışın aksine canlı ağırlık kazancında yavaşlama gözlenmiştir. Kawada ve ark. (9,10) capsaisin kullandıkları çalışmalarda kullanılan maddeye bağlı olarak adrenal medulladan kateşolaminlerin salınması ve bunların santral sinir sistemini uyarması sonucunda enerji ve lipid metabolizmasının arttırılması yoluyla sıçanlarda obezitenin azaltıldığını belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz bulgular, capsaisin'in canlı ağırlık kazancını olumsuz yönde etkilediğini tespit eden araştırmacıların (9,10,15-17,19,24) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Özellikle CAP grubundaki artışın, sham ve kontrol grubuna göre az olması capsaisin'in canlı ağırlık artış hızında yavaşlamaya yol açtığı ve bu etkisini capsaisin'in daha önce bilim adamlarınca yapılan çalışmalardan elde edilen karbonhidrat metabolizmasının ve karaciğer enzimlerinin aktivitesinin artması, lipid metabolizmasını uyarak yağ dokudan lipidin mobilizasyonunu sağlaması, karın içi yağlanmayı azaltması (9,10) ve oksijen kullanımını arttırması (15,16) etkilerinden kaynaklanabileceği kanısındayız.

COX enzimi, COX-1 ve COX-2 olmak üzere ikiye ayrılır. COX-1 ve COX-2 benzer protein yapısına sahiptir (%60 homoloji gösterir) ve aynı reaksiyonu katalizler. COX-1 ve COX-2 farklı cins PG'lerin sentezinden sorumludur. Aynı zamanda COX-1 birçok dokuda bulunan, normal vücut fizyolojisinde sürekli sentezlenen bir enzimdir. COX-2 enzimi ise baskılayıcı bir role sahiptir. Hücrelerde normal şartlarda bulunmaz. Ancak çeşitli uyarıcılar tarafından uyarıldığı zaman etkinliği önemli ölçüde arttırılabilir. COX-2 enzimi yangı sürecinde çok önemli role sahiptir ve inflamasyon cevabında rol oynayan PG'lerin üretiminde rol alır (1,5,12,22,23,27,30,33).

Cao ve ark. (3), alkol sonucu olmayan karaciğer yağlanmasında COX-2'nin ekspresyonuna baktıkları çalışmalarında, Disse aralığı, portal bölge matriksi, hepatosit sitoplazması, vena sentralis çevresi ve Kuffer hücrelerinde zayıf bir immunoreaktivite tespit etmişlerdir. Keller ve ark. (11), travma ve sepsis yoluyla oluşturdukları strese sonra Kuffer hücrelerinde COX-2'nin

ekspresyonunun kontrol gruplarına göre azaldığını belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada, kalın barsak adenokarsinomları ve karsinomlarında COX-2 immuno-reaktivitesi sitoplazma membranlarında tespit edildi. Adenomların çoğunda tümör çevresi sağlam mukozada apikal ve zayıf sitoplazmik boyanma, tümör hücrelerinde ise yaygın ve şiddetli sitoplazmik ve membranöz boyanma olduğu belirtilmiştir (26). Yar (2008)'ın yaptığı çalışmada (34), diyabetli sıçanlarda resveratrol kullanımı sonucunda hem diyabetik hem de resveratrol+diyabetik grupta COX-1'in ekspresyonunun baskılandığı belirtilmiştir. Aynı gruplar için COX-2 protein ekspresyonunda ise herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda COX-1, tüm CAP, sham ve kontrol gruplarında sentrilobüler bölge ve Kiernan çevresindeki hepatositlerde immunoreaktivite göstermiştir. COX-2, deneme grubunda sentrilobüler bölgede ve Kiernan aralığına kadar olan portal alanda immunoreaktivite göstermiştir. CAP grubunda vena sentralis'den Kiernan aralığına kadar portal alanda homojen ve sitoplazmik bir boyanma görüldü. COX-1 ekspresyonunun her üç grupta da aynı yoğunlukta bulunması, capsaisin'in COX-1 in protein bazında ekspresyonuna etki etmediğini göstermektedir. COX-2 ekspresyonunda sentrilobüler bölgede kontrol grubuna kıyasla sitoplazmik reaksiyonun daha belirgin olması, capsaisin'in bu bölgedeki hepatositler de ekspresyona neden olduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile organizmada başta gastrointestinal, kardiovasküler ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistemi etkileyen capsaisin'in karaciğer dokusunda metabolize olan COX-1 ve COX-2 üzerine ne kadar etkili olup olmadığı değerlendirilmiş ve bu konuda yapılabilecek daha ileri düzeydeki çalışmalara yardımcı olacağı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Bhandari P, Bateman AC, Mehta RL, Patel P** (2005): *Mucosal expression of cyclooxygenase isoforms 1 and 2 is increased with worsening damage to the gastric mucosa. Histopathology*, **46**: 280-6.
2. **Birnbaum Y, Ye Y, Rosanio S, Tavackoli S, Hu ZY, Schwarz ER, Uretsky BF** (2005): *Prostaglandins mediate the cardioprotective effects of atorvastatin against ischemia-reperfusion injury. Cardiovasc. Res.*, **65**: 345-55.
3. **Cao M, Dong L, Lu X, Luo J** (2008): *Expression of cyclooxygenase-2 and its pathogenic effects in nonalcoholic fatty liver disease. Journal of Nanjing Medical University (JNMU)*, **22**: 111-116.
4. **Caterina MJ, Julius D** (2001): *The vanilloid Receptor: A Molecular Gateway to the pain pathway. Annual Review of Neuroscience*, **24**: 487-517.
5. **Dubois RN, Abramson SB, Crofford L** (1998): *Cyclooxygenase in biology and disease. The FASEB Journal*, **12**: 1063-73.
6. **Heitmeier MR, Kelly CB, Ensor NJ, Gibson KA** (2004): *Role of cyclooxygenase-2 in cytokine-induced β -cell*

- dysfunction and damage by isolated rat and human islets. JBC Papers in Press, **279**: 53145-53151.
7. **Inoue H, Tanabe T, Umesono K** (2000): *Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma*. J. Biol. Chem., **275**: 28028-32.
 8. **Jancso G, Such G** (1983): *Effects of capsaicin applied perineurally to the vagus nerve on cardiovascular and respiratory functions in the cat*. The Journal of Physiology, **341**: 359-370.
 9. **Kawada T, Hagihara K, Iwai K** (1986): *Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed high fat diet*. J Nutr., **116**, 1272-1278.
 10. **Kawada T, Sakabe S, Watanabe T, Yamamoto M, Iwai K** (1988): *Some pungent principles of spices cause the adrenal medulla to secrete catecholamine in anesthetized rats*. Proc Soc Exp Biol Med., **188**, 229-233.
 11. **Keller SA, Paxian M, Lee SM, Clemens MG, Huynh T** (2005): *Kupffer cell ablation attenuates cyclooxygenase-2 Expression after Trauma and Sepsis*. Journal of Surgical Research, **124**, 126-133.
 12. **Kress M, Gutimann C, Averbek B, Reeh PW** (1999): *Calcitonin gene related peptid and prostaglandin E2 but not substance P release induced by antidromic nerve stimulation from rat skin in vitro*. Neuroscience, **89**: 303-10.
 13. **Lembeck F** (1987): *Columbus, capsicum and capsaicin: Past, present and future*. Acta Physiology of Hungary, **69**: 265-73.
 14. **Liang YC, Huang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK** (1999): *Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages*. Carcinogenesis, **20**: 1945-52.
 15. **Meinyk A, Himms-Hagen J** (1995): *Resistance to aging-associated obesity in capsaicin-desensitized rats one year after treatment*. Obesity Research, **3**: 337-44.
 16. **Monserenusorn Y** (1983): *Subchronic toxicity studies of capsaicin and capsicum in rats*. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, **41**: 95-110.
 17. **Oh W, Ohta F** (2003): *Dose-dependent effect of capsaicin on endurance capacity in rats*. British Journal of Nutrition, **90**, 515-20.
 18. **Park ES, Jo S, Yi SJ, Kim JS, Lee HS, Lee IS, Seo KM, Sung JK, Lee I, Yoon YS** (2004): *Effect of capsaicin on cholecystokinin and neuropeptide Y expressions in the brain of high-fat diet fed rats*. Journal of Veterinary Medical Science, **66**: 107-114.
 19. **Sambaiah K, Satyanarayana MN** (1982): *Influence of red pepper and capsaicin on body composition and lipogenesis in rats*. Journal of Bioscience, **4**: 425-430.
 20. **Seidal T, Balaton AJ, Battifora H** (2001): *Interpretation and quantification of immunostains*. Am J Surg Pathol, **25**: 1204-1207.
 21. **Shu S, G Ju, L Fan** (1988): *The glucose oxidase-dab-nickel in peroxidase histochemistry of the nervous system*. Neuroscience Lett, **85**: 169-171.
 22. **Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM** (2000): *Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology*. Annu. Rev. Biochem., **69**: 145-182.
 23. **Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL** (1996): *Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-2*. The Journal of Biological Chemistry, **271**: 33157-33160.
 24. **Srinivasan MR, Satyanarayana MN** (1987): *Influence of capsaicin, curcumin and ferulic acid in rats fed high fat diets*. Journal of Bioscience, **12**: 143-152.
 25. **Szallasi A, Blumberg P.M** (1999): *Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms*. Pharmacological Reviews, **51**: 159-211.
 26. **Şahin AF** (2008): *Kalın Barsak Adenokarsinomları ile adenomlarında COX-2, Beta-cetinin ve p53 İmmunoreaktivitelerinin Değerlendirilmesi*. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji A.D., Uzmanlık Tezi, Düzce.
 27. **Takahata K, Chen X, Monobe K, Tada M** (1999): *Growth inhibition of capsaicin on hela cells is not mediated by intracellular calcium mobilization*. Life Sciences, **64**: 165, 71.
 28. **Takeeda M, Hayashi Y, Yamato M, Murakami M, Takeuchi K** (2004): *Roles of endogenous prostaglandins and cyclooxygenase isoenzymes in mucosal defense of inflamed rat stomach*. J. Physiol. Pharmacol., **55**: 193-205.
 29. **Teng CH, Kang JY, Wee A, Lee KO** (1998): *Protective action of capsaicin and chilli on haemorrhagic shock-induced gastric mucosal injury in the rat*. Journal of Gastroenterology and Hepatology, **13**: 1007-1014.
 30. **Tominaga M, Julius D** (2000): *Capsaicin receptor in the pain Pathway*. The Japanese Journal of Pharmacology, **83**: 20-24.
 31. **Turini ME, Dubois RN** (2002): *Cyclooxygenase-2: A Therapeutic Target*. Annu. Rev. Med., **53**: 35-57.
 32. **Tütüncü Ş, Özfiliz N** (2009): *Gelişme Sürecinde Capsaicin Uygulanmış Sıçan Ovaryumlarında Vanilloid Reseptör 1'in İmmunohistokimyasal Ekspresyonu*. Uludağ Üniversitesi Doktora Tezi, Bursa.
 33. **Vane JR, Bakhle YS, Botting RM** (1998): *Cyclooxygenase*. Pharmacol. Toxicol., **38**: 97-120.
 34. **Yar AS** (2008): *Streptozotocin ile oluşturulmuş diyabetli sıçanlarda resveratrol kullanımı sonucunda siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) genlerinin ekspresyonlarının araştırılması*. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D., Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
 35. **Zhu QY** (1989): *Analysis of blood vessel invasion by cells of thyroid follicular carcinoma using image processing combined with immunohistochemistry*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, **69**: 573-575.

Geliş tarihi: 22.11.2013/ Kabul tarihi: 12.06.2014

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Sevda Eliş Yıldız
Kafkas Üniversitesi
Sağlık Yüksekokulu
Kars
e-mail: sevdaelis36@hotmail.com