



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KARACİĞER SİROZUNDA NİGELLA
SATİVA’NIN (ÇÖREK OTU) ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Edibe SARIÇİÇEK
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**

Ekim 2009

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KARACİĞER SİROZUNDA
NİGELLA SATİVA’NIN (ÇÖREK OTU) ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Edibe SARIÇİÇEK
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimiz süresi içerisinde her zaman teorik ve pratik bilgi ve deneyimlerini aktararak yetişmeye katkıda bulunan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na, engin bilgi birikimi ve titiz çalışma prensipleriyle bana örnek olan Sayın Doç. Dr. Binnur ERBAĞCI'ya, Uzmanlık eğitimim süresi içerisinde her zaman teorik ve pratik bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Seyithan TAYSI'ya ve Uzmanlık eğitimimiz süresi içerisinde yakın destek ve ilgilerini esirgemeyen sevgili hocalarım Sayın Doç. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENÇİ, Yrd. Doç. Dr. Nur AKSOY ve Yrd. Doç. Dr. Hülya ÇİÇEK'e ve Uzmanlık eğitimimiz süresi içerisinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Cahit BAĞCI'ya, Doç. Dr. Metin KARAKÖK'e, Dr. Emine NAMIDURU'ya, Dr. Nurgül YILMAZ'a, Dr. Yasemin BALTACI'ya ve asistanlık süresi boyunca ve tez çalışmaları esnasında destek ve sabırlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım ve sevgili eşim Vahap SARIÇİÇEK'e

İçten teşekkürlerimi sunuyorum

Dr. Edibe SARIÇİÇEK

III. ÖZET

DENEYSEL KARACİĞER SİROZUNDA NİGELLA SATİVA’NIN (ÇÖREK OTU) ETKİSİ

Dr. Edibe Sarıççek

Uzmanlık Tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

Ekim 2009, 86 sayfa

Çörek otu tohumu bronkodilatatör, antibakteriyel, antihipertansif, antidiyabetik, gastroprotektif, antihistaminik, neuroprotektif, antioksidatif ve hepatoprotektif etkiler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Bu çalışmada, dimetilnitrozamin ile sıçanlarda oluşturulan karaciğer fibrozisine, eş zamanlı olarak verilen çörek otu tohumu, yağı ve uçucu bileşenlerinden biri olan timokinonun etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışma grubu kontrol, timokinon, çörek otu tohumu, dimetilnitrozamin ve çörek otu yağı olarak 5 alt gruptan oluşturuldu. Çalışma sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı. Alınan kan ve doku örneklerinden malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve rutin biyokimyasal parametreler çalışıldı. Karaciğer dokusu histopatolojik olarak değerlendirildi. Timokinon çörek otu tohumu ve yağı verilen gruplardaki sıçanların histopatolojik bulgularında normal karaciğer dokusu ve bazı portal alanlarda kısa fibröz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme saptanırken, dimetilnitrozamin grubundaki sıçanların karaciğerlerinde inkomplet sirozun olduğu tespit edildi.

Eritrosit ve doku MDA düzeyleri dimetilnitrozamin grubunda, çörek otu yağı, tohumu ve timokinon verilen altgruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek, SOD ve GSH-Px düzeylerinin ise düşük olduğu tespit edildi. Serum AST, ALT, GGT, ALP, TBİL, DBİL düzeyleri de dimetilnitrozamin grubunda, çörek otu yağı, tohumu ve timokinon verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, TP, ALB düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu bulundu.

Sonuç olarak; çörek otu tohumu ve bileşenlerinin oluşmuş fibrozisi histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle geriletği anlaşılmıştır. Karaciğer sirozunun tedavisinde destekleyici olarak kullanılabilmesi için toksikolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Fibrozis, Siroz, Çörek otu tohumu, Çörek otu yağı, Timokinon

IV. ABSTRACT
EFFECT OF NIGELLA SATIVA (BLACK CUMIN)
EXPERIMENTAL LIVER CIRRHOSIS

Dr. Edibe Sariçiçek

Residency Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

October 2009, 86 Pages

Black cumin seed has some biological activities like bronchodilator, antibacterial, antihypertensive, antidiabetic, gastroprotective, antihistaminic, neuroprotective, antioxidative and hepatoprotective effects. In this study, we aimed to explore the effects of black cumin seed, oil and thymoquinone, one of the components of black cumin, given simultaneously to liver fibrosis formed in rats by dimethylnitrosamine.

Working group consists five subgroups: control, thymoquinone, black cumin seed, dimethylnitrosamine (DMN) and black cumin oil. At the end of the study, the animals were sacrificed and blood and tissue samples were taken. Malondialdehyd (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and routine biochemical workups were studied on these samples. Liver tissue was assessed histopathologically. As a result, DMN is a hepatotoxic agent forming marked fibrosis. Liver tissue was assessed histopathologically. As normal liver tissue and short fibrosis, fibrous growth with septum or without septum in hystopathologic findings and in some portal areas, respectively, were detected in rats that had TQ, black cumin seed and oil; it was detected that incomplete cirrhosis was formed in livers of rats in DMN group.

That erythrocyte and tissue MDA levels were high statistically and SOD and GSH-Px levels were low were found when DMN group was compared to subgroups that had black cumin oil, seed and thymoquinone. Also serum AST, ALT, GGT, ALP, TBIL, DBIL levels in dimethylnitrosamine group were significantly high statistically, when compared to the groups given black cumin oil, seed and thymoquinone. TP, ALB levels were significantly low statistically.

As a result, it was understood that black cumin seed and its components downgraded existing fibrosis by biochemical and histopatological parameters. In order to be used in treatment of liver cirrhosis as a supportive element, toxicologic studies need to be carried on.

Keywords: Liver, Fibrosis, Cirrhosis, Black cumin seed, Black cumin oil, Thymoquinone

V. KISALTMALAR

ALT	Alanin aminotransferaz
ALP	Alkalen fosfataz
AST	Aspartat aminotransferaz
BHT	Butilhidroksitoluen
CAT	Katalaz
DBİL	Direkt bilirubin
DMN	Dimetilnitrozamin
EcSOD	Ekstrasellüler süperoksit dismutaz
ESM	Ekstraselüler matriks
GGT	Gama- glutamil transpeptidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
GSSG	Okside glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSH	Redükte glutasyon
HSH	Hepatik stellat hücreleri
LOOH	Lipid hidroperoksit
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MMPs	Metalloproteinaz
MnSOD	Mangan bağımlı süperoksit dismutaz
NBT	Nitro blue tetrazolium
NF- κB	Nukleer faktör-kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PDGF	Platelet derived growth factor
PUFA	Poliansature yağ asidi
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOR	Serbest oksijen radikali
TAK	Total antioksidan kapasite
TBİL	Total bilirubin

TBA	Tiobarbütirik asit
TCA	Triklor asetik asit
TIMPs	Tissue inhibitors of metalloproteinases
TGFβ	Transforming growth faktor β
TNF- α	Tümör nekrozis faktör α
TP	Total protein
TQ	Timokinon

VI. TABLOLAR

	Sayfa No
Tablo 1. Oksijen ve nitrik oksitten oluşan reaktif türler	12
Tablo 2. Modifiye edilmiş Knodell skorlaması	38
Tablo 3. SOD çalışma şeması	42
Tablo 4. Eritrosit MDA çalışma şeması	43
Tablo 5. Doku MDA deney çalışma şeması	44
Tablo 6. Glutasyon peroksidaz çalışma şeması	45
Tablo 7. Gruplar fibrozis ortalamaları	51
Tablo 8. Tüm grupların biyokimyasal değerleri	59
Tablo 9. Grupların oksidan ve antioksidan düzeyleri	64

VII. ŞEKİLLER VE GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Serbest radikal aracılı oksidatif hasarı	14
Şekil 2: Gruplarının fibrozis skorları	51
Şekil 3: Gruplarının serum total protein düzeyleri	52
Şekil 4: Gruplarının serum albumin düzeyleri	53
Şekil 5: Gruplarının serum globulin düzeyleri	53
Şekil 6: Gruplarının serum total bilirubin düzeyleri	54
Şekil 7: Gruplarının serum direkt bilirubin düzeyleri	55
Şekil 8: Grupların serum AST düzeyleri	56
Şekil 9: Gruplarının serum ALT düzeyleri	56
Şekil 10: Gruplarının serum ALP düzeyleri	57
Şekil 11: Gruplarının serum GGT düzeyleri	58
Şekil 12: Grupların eritrosit MDA düzeyleri	60
Şekil 13: Grupların eritrosit SOD düzeyleri	61
Şekil 14: Grupların karaciğer dokusu MDA düzeyleri	61
Şekil 15: Grupların karaciğer dokusu SOD düzeyleri	62
Şekil 16: Grupların eritrosit GSH-Px düzeyleri	63
Şekil 17: Grupların karaciğer dokusu GSH-Px düzeyleri	63
 Grafik 1: Doku protein düzeyinin saptanmasında kullanılan standart eğri grafiği	 40

VIII. RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1: Çörek otu tohumu	28
Resim 2: Knodel skorlamasına göre 0 olan karaciğer (X 400)	47
Resim 3: Knodel skorlamasına göre 0 olan karaciğer (X 400)	48
Resim 4: Knodel skorlamasına göre 1 olan karaciğer (X 400)	48
Resim 5: Knodel skorlamasına göre 4 olan karaciğer (X 200)	49
Resim 6: Knodel skorlamasına göre 5 olan karaciğer (X 100)	49

1. GİRİŞ

1.1 GİRİŞ VE AMAÇ:

Karaciğer sirozu her yaşta görülen ciddi bir hastalıktır ve karaciğer fibrozisinden kaynaklanır. Karaciğer fibrozisi karaciğer yıldız hücre (HSH) aktivasyonu ile karakterize edilen ekstrasellüler matriks (ECM) bileşenlerinin aşırı üretimi anlamına gelir (1). İlerleyici fibrozis siroza yol açarken, başlangıç dönemindeki fibrozisin reversibl olduğu iddia edilmiştir. Erken dönem sirozun da reversibl olabileceği yönünde ciddi deliller bulunmakla birlikte fibrozisin hangi döneminde reversibl hangi döneminde irreversibl olduğu konusu henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır (2). Bu sebeple karaciğer fibrozisinin önlenmesi çok önemlidir. HSH' i inhibe ederek fibrozisin gerilemesini sağlayan çeşitli tedavi yöntemleri vardır, bunlar arasında; TGF β inhibisyonu, endotelin aktivitesinin inhibisyonu ve fumagillin analogu sayılabilir. HSH'yi inhibe eden kolşisin, silymarin ve sho-saiko-to gibi doğal antifibrotikler de vardır (3).

Çörek otu (*Nigella sativa*) halk arasında yaygın olarak kullanılan bir bitki türü olup, yapılan çalışmalarda çörek otu tohumunun bronkodilatatör, antibakteriyel, antihipertansif, antidiyabetik, gastroprotektif, antihistaminik, antioksidatif, neuroprotektif ve hepatoprotektif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (4). Timokinon çörek otunun en önemli aktif bileşiklerindendir. Yapılan birçok deneysel çalışmada timokinon karbontetraklorür, tert-butil hidroperoksit gibi hepatotoksik ajanlarla indüklenen karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif ve güçlü bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır (5).

Yapılan çalışmalarda lipit peroksidasyonun karaciğer hasarının patogenezinde en önemli mekanizma olarak vurgulanmaktadır (6). Çörek otu tohumunun, yağının ve timokinonun lipit peroksidasyonunda ve eikozanoid oluşumunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (7).

Literatürde çörek otu tohumunun ve bileşenlerinin çeşitli etkilerini ortaya koyan birçok deneysel çalışma yapılmasına rağmen çörek otu tohumunun, yağının ve timokinonun DMN ile indüklenmiş hepatotoksisiteye etkilerini KARŞILAŞTIRMALI olarak inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada sıçanlarda DMN ile oluşturulmuş karaciğer fibrozisine karşı çörek otunun önemli bileşenlerinden biri olan timokinon, çörek otu tohumu ve yağının etkilerini saptamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin özellikleri

2.1.1. Makroskopik anatomi

Karaciğer, vücudun en büyük organıdır. Ağırlığı 1200 –1500 gr civarındadır. Diyafragmanın altında, karnın sağ üst çevresinde bulunmakta ve kaburga kemikleri tarafından korunmaktadır. Sağ ve sol olmak üzere iki anatomik loba ayrılmıştır. Arka yüzde "kaudat lob", sağ alt yüzde de "kuadrat lob"denilen iki küçük lob daha mevcuttur (8). Karaciğer, hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilumda, organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar (9). Karaciğer, dakikada yaklaşık 1.5 L kan alır. Karaciğer gelen toplam kanın %75'i portal venden gelir, geri kalan az bir bölümü hepatik arterle sağlanır (10).

2.1.2. Mikroskopik anatomi

Işık mikroskopi kesitlerinde karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilir. Karaciğer lobülü 0.7x2 mm boyutunda poligonal bir doku kitlesidir. Lopçuklar (hepatik lobül) çoğu bölümlerinde birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırlarını belirlemek oldukça güçtür. Lopçuklar, portal alanlar adı verilen safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ dokusu ile sınırlanmıştır (9). Karaciğerde beş tür hücre bulunmaktadır: Hepatositler, kupffer, endotel hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitelyum hücreleridir (11).

2.1.3. Hepatositler

Karaciğerin çok farklı özellikleri olan hücresidir. Bu hücreler hem iç hem de dış salgılama işlevlidir; bazı maddelerin sentezini yapar ve biriktirir, bazılarını detoksifiye eder. Hepatositler bol miktarda endoplazmik retikulumu sahiptir. Kaba endoplazmik retikulumda albumin, fibronojen gibi protein sentezi yapılır. Düz endoplazmik retikulumda çeşitli işlevler gerçekleştirilir. Bu organel, çeşitli maddelerin vücuttan

atılmadan önce etkisizleştirilmesi ya da zehirlenmeyi önlemek için gerekli oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon işlemlerinden sorumludur (9).

2.1.4. Kupffer hücreleri

Kupffer hücreleri perisinüsoidal alanda yer alan lokal makrofajlardır (12). Başlıca fonksiyonları yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek, immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamak ve kalın bağırsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmaktır (9). Ayrıca antijen sunan hücre olarak da görev yapmakta ve hücrel immunitiyi aktive etmektedir (11).

2.1.5. Endotel hücreleri

Karaciğer oldukça vasküler bir organ olduğundan endotel hücrelerinden zengindir ve endotel hücrelerinden ve barsaklardan gelen makromoleküllerin hepatosit geçişine imkân sağlarlar (11).

2.1.6. Safra kanalı epitelyum hücreleri

Safra kanalları başlangıçlarını iki hepatosit arasındaki safra kanalcığından almakta ve gitgide birleşerek büyük safra kanallarını oluşturmaktadırlar. Ana safra kanalını teşkil ederek duodenumun ikinci kısmında sonlanmaktadır. Hepatositler tarafından çevrili olan safra kanalcıklarını, safra kanalı epitelyum hücreleri ile çevrili kanallara birleştiren yapılara Herring kanalı denilmektedir ve bu bölgede hepatosit kök hücrelerine ev sahipliği yaptığı için stratejik bir öneme sahiptir (11).

2.1.7. Stellat hücreleri

HSH'i esas olarak hepatositlerle sinusoidal endotelial hücreler arasındaki bağlantıyı sağlayan matrikse gömülü perisinüsoidal disse aralığında yerleşiktir. Böyle perisitik benzeri hücreler; sitokin sekresyonu, retinoid metabolizması ve kan akımı düzenlenmesi gibi fonksiyonlar gösterirler (12).

2.1.8. Karaciğer fizyolojisi

Karaciğerin pek çok farklı fonksiyonları vardır. Bunlar; kanın filtrasyonu ve depolanması, karbonhidratların, proteinlerin, yağların, hormonların ve yabancı maddelerin metabolize edilmesi, safranin oluşumu, vitaminlerin, demirin depolanması ve pıhtılaşma faktörlerinin yapımıdır.

2.1.9. Karaciğerin metabolik fonksiyonları

Karbonhidrat metabolizmasında karaciğer şu özgün fonksiyonları yürütür: Büyük miktarlarda glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glukoza çevirme, glikoneojenez, karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddelerin oluşturulmasıdır.

Karaciğerin yağ metabolizmasındaki fonksiyonları şunlardır: Diğer vücut fonksiyonları için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu, büyük miktarda kolesterol, fosfolipid ve lipoprotein sentezi, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi yapımıdır.

Protein metabolizmasında karaciğerin fonksiyonları ise şunlardır: Aminoasitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, plazma proteinlerinin oluşumu, vücuttaki metabolik olaylar için önemli aminoasitlerin ve öteki maddelerin birbirine dönüşümleridir.

Karaciğer ayrıca vitaminlerin depo edilmesi, demirin ferritin şeklinde depolanması, çeşitli pıhtılaşma faktörlerinin yapımı, ilaçların, hormonların ve diğer maddelerin uzaklaştırılması gibi çeşitli fonksiyonları da yerine getirir (13).

2.2. Karaciğer fibrozisi ve oksidatif stres

Oksidatif stres genelde ROT (reaktif oksijen türleri) üretimi ile ROT'nin temizlenmesi arasındaki dengeyi ve buna bağlı olarak hasarlanan makromoleküllerin ve membranların tamir düzeyini yansıtır (14). Oksidan-antioksidan sistemler dengesindeki herhangi bir bozukluk birçok patofizyolojik durumun (nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, kanser, immun hastalıklar gibi) ortaya çıkmasına neden olmaktadır (15). ROT olarak bilinen oksidanlar birçok hücrel makromolekül ile reaksiyona girebilme özelliklerinden dolayı biyolojik membranların parçalanmasına ve hatta hücre ölümüne neden olabilirler (16). Siroza ilerleyen birçok kronik karaciğer hastalığında ve şiddetli karaciğer hasarında karaciğer fibrozisi meydana gelir (17). Karaciğer fibrozisi reversibl iken, fibrozisin en son ilerlemiş şekli olan siroz ise irreversibldır. Bu nedenle fibrozisi anlama çabaları primer olarak erken birikime neden olan olaylara ve bunun ilerlemesine yavaşlatacak terapötik ajanları belirleme umuduna odaklanmıştır. Normal bir karaciğerin disse aralığı membran benzeri bir matriks içerir (18). Subendotelyal matriks; kollajen, glikoproteinler, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar gibi makromoleküllerden meydana gelir (19). Karaciğer fibrotik hale geldiğinde, hepatik

ESM (ekstrasellüler matriks) kompozisyonunda kalitatif ve kantitatif değişiklikler oluşur. Kollajen içeriği 3–5 kat artar ve subendotelyal aralıktaki düşük dansiteli subendotelyal matriks progresif bir şekilde, fibril-forming kollajenden zengin olanıyla yer değiştirir. Karaciğer hasarını takiben hepatik stellat hücreleri, pasif hücrelerden kontraktıl myofibroblastlara, proliferatif ve fibrojenik hale geçtiği aktivasyon diye bilinen bir cevap gösterirler. Stellat hücre aktivasyonu, tekrarlanan sıralı ve sıkı programlı bir cevaptır, başlangıç (initiation) ve devam (perpetuation) dönemi olmak üzere birbirini takip eden iki olayla organize olur (18).

2.2.1. Başlama: HSH aktivasyonunu başlatan uyaranlar ESM kompozisyonundaki hızlı değişikliklere ek olarak çoğunlukla hasarlı hepatositler, kupffer hücreleri ve endotelyal hücrelerden tarafından düzenlenir (18). Kupffer hücreleri, matriks sentezini, hücre proliferasyonunu uyarabilir ve sitokinler (özellikle TGF- β 1) veya reaktif oksijen türleri etkisiyle retinoidlerin salıverilmesini uyarırlar. Böylece stellat hücre aktivasyonuna katkıda bulunurlar (14,20). Endotel hücreleri erken HSH aktivasyonunda ikili bir rol oynarlar: Sinüsoidal endotel hücrelerin hasarı, HSH üzerine aktive edici etkisi olan hücresel fibronektinin üretimini uyarır, ayrıca bu hücreler en güçlü profibrojenik olarak bilinen TGF- β 1 (transforming growth faktör- β 1) 'i latent halden aktif hale getirebilirler (21). Lipit peroksidasyonunun da hepatosit zedelenmesinin ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Lipit peroksidasyonun ürünlerinden olan malondialdehitin kollajen gen ekspresyonunu ve üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu aldehitik ürünlerin profibrogenetik sitokinleri (TGF- β 1) salan kupffer hücrelerini de aktive ettiği bilinmektedir (22). Lipit peroksidasyon yıkılım ürünlerinden olan aldehitlerin ve henüz tanımlanmamış benzer ürünlerin de HSH aktivasyonuna, özellikle de initasyon evresi denilen erken dönemlerde katkıda bulunabildiği belirtilmiştir (12,23). Jezequel ve arkadaşlarının (12) farelerde yaptığı çalışmada da hepatositlerden köken alan ortamdaki HSH kültüründe, lipit peroksidasyonu ile uyarıldığında proliferasyonunun ve kollajen tip 1 sentezinin görülmesi bu durumu desteklemektedir.

2.2.2. Süreklilik

Karaciğer hasarında aktivasyonlar devam ettikçe, stellat hücrelerin çok farklı fenotip cevapları olabilir. Bunlar; proliferasyon, kontraktilite, fibroenezis, matriks yıkımı, kemotaksis, retinoid kaybı, sitokin salımı ve beyaz hücre kemoatraksiyonudur.

2.2.2.1. Proliferasyon

Hasarlı karaciğerde, stellat hücreleri polipeptit yapıdaki büyüme faktörlerine cevap olarak proliferasyona uğrar (18). Platelet derive büyüme faktörü (PDGF) stellat hücre sayısının artırılmasında başlıca sitokindir (24).

2.2.2.2. Kontraktilite (Kasılma)

Karaciğer hasarını takiben HSH'ler aktive olur ve sessiz hücrelerden; proliferatif, kontraktil ve fibrojenik miyofibroblastlara dönüşürler (14). Stellat hücrelerinin aktivasyonu ve sonrasında kasılabilirlik özelliklerini kazanmaları, sinüzoidlerin daralmasını sağlar, ayrıca ortaya çıkan kollajen bantlarda karaciğerin büzüşmesine neden olur, böylece portal kan akımı da azalır (25). HSH'ler için en önemli kontraktil uyarıcıda endotelin-1'dir (18,25).

2.2.2.3. Fibrogenesis

Karaciğer fibrozisi özellikle tip 1 kollajen olmak üzere aşırı düzeyde ESM bileşenlerinin üretimi ve depolanmasıyla karakterizedir. HSH'ler karaciğer fibrozisi sırasında skar dokusunun aşırı üretiminden sorumludur (14). Stellat hücreler tarafından ESM üretilmesi için dominant uyarıcı TGF- β 1'dir (18). Lipit peroksidasyon ürünleri de ESM üretiminin önemli bir uyarıcıdır (26).

2.2.2.4. Matriks yıkımı

Fibröz doku oluşumunda matriks proteinlerinin yıkımı önemlidir. Bu metalloproteinaz denilen bir grup enzimle sağlanır (1). Normal karaciğer dokusunda matriks proteinlerinden matriks metalloproteinazlar (MMPs), ESM ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. MMPs'ı inhibe eden bazı faktörler mevcuttur. Bunlardan metalloproteinazların spesifik doku inhibitörleri (TIMPs) in vivo koşullarda bu enzimlerin aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar. MMPs ve TIMPs arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmekte ve böylece bunlar arasındaki denge değişik patolojik durumların patogeneğinde önemli bir rol oynayabilmektedir (27).

2.2.2.5. Stellat hücre kemotaksisi

Stellat hücreler hasarlı bölgeye göç ederler (18). Aktif stellat hücrelerin en önemli kemotaktik proteini de monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) olarak tanımlanmıştır (18,28).

2.2.2.6. Retinoid kaybı

Disse aralığında bulunan yağ ve A vitamini depolamak ile görevli olan stellat hücreler siroz gelişimi sırasında aktive olarak retinil ester depolarını kaybeder ve miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (29).

2.2.2.7. Sitokinlerin serbest bırakılması ve lökosit kemoatraksiyonu

Sitokinlerin üretimleri veya aktivitelerinin artırılması, stellat hücre aktivasyonunun devamı için çok önemlidir. Stellat hücreler, nötrofil ve monosit kemoatraktanlar salarak, inflamasyonu arttırabilirler. Anahtar inflamatuvar kemokinler; koloni stimule edici faktör ve MCP-1'dir (18).

2.2.3. Karaciğer fibrozisinin çözülmesi ve aktif stellat hücrelerin sonu

Akut ve deneysel karaciğer zedelenmelerinin iyileşme safhasında doku bütünlüğü yeniden olduğundan aktive stellat hücre sayısı azalır. Bu durum stellat hücrelerin dinlenme halindeki durumuna dönmesinden veya apoptozis olmalarından kaynaklanabilir. Ancak aktive stellat hücrelerinin sessiz durumlarına geri dönüp dönmediği çözülememiş bir konudur (18).

2.3. Siroz

Siroz da subendotelial veya perisentral fibrozis ile başlar ve nodül formasyonu oluşturan panlobüler fibroze kadar ilerler. Karaciğer nakli yapılmazsa çok kötü bir prognozu vardır (2). Karaciğer sirozunda etiyojisinde rol oynayan nedenler (30):

- 1-Viral hepatitler (tip B,C,)
- 2-Toksik (alkol, metotreksat)
- 3-Metabolik hastalıklar (Hemokromatoz, Wilson hastalığı, alfa-1 antitripsin eksikliği)
- 4-Biliyer (primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit)
- 5-Otoimmün hepatit
- 6-İdiyopatik

2.3.1. Histopatolojik bulgular

Karaciğeri sirozunda hepatosit hasarı (dejenerasyon ve nekroz), hepatosit rejenerasyonu, iltihabi reaksiyon, bağ dokusu septumlarının oluşması, safra kanalı proliferasyonu ve karaciğer içi damar yatağının distorsiyonu olmak üzere altı ayrı histopatolojik değişiklik görülebilir.

2.3.2. Klinik belirti ve bulgular

Karaciğer sirozu her yaşta görülen ciddi bir hastalıktır. Erkeklerde biraz daha sıktır. 4. ve 5. dekatlarda sık rastlanır. Hastalığın kompanse ve dekompanse olmak üzere iki dönemi vardır. Kompanse dönemde siroz ya asemptomatik, ya da semptomatik olabilir. Bu dönemde klinik belirtiler yoktur, rutin muayenede ve ameliyatlarda siroz varlığından şüphe edilir. Dekompanse siroz hastalar, genellikle asit ve sarılık ile başvururlar. Başlıca genel belirtileri arasında halsizlik, yorgunluk, dispepsi, sağ ve sol hipokondrium ağrılarıdır. Fizik muayene bulguları arasında sarılık, hepatomegali ve splenomegali vardır (1).

2.3.3. Laboratuvar bulguları

Anamnez ve fizik muayene bulguları ile karaciğer sirozu düşünülen vakalarda laboratuvar bulguları tanıyı destekler. Serum bilirubin ve gamma globülin düzeyi artmış, albumin düzeyi ise azalmıştır. Hipersplenizmlili vakalarda anemi, lökopeni ve trombositopeni vardır. Hipokrom mikrositer anemi sıktır, makrositer anemiye de rastlanabilir. Protrombin zamanı uzamıştır ve K vitamini tedavisine cevap vermez. Aminotransferaz yüksekliğide aktivite delili olarak değerlendirilebilir. Serum bilirubinlerinin artması, karaciğer hastalığının prognozunun bir indeksi olabilir. Yine karaciğer sirozunun etiolojisinin değerlendirilmesi açısından immunoserolojik testlerden yararlanmak mümkündür.

2.3.4. Komplikasyonları

Karaciğer sirozun başlıca komplikasyonları özofago-gastrik varis kanaması, hepatik ensefalopati, hepatosellüler karsinoma, spontan bakteriyel peritonit ve hepatorenal sendromdur. Ayrıca nadir olarak hepatopulmoner sendrom ve portopulmoner hipertansiyona rastlanabilir (1).

2.3.5. Teşhis

Biyopsi örneği alınarak teşhis konulmaktadır. Alınan çeşitli örnekler birbiriyle uyumlu olmasa dahi biyopsi metodu hala fibrozisin büyüklüğü ve siroz olasılığı hakkında tam bilgi sağlar (31).

2.3.6. Fibrozisin geri dönüşümü

Karaciğer fibrozisinin patofizyolojisi hakkında son 20 yıldır artan hücresel ve moleküler bilgiler sayesinde fibrozisin eskiden bilindiğinin aksine irreversibl olmadığı, ekstraselüler matriks ve skar doku birikiminin statik değil dinamik ve regüle edilebilen

bir süreç olduğu anlaşılmıştır. Fibrozisin hatta aşikâr sirozun tedavi ile gerilediğine dair ciddi kanıtlar mevcuttur. Buna, alkolik sirozlarda alkolün bırakılması, otoimmün hepatitlerde immünsüpresif tedavi kullanılması, hemokromatoziste flebotomi yapılması, Hepatit B’de lamivudin, Hepatit C’de ve Hepatit D’de interferon kullanılması, primer biliyer sirozda ursodeoksikolik asid ve metotreksat kullanılması ile aşikâr sirozun gerileyebildiği örnekleri sayılabilir (2). Kolşisin (Colchicum dispersum), silymarin (Silybum marianum), polienilfosfatidil kolin (soya fasülyesi) ellagik asit (turpgillere ait sebzeler), Gingko biloba bileşiği ve son olarak Sho-saiko-to (Geleneksel Çin tıbbındaki 7 bitkinin özütü) gibi bazı bitkisel kaynaklı bileşiklerin antioksidan oldukları ve kronik karaciğer hastalığında tedavi etkilerinin olabileceği öne sürülmüştür (3).

2.4. Oksijen ve canlılar

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur. Organik moleküllerdeki yapısal görevlerinin yanı sıra, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen hayati bir öneme sahiptir. Bilinen bütün canlı türleri, organik moleküllerin içindeki şekli ile oksijen gereksinimi duyarlar. Serbest formdaki moleküler oksijen her canlı türü için aynı anlamı ifade etmez: Örneğin, aerobik canlılar yaşamak için mutlaka moleküler oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlılar ise büyüme ve çoğalmaları için oksijene bağımlı değildirler. Anaerobik canlılardaki oksijenin toksik etkisinin nedeni, oksijenden kaynaklanan bazı reaktif türlerin biyomolekülleri oksitlemeleri ve bu reaktif türlere karşı anaerobik canlılarda savunma sisteminin bulunmamasıdır. Herhangi bir canlı türünün aerobik bir ortamda yaşayabilmesi için oksijeni hiç metabolize etmese bile, oksijenden kaynaklanabilecek reaktif türleri inaktive edecek korunma mekanizmalarına sahip olması gerekir. Oksijen sadece anaerobik türlerde değil, yaşamları için mutlaka moleküler oksijene gereksinimi olan canlılarda da toksik etkili olabilir. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşir:

A-Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Örneğin azot fiksasyonunu katalizleyen nitrojenaz enzimleri ve CO₂ fiksasyonunu katalizleyen enzim olan ribüloz bifosfat karboksilaz, oksijen tarafından kompetitif olarak inhibe edilirler.

B-Oksijenin bazı enzimlerde gösterilen inhibitör etkisine rağmen, doğrudan oksijenin kendisinden kaynaklanan inhibisyon ancak sınırlı sayıda enzimlerde görülmüştür ve bu tür inhibisyonların hızı da çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (32).

2.4.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir (Tablo1). Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" denir (33,34). Oksidanlar, reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT), sülfür merkezli radikaller vb. moleküllerden oluşurlar (35). Reaktif oksijen türleri, oksijen merkezli radikaller ve oksijen merkezli non radikaller olarak sınıflandırılabilir. Oksijen merkezli radikaller; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$), alkoksil radikali ($RO^{\cdot}$) ve peroksil radikalidir ($ROO^{\cdot}$). Oksijen merkezli non radikaller ise hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijendir (1O_2) (36,37). Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit (NO), nitrik dioksit ($NO_2^{\cdot}$) ve peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) gibi nitrit türevleridir (38). Radikaller kavramından bahsedildiğinde genel olarak oksijen merkezli radikaller akla gelir. Bu kavramın başlıca gerekçeleri şunlardır:

1. Diğer atom merkezli radikaller büyük bir hızla oksijenle tepkimeye girerler ve tepkimede paylaşılmamış elektron oksijen atomu üzerine kayar, radikal özelliği oksijen atomu üzerinde devam eder.

2. Moleküler oksijen hücrelerde devamlı olarak kullanılan bir moleküldür. Oksijeni kullanabilmek için elektron transferi ile spin kısıtlamasının aşılması gerekir. Bu nedenle de oksijen metabolizması sırasında reaktif radikal türlerinin oluşması kaçınılmazdır.

3. Elektrofilik bir atom olan oksijen, dış orbitaline elektron alarak biyomolekülleri oksitler, bu sırada kendisinin radikal türleri oluşur. Metal iyonları oksijenin bu tür oksitleyici etkilerini hızlandırırlar (32).

Tablo1: Oksijen ve nitrik oksitten oluşan reaktif türler

Tür	Adı	Tür	Adı
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen	$\text{NO}^\cdot$	Nitrik oksit
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit	$\text{NO}_2^\cdot$	Nitrojen dioksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit	NO_2^+	Nitril katyonu
$^\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali	NO^-	Nitroksil
$\text{ROO}^\cdot$	Peroksi radikali	NO^+	Nitrozil
ROOOH	Hidroperoksit	ONOO^-	Peroksinitrit
$\text{RO}^\cdot$	Alkoksi radikali	$^\cdot\text{N}_2\text{O}_3$	Dinitrojen trioksit
$\text{ROOR}^\cdot$	Endoperoksit	N_2O_4	Dinitrojen tetroksit
$\text{HO}_2^\cdot$	Hidroperosit radikali		

2.4.2. Serbest radikallerin oluşumu

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir. Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır (32).

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.

2. Normal molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalırlar.

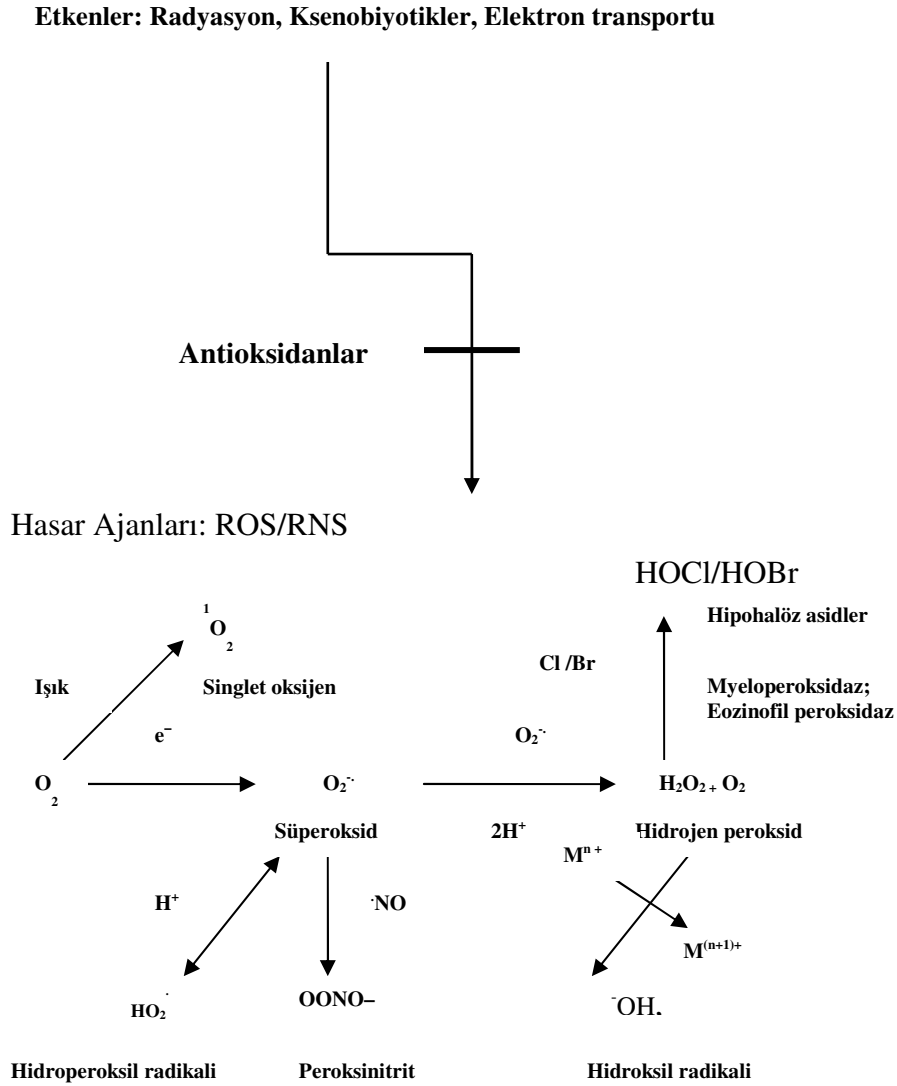
3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler (32,34). Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimlerin etkileri için ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur.

Oksijen radikalleri gibi, nitrik oksit radikalının yapımı da vazgeçilmez bir biyolojik olaydır. Bu radikallerin ne kadar ‘iyi’ ya da ne kadar ‘kötü’ olduklarını belirleyen faktör, nerede ve ne kadar üretildiklerine bağlıdır. Biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller gözlenen toksik etkilerden sorumludurlar. Çevresel faktörler, vücuda alınan çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku travmaları ve sayılabilecek diğer çok sayıdaki patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olurlar. Düşük derişimlerdeki radikal yapımının etkileri çok uzun bir süreç sonunda, örneğin yaşlanma şeklinde görülürken, yüksek derişimde ve yaygın radikal yapımını etkileri kısa sürede ve ciddi bir patolojik durum olarak karşımıza çıkar.

En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır (32,39).

1. Süperoksit radikali
2. Hidrojen peroksit
3. Hidroksil radikali
4. Singlet oksijen

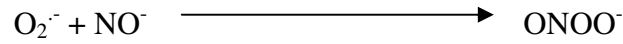


Şekil 1: Serbest radikal aracılı oksidatif hasar

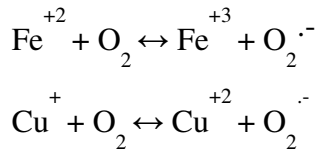
2.4.3. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$)

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikaldır. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (32,34). Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (34). Ayrıca süperoksit anyonu; hidrojen peroksit, hidroksil radikali veya singlet oksijen gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunda önemli bir rol oynar (36). $O_2^{\cdot -}$ mitokondrilerde direkt olarak otooksidasyon sırasında veya enzimatik olarak ksantin

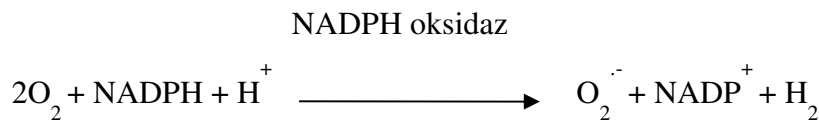
oksidaz, sitokrom P-450 ve diğer oksidazlar tarafından üretilir. Süperoksid dismutaz (SOD) enzimi ile veya spontan olarak süratle H_2O_2 inaktive olur (40). Süperoksid mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin diükleotid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin nükleotid (NAD)'e okside olması ile de üretilir. $O_2^{\cdot-}$ genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH'ına bağlı olarak protonlanarak katyon şeklinde dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali ($HO_2^{\cdot}$) ismini alır (41). Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir (32). $O_2^{\cdot-}$ ile $HO_2^{\cdot}$ reaksiyona girince, biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucunda O_2 ve H_2O_2 meydana gelir (34). Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu da reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir.



Böylece NO 'ın normal etkisi inhibe edilir. Peroksinitritlerin de doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2^-), hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler. $O_2^{\cdot-}$ ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar redoks reaksiyonları olduğu için tersine de dönebilir (34).

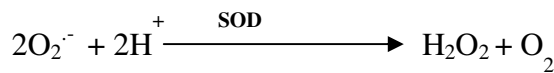


Nötrofillerde süperoksit radikali de plazma membranının dış tarafında yer alan NADPH oksidazla meydana gelir. Bir uyararla fagositik hücre aktive olunca NADPH oksidaz da aktive olur NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül $O_2^{\cdot-}$ oluşur (42,43).

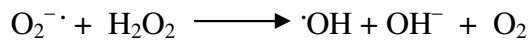


2.4.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

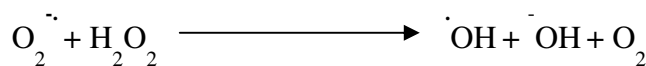
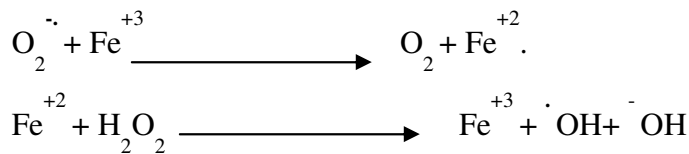
Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş bir elektron taşımaz ve bu yüzden de radikal bir tür değildir (44). H₂O₂ oksijen molekülünün başka bir molekülden iki elektron alarak peroksit oluşturmasından ve peroksit molekülünün de iki H molekülü ile birleşmesiyle oluşur (41). Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir (34).



Hidrojen peroksit, reaktif oksijen türleri arasında en az reaktif olandır ve ortamda metal iyonları yoksa fizyolojik pH ve ısıda stabildir. Hidrojen peroksit zayıf bir okside edici ve indirgeyici ajandır, bu nedenle daha zayıf bir reaktif olarak değerlendirilir. Hidrojen peroksit, metal iyonları ve süperoksit anyonu varlığında hidroksil radikali üretebilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir (36). Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler, katalizör olmayınca ortamdaki H₂O₂ ve O₂^{·-} antioksidanlar tarafından kolayca kaldırılır. Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³), süperoksit tarafından ferro demire (Fe⁺²) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak “Fenton Reaksiyonu” ile hidrojen peroksitten OH[·] ve OH⁻ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir (41).



Canlı sistemlerde, hidrojen peroksit; süperoksit anyonu, HOCl veya kloraminlerle reaksiyona girerek singlet oksijen üretebilir (45). Hidrojen peroksit, hemoglobin gibi bazı hem proteinlerini indirgeyerek demir salınımına sebep olabilir (36).

2.4.5. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali sulu çözeltilerde 1 ns'den daha az yarılanma ömrüyle oldukça reaktiftir. Bu yüzden canlı organizmada üretildiğinde oluşum yerinin yakınında tepki gösterir (44). Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretebilen hidroksil radikali canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir

1- Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

2- Hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. (32). Hidroksil radikalleri; lipit, polipeptidler, proteinler, DNA ve özellikle Tiamin ve Guanozin ile reaksiyona girer (36,38). $\cdot\text{OH}$ in sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. $\cdot\text{OH}$, başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini arttırıp hücre ölümüne neden olabilir (32,38). Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle tepkimeye girdiği bilinmektedir: Hem pürin ve pirimidin bazlarına hem de deoksiriboz temeline zarar vermektedir (44).

2.4.6. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen, bir non radikaldir (36,46). Diğer reaktif oksijen türlerine kıyasla singlet oksijen memeli dokuları için daha hafif ve daha az toksiktir (45). Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipit peroksitlerin oluşumuna yol açar (33). İnsan organizmasında singlet oksijen, mikroplar, virüsler ve kanser hücreleri için hem bir sinyal hem de bir silahtır (45).

2.4.7. Reaktif nitrojen türleri (NO , NO_2 , NO^+) (RNT)

Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), tek bir eşlenmemiş elektronu olan bir serbest radikaldir. Nitrik oksit, L arjininden NO sentaz yardımıyla oluşturulur (41,47). Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), sinir iletimi, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması, kas gevşemesi ve bağışıklık düzenlenmesi gibi çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak hareket eden bir radikaldir (44). Nitrik oksit kendi başına çok reaktif bir serbest radikal değildir ancak iskemi reperfüzyonu, romatoid artrit ve irritabl bağırsak sendromu gibi nörodejeneratif ve kronik inflamatuvar hastalıklarda NO ' in artışı

gözüktür (36). NO'nun sulu ortamlarda yarılanma ömrü sadece birkaç saniyedir, NO[•] hızlıca nitrat ve nitrit anyonları dönüşür (44,48). NO[•] daha düşük oksijen konsantrasyonlarında daha kararlıdır (yarılanma ömrü >15 sn). Bununla birlikte, hem sulu hem de yağlı ortamda çözülebilir olduğu için sitoplâzma ve plazma zarlarından kolaylıkla geçebilir (44). Nitrik oksit sentaz enziminin nöronal (nNOS), endotel (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere üç formu vardır (49). NO[•] bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korunur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşur (32).

2.4.7.1. Peroksinitrit

Nitrik oksit ile süperoksidin reaksiyon ürünü olan peroksinitrit çok kısa yarı ömürlü ancak oksidatif doku hasarına neden olan son derece reaktif bir moleküldür. Peroksinitrit oluşumu prooksidan maddelerin oluşumuna neden olmanın yanında, fizyolojik etkilerini ve güçlü antioksidan etkilerin değiştirerek NO'nun biyoyararlanımını da azaltır (50). Peroksinitrit (OONO⁻), DNA bölünmesi ve lipid oksidasyonuna neden olabilecek oksitleyici serbest bir radikaldır (44).

2.4.8. Radikal olmayan toksik metabolitler

2.4.8.1. Hipokloröz asit (HOCl)

Hipokloröz asit myeloperoksidaz tarafından üretilir. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monosit ve makrofajlar O₂^{•-} üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem taşır. Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O₂^{•-} dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'ye dönüştürür (46,51).



2.4.9. Serbest radikallerin kaynakları

Başlıca serbest radikal kaynaklarını şu şekilde sınıflandırabiliriz (52).

Endojen Kaynaklar:

Mitokondrial elektron transport zinciri

Endoplazmik retikulum

Redoks döngüsü

Araşidonik asit metabolizması

Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar vs) ve endotel hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar

Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz vs.enzimler

Otooksidasyon reaksiyonları

Ekzojen Kaynaklar:

Diyet faktörleri

Çevresel faktörler

İlaçlar, ksenobiyotikler

Zararlı ışınlar (x-ray, U.V.)

2.4.9.1. Endojen kaynaklar

2.4.9.1.1. Mitokondrial elektron transport zincir

Fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Mitokondriyal elektron transport sisteminde tüketilen oksijenin %1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıyla radikal oluşumu meydana gelir (38,53).

2.4.9.1.2. Sitokrom P–450

Mikrozomal sitokrom P–450 sistemi de kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmalarıdır ve molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal oluşturur (38,44).

2.4.9.1.3. Redoks döngüsü

Kimyasallardan serbest radikal oluşumu için diğer bir mekanizma redoks döngüsüdür. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin gibi bileşikler bir redoks siklusuna girerler ve bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bunlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (34,38,54).

2.4.9.1.4. Fagositoz

Nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller çeşitli uyarılar ile süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve HOCl salınışına neden olurlar. Nötrofillerin hücre membranındaki NADPH'e bağımlı oksidaz sistemi, süper oksit radikali oluşturan önemli bir kaynaktır. Bakteri, mitojen, immün kompleksler ve araşidonik asit metabolize ürünleri gibi etkenlerle bu enzim aktive olur ve oksijeni

hidrojen peroksit ve süper oksit radikaline katalizler. Bu olaya solunum patlaması denir (53,55).

2.4.9.1.5. Araşidonik asit metabolizması

Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz, protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asidin salımına yol açar (34). Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur (38,54). Siklooksijenaz, araşidonik aside iki oksijen molekülünün bağlanmasını sağlayarak bir lipit peroksit olan siklik endoperoksit prostaglandin G_2 (PGG_2) sentezini gerçekleştirir. PGG_2 , tromboksan ve prostasiklin sentezi için gerekli prostaglandin H_2 'ye (PGH_2) redükte olur ve bu basamakta oksijen radikalleri oluşur. Peroksid konsantrasyonundaki artış erken dönemde siklooksijenazı aktive ederek, PGH_2 ve oksijen radikallerin üretimine neden olacaktır. Bu erken dönemde hem prostasiklin hem de tromboksan üretimi artar (40). Tromboksan B_2 'nin oksidatif strese bağlı olarak hepatosit hasarının erken olaylarından biri olan hepatosit plazma membranında bleb formasyonunda (hücreyi sınırlayan hücre iskeletinde membran lipit tabakasının birbirinden ayrılması) yer aldığı da ileri sürülmüştür (5). Lipooksijenazda serbest radikal üretir. Üç tane lipooksijenazı vardır bunlar 5, 12 ve 15 lipooksijenazlardır. Bu enzimler, santral sinir sisteminde bolca bulunan bir poliansature yağ asidi olan araşidonik asidi, hidroperoksit - eikazotetraenoikaside okside edebilir. 5, 12 ve 15 lipooksijenazların primer lokalizasyon bölgeleri sırasıyla lökositler, lenfositler, plateletler (36).

2.4.9.1.6. Otooksidasyon

Serbest radikal ara metabolitleri ve aktive oksijen türleri; askorbik asit, tioller (glutatyon, sistein gibi), adrenalin ve flavin koenzimleri gibi bazı bileşenlerin otooksidasyonu sonucunda da üretilir (34).

2.4.9.1.7. Oksidan enzimlerin reaksiyonları

Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, ürat oksidaz aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu meydana getirebilir. (34,44,53).

2.4.9.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları

Sıcak şoku, güneş ışını, sigara, ortam havası, travma, radyoaktivite, intoksikasyon, ksenobiotik maddelerin etkisi, alışkanlık yapan maddeler, kemoterapötikler ve hepatotoksinler başlıca ekzojen kaynaklarıdır (33). DMN (Dimetilnitrozamin), nitrozamin sınıfının potent bir üyesi olup hepatotoksik ve karsinojenik potansiyele sahiptir. Karaciğer, DMN metabolizması ve toksisitesi için birincil hedef olup, böbrek, akciğer ve özofagus ikincil hedefler arasındadır. DMN sadece hepatosite direkt toksik etki yapmakla sınırlı kalmayıp aynı zamanda sitolitik ve SOR veya membran lipid peroksidanları gibi proinflatuar ajanlar üreterek de karaciğere hasar verir (56).

2.4.10. Serbest radikallerin vücuttaki etkileri

2.4.10.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır (34). Biyolojik sistemlerdeki poliunsature yağ asitlerinin serbest radikal oksidasyonu, lipid peroksidasyonu olarak bilinir. LPO (Lipid peroksidasyonu), çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan bir süreçtir (46). LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan $\cdot\text{OH}$ radikali ile oluşabilir (52). Hidroksil radikali fosfolipaz A_2 'yi uyarak araşidonik asit salınımında yol açmaktadır ve araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (38). Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak hidroperoksitlere dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (38,41,52). Lipid hidroperoksitlerde yıkıldığında aldehidler oluşur. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbutirik asit ile ölçülebilen MDA meydana gelir. Bu metod lipid peroksid

seviyelerin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (41).

2.4.10.2. Proteinlere etkileri

Proteinler radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler serbest radikallerinden daha kolay etkilenirler (38). Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden, karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir (34,44). Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize yol açabilir (34).

2.4.10.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid ve okzoaldehitler meydana gelirler. Okzoaldehidler de DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (34).

2.4.10.4. Serbest radikallerin DNA'ya etkileri

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (34). Farklı ROT farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. $\cdot\text{OH}$ radikalleri DNA'ya saldırarak hasar oluşturur. O_2^- ve H_2O_2 doğrudan DNA'da hasar yapmazlar. $\cdot\text{OH}$ radikalının DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan $\cdot\text{OH}$ radikalının hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme olasılıkları azdır. Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'in nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturmasıdır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (39). DNA hasarı glikozilaz enzimleriyle onarılmaktadır. Oksidatif DNA hasarını belirlemek için çoğunlukla 8-hidroksiguanin ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin ölçümü kullanılmaktadır (36,57,58).

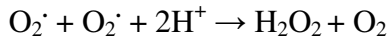
2.4.11. Antioksidan savunma sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın oluşumunu önleyenler ve mevcut olanı etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise tokoferol, β karoten, askorbik asit, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin ve albumindir. Antioksidanlar etki mekanizmalarını serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek, serbest radikalle etkileşip aktivitelerini azaltarak, serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak ya da onarım yaparak gösterirler (34,38).

2.4.11.1. Enzimatik antioksidanlar

2.4.11.1.1. Süperoksit dismutaz

SOD süperoksit radikalının H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizleyerek, süperoksit radikalının zararlı etkilerine karşı hücreleri korurlar. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunu da inhibe ederler (34,59,60).



SOD aktivitesi dokulara göre değişiklik göstermektedir. SOD enzimi temelde hücre içi yerleşimlidir, %10 kadarı hücre dışında bulunmaktadır (38). SOD bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (sitozolik SOD), mitokondride bulunan manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (mitokondrial SOD), ekstrasellüler SOD (EC-SOD) olmak üzere üçe ayrılır (34,59,60). Prokaryotlarda bulunan ve Fe içeren bir izomeri daha vardır (Fe-SOD) (38).

Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (sitozolik SOD)

Aktif bölgesinde bakır ve çinko içerir. Bu enzim hücrelerin sitoplazmasında yerleşmiştir (61). Çinkonun stabiliteyi sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinkonun ayrılması geri dönüşümsüz iken, bakır geri dönüşümlü olarak ayrılıp tekrar bağlanabilir. Siyanür bu enzimin inhibitörüdür. Doku ve

hücrelerden kolaylıkla izole edilebilir. Rutin saflaştırma işlemlerine ve ısıya karşı da dayanıklıdır (38).

Mangan süperoksit dismutaz (Mn SOD)

Mitokondriyel Mn-SOD, her alt birim başına bir manganez atomu içeren bir homotetramerdir (59). Etki ettiği reaksiyon Cu-Zn SOD ile aynı tepkimedir. Ancak yapı olarak tamamen farklı bir enzimdir. Pembe renklidir ve aktif bölgesinde Mn içerir dayanıksızdır ve siyanürle inhibe olmaz. Eritrositlerde Mn SOD bulunamamıştır. Karaciğerde tespit edilmiştir. Genellikle mitokondrilerde yerleşiktir (38).

Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD):

Aktif bölgesinde demir iyonu taşımaktadır. Prokaryotlarda bulunur. Yapısal olarak Mn-SOD'a büyük benzerlik göstermesine rağmen her iki enzim de aktif bölgelerinde kendi metal iyonları olduğu zaman çalışabilmektedir. Mn-SOD enziminin endojen süperoksit radikallerine karşı, Fe-SOD enziminin ise eksojen radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği kabul edilmektedir. Fe-SOD bitkilerde ve bazı bakteri türlerinde bulunmaktadır (38).

2.4.11.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir (34). Katalaz, peroksizom olarak adlandırılan bir hücre organelinde yer alır. Bu enzim hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü etkili şekilde sağlar. Katalaz, tüm enzimler içinde en yüksek dönüşüm hızlarından birine sahiptir: Katalazın bir molekülü dakikada 6 milyon hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijene dönüştürebilir (44).

2.4.11.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan H_2O_2 suya, diğer substratı olan organik hidroperoksit alkole indirgenirken, bu sırada koenzim olan redükte glutasyon (GSH) ise yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür Kullanılan koenzim NADPH, esas olarak pentoz fosfat yolundan sentezlenir (62). Belirgin şekilde GSH-Px, substrat olan H_2O_2 için katalazla rekabet eder ve düşük seviyeli oksidatif strese karşı korumada önemli bir kaynaktır (44).

2.4.11.1.4. Glutasyon -S-transferaz (GST)

GST'ler toksinlerin biotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar (63). GST'nin 6 değişik şekli bulunmaktadır (64). Ayrıca başta araşidonik asit ve lineolat

hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksidlerine karşı GST'lar savunma mekanizması oluştururlar. Antioksidan aktivitelerine ilaveten çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlarada sahip olup hem, bilirubin ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddeleri dönüşümlü olarak bağlayarak bunların hücre içi transportunda yer alırlar (34).

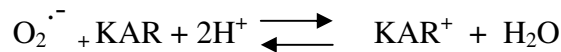
2.4.11.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.4.11.2.1. Askorbik asit

C vitamini (askorbik asit) vücudun göz merceği gibi sulu ortamlarında çalışan önemli ve güçlü bir antioksidandır. Birincil antioksidan partnerleri E vitamini ve karotenoidlerdir, aynı zamanda antioksidan enzimleriyle birlikte de çalışmaktadır. C vitamini membran ve lipoproteinlerdeki α -tokoferol radikallerinden yeniden α -tokoferol üretmek için E vitaminiyle işbirliği yapar. C vitamininin membranları oksidasyona karşı koruduğu kabul edilmiştir (44). Askorbik asitin antioksidan mekanizmaları singlet oksijenin süpürülmesi ve moleküler oksijenin ortadan kaldırılması esasına dayanır. C vitamini, fagositoz için de gereklidir. C Vitamini, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur. Bu etkisi sebebiyle askorbik asit aynı zamanda prooksidan olarak kabul edilmektedir; fakat bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü daha yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olarak etki gösterdiği kabul edilmiştir (34,38).

2.4.11.2.2. Karotenoidler

β -karoten ve likopen gibi karotenoidler hücreleri ve organizmayı korumada önemli rolleri vardır (65). Karotenoidler biyolojik sistemlerdeki en efektif singlet oksijen söndürücüdür. Beta karoten, süperoksit anyonlarını aşağıdaki tepkime ile temizleyebilir (36).



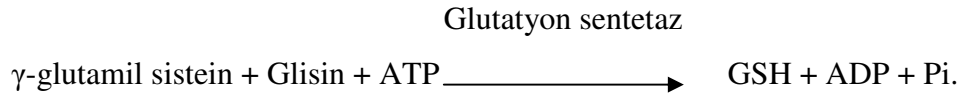
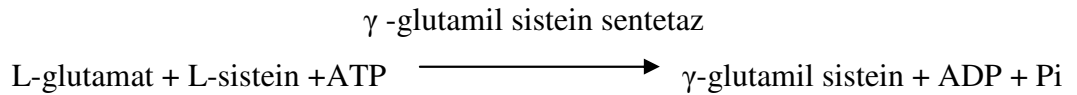
2.4.11.2.3. E vitamini

E vitamini sekiz farklı formda bulunan ve yağda çözülebilen bir vitamindir. α -tokoferol, E vitamininin insanlardaki en aktif formudur ve hücre tarafından kullanılan zara bağımlı olan en önemli antioksidanlardan birisi olarak görülen güçlü bir biyolojik

antioksidandır. Temel antioksidan işlevi lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır (44).

2.4.11.2.4. Glutatyon (GSH)

Glutatyon bir tiptir. Glutamik asid, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmiştir (15,38). Vücuttaki glutatyonun büyük bölümü karaciğerde iki aşamada sentezlenir.



Glutatyon, hidrojen peroksitin suya dönüştürülmesindeki görevinin yanısıra hidroksil radikali, peroksil radikali ve peroksinitrit gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek serbest radikal hasarını önlemektedir (38,62). Bunun dışında proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membrandan transportunu sağlar (34,38).

2.4.11.2.5. Albumin

Albumin vücutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (33,38,46).

2.4.11.2.6. Seruloplazmin

Bakır bağlayan bir glikoproteindir. 6 tane sıkı bağlı ve sıklıkla 7. si gevşek bağlanmış bakır iyonları içermektedir (38). Plazmada bakır taşıyan seruloplazmin aynı zamanda demir metabolizmasında da rol oynamaktadır. Seruloplazmin ferooksidaz aktivitesine sahiptir. 2 değerlikli ferro demiri, 3 değerlikli ferri demire okside eder. Seruloplazminin ferooksidaz aktivitesi demir iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu inhibe eder (33).

2.4.11.2.7. Transferrin

Transferrin plazmada bulunan demiri bağlayan bir glikoproteindir (34). Transferrinin görevi serbest demiri bağlayarak demirin lipid peroksidasyon tepkimelerini başlatmasını önlemektedir (33).

2.4.11.2.8. Melatonin

$\cdot\text{OH}$ radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Lipofilik yapıda olmasından dolayı kan beyin bariyerini rahat geçer ve çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin bir başka avantajı çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımda bile toksik etkisinin olmamasıdır. Ayrıca, bazı antioksidanlar belli oranda prooksidan aktiviteye sahip oldukları halde melatoninin böyle bir etkisi yoktur (34,41).

2.4.11.2.9. Ürat

Normal plazma konsantrasyonunda süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler, fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır (34)

2.4.11.2.10. Bilirubin

Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (34).

2.5. Nigella sativa (Çörek otu)

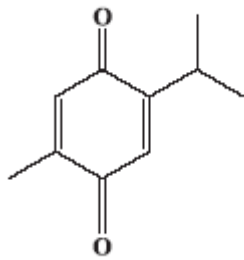
Çörek otu (*Nigella sativa*), Ranunculaceae (düğünçiçeğigiller) familyasından olup günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak tarımı yapılan bir bitki türüdür (Resim 1). Türkiye’de 12 *Nigella* türü yetişmektedir. Çoğunun kimyasal ve farmakolojik özellikleri tam olarak incelenmemiştir. Bunlardan *Nigella sativa* L, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*’in tohumları halk hekimliğinde ve baharat olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Ülkemizde tarımı yapılan ve ticarete konu olan tek tür yalnızca Black cumin (*Nigella sativa* L.)’dir. Türkiye’de yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde tarımı yapılmaktadır (66). Çörek otu kendi kendini döller ve beyaz trigonal tohumlar içeren bir meyve kapsülü oluşturur (67). Yüksekliği yaklaşık 20–30 cm arasındadır (3). Meyve kapsülü olgunlaştığında açılır ve içerdiği tohumlar havaya maruz kalarak siyah renge dönüşür (67). Besin olarak kullanılan kısmı bu bitkinin kapsül içerisinde oluşan tohumudur (68,69).



Resim 1: Çörek otu tohumu

2.5.1. Çörek otu tohumunun kimyasal özellikleri

Çörek otu tohumunun kimyasal yapısı, bitkinin hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime göre farklılık arz etmektedir. Çörek otu tohumu %0,4- 0,45 arasında uçucu yağlar, %30'dan fazla sabit yağları içerir. Uçucu yağların %18,4 - 24'ünü timokinon oluşturmaktadır (70). Timokinon 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon yapısındadır ve molekül formülü de $C_{10}H_{12}O_2$ 'dir (71).



Çörek otu tohumunun % 22.6-26.7 protein, %32,7-40,0 karbonhidrat içerdiği saptanmıştır (72). Tohumu parçalandığında, elde edilen proteinlerin molekül ağırlığı, SDS-PAGE elektroforezi ile 94- 100 kDa arasındadır (67,73). Ayrıca çörek otu glukoz, ramnoz, ksiloz, arabinoz formunda monosakkaridleri de içermektedir (67). Ayrıca çörek otu tohumları vitamin ve mineral yönünden zengindir: 100 gr çörek otu tohumunda 1.5

mg B₁ (tiamin), 0.1 mg B₂ (riboflavin), 0.5 mg B₆ (pidoksin), 5.7 mg PP (niasin), 0.061 mg B₉ (folik asid), 10.5 mg Fe, 1.8 mg Cu, 185.9 mg Ca, 6 mg Zn, 526.5 mg P ve 1.7 mg Se, 9.02 mg alfa-tokoferol, 54.2 mg gama tokoferol, 2.7 mg all-trans retinol bulunmaktadır (74,75). Uçucu yağların analizi sonucu p-simen (%7.1-%15.5), karvakrol (%5.8-%11.6), t-anetol (%0.25-%2.3), 4-terpineol (%2.0-%6.6) ve longifolin (%1.0–8.0) gibi bileşiklerde izole edilmiştir (7,76). Çörek otu tohumu doymamış yağ asitlerince de çok zengindir. Bunlardan linoleik asit esas kısmını, oleik asit ise daha az bir kısmını oluşturmaktadır (72). Diğer doymamış yağ asitleri ise araşidonik ve eikozanoid asittir (6). Doymuş yağ asitleri olarak da palmitik, stearik ve miristik asidi içerir (72). Yapılan çalışmalarda çörek otu yağının aktif birleşeni olan timokinona ilaveten, ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ) ve timol de izole edilmiştir (77). Çörek otu içeriğinde fosfolipid de bulunmaktadır. Fosfolipidin çoğunu fosfatidilkolin, az bir kısmını da fosfatidiletanolamin ve fosfatidilinozitol oluşturmaktadır (67).

2.5.2. Biyolojik etkileri

Tarihsel olarak, çörek otu tohumunun eski Mısır ve Yunan hekimler tarafından baş ağrısı, burun tıkanıklığı, diş ağrısı ve bağırsak kurtlarını tedavi etmek için ve ayrıca süt arttırıcı olarak reçetelendiği kaydedilmiştir. Astım, bronşit, baş ağrısı, dizanteri, enfeksiyonlar, şişmanlık, sırt ağrısı, hipertansiyon ve mide barsak yolları problemleri dahil geniş bir hastalık grubunun tedavisinde geleneksel ilaç olarak Orta Doğu ve Uzak Doğuda halk arasında uzun süredir kullanılmaktadır (67). Ayrıca çörek otu tohumu çaya, kahveye, ekmeğe katılabilir. Konserve ve sirke içine konulabilir. Ayrıca tohumu bal ile karıştırılabilir ve salata üzerine de serpilebilir (78).

2.5.2.1. Antibakteriyel etkileri

Yapılan çalışmalarda çörek otu tohumunun E.Coli, Bacillus subtilis, Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus ve Pseudomonas aeruginosaya karşı antimikrobiyal etkileri olduğu gösterilmiştir (67,79).

2.5.2.2. Antiinflamatuvar etkileri

İnflamasyonun akut ve kronik devamlılığı, makrofaj ve nötrofillerden salınan oksidanlar ve sitokinler gibi birçok mediatör ile düzenlenmektedir. NO ve ROT doku hasarına yol açan toksik oksidatif reaksiyonları başlatırlar (67). İnflamasyon ayrıca siklooksigenaz (COX) ve lipooksigenaz (LO) gibi iki ana enzim tarafından da kontrol edilir (67,80). COX araşidonik asitten prostaglandin ve tromboksan oluştururken, LO

lökotrienlerin oluşumunu katalizler. Prostaglandin ve lökotrienler alerji ve inflamasyonun ana mediatörüdür. Çörek otu yağının ve onun aktif bileşenlerinin bu mediatörlerin üretimine inhibitör etkisi olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda TQ ve çörek otu yağının, araşidonik asit metabolizmasının hem siklooksigenaz hem de 5-lipooksigenaz yollarını inhibe ettiği, bununla birlikte çörek otu yağının TQ' dan daha fazla etkili olduğu gösterilmiştir (67). Çörek otu yağının arthritin etkilerini hafifleten antiinflamatuvar etkisi olduğu da gözlenmiştir (7,67). Çörek otu tohumu ve bileşenlerinin, deneysel ensefalomyelit, kolit gibi inflamatuvar hastalıklarda etkisi olduğu da bildirilmiştir (67).

2.5.2.3. Antiastmatik etkileri

Allerjik astımın en önemli nedeni solunum yollarının hiperaktivitesi ile birlikte allerjik inflamasyonun oluşmasıdır. Bu inflamatuvar cevap da eozinofillerin, mast hücrelerinin, mukus sekresyonunun artmasıyla ve Th2 hücrelerinin aktive olmasıyla ilişkilidir. El Gazzar ve ark. (81) yaptıkları çalışma sonucu timokinonun solunum yollarındaki eozinofilleri, Th2 sitokinleri ve mukus sekresyonu azaltarak allerjenle indüklenmiş akciğer inflamasyonunu azaltabileceklerini göstermişlerdir.

2.5.2.4. Immünomodülatör etkileri

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada çörek otu tohumunun CD₄ (yardımcı lenfosit) / CD₈ (baskılayıcı lenfosit) oranını, toplam lökosit sayısını arttırdığı saptanmıştır (68). Çörek otu yağının direkt olarak yenildiğinde immün direnci arttırdığı da tespit edilmiştir (68,82). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, çörek otunun Cisplatin'in neden olduğu hemoglobin seviyesi ve total lökosit sayısındaki düşüşe engel olduğu ve toplam lökosit sayısında %3.2' lik bir artış sağladığı gözlenmiştir (68).

2.5.2.5. Gastroprotektif etkileri

Çörek otu yağının mideyi koruyucu etkisi sıçanlarda etanol ile indüklenmiş ülserde incelenmiştir. Çörek otu yağının uygulandığı grupta glutatyon düzeyinin artması, peptik ülser oluşumunda histamin içeriğinin azalması ve müsin içeriğinin artması çörek otu yağının koruyucu özelliği olduğunu göstermektedir (83). El-Ahbar'ın (84) yaptığı bir çalışma da çörek otu yağının ve TQ'nun iskemi-reperfüzyon hasarının indüklediği gastrik mukozal lezyonlara karşı koruyucu etkileri olduğu da gösterilmiştir.

2.5.2.6. Çörek otu tohumu ve böbrek hastalıkları

Sıçanlarda yapılan çalışmada tek doz intravenöz DOX (Doksorubisin) enjekte edilmiş ve hipoalbuminemi, hiperlipidemi, hipoproteinemi, serum üre düzeyini yükselmesi, idrarda protein, albumin ve N-asetil- β -D-glukozaminidazın artmış atılımı ile sonuçlanan deneysel nefrotik sendrom oluşturulmuştur. Ayrıca total kolesterol ve lipid peroksidlerinde belirgin bir artış ve non-protein sülfidril içeriği ve katalaz aktivitesinde açık bir düşüş görülmüştür. DOX'dan 5 gün önce timokinonun sıçanların içme suyuna katılarak verilmesi, serum üre ve total kolestrol düzeyini belirgin bir şekilde düşürmüş, non-protein sülfidril içerik ve katalaz aktivitesini de belirgin şekilde yükseltmiştir. Ayrıca bu çalışma timokinonun idrar yoluyla protein ve albumin atılımını yavaşlattığını, böbrekte meydana gelen olumsuz etkileri yavaşlatan anti oksidan madde içerdiğini, nefrotik sendromla alakalı proteinüri ve hiperlipidemi için TQ'un koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (85).

2.5.2.7. Çörek otu tohumunun kalp ve damarlara etkileri

Çörek otu bitkisi diüretik, hipotansif etkisinden dolayı kullanılan bir bitkidir. Deneysel olarak hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda çörek otu tohumları ekstresinin diüretik ve hipotansif etkisi üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Çörek otu tohumu ekstresinin 15 gün boyunca oral yolla 0.6 ml/kg/gün dozda verilmesi sonucu, sıçanlarda diürezi %16 oranında artmıştır. Ayrıca Cl, Na, K ve ürenin idrarla atılımın da arttığı ve arteryel basıncın %22 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Araştırmacılar da çörek otunun antihipertansif etkisinin diüretik etkiyle ilişkili olduğunu düşünmüşlerdir (7). Hiperhomosisteinemi koroner, serebral, periferik damarlarda ki hastalıklarla ilişkilidir. El-Saleh ve ark. (86) yaptıkları bir çalışmada çörek otunun sıçanlarda kandaki homosistein düzeyine olan etkisini incelemişler ve yüksek homosistein düzeyinin trigliserit, kolesterol ve oksidatif stresin yükselmesine neden olduğunu görmüşlerdir. 100 mg./kg timokinon, 100 μ l/kg çörek otu yağı uygulanmasıyla, çörek otu yağının ve timokinonun hiperhomosisteinemiye karşı koruyucu rol oynadığını göstermişlerdir.

2.5.2.8. Antidiyabetik etkileri

Streptozotosin ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda yapılan çalışmada çörek otu tohumlarıyla tedavinin (0.20 ml/ kg, 30 gün; i.p.) yüksek serum glukozunu düşürdüğü, düşük serum insülin konsantrasyonunu arttırdığı ve pankreatik β

hücrelerinin parsiyel rejenerasyonunu/proliferasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (87).

2.5.2.9. Çörek otu tohumu ve kan homeostazi

Çörek otu tohumu sabit yağlarının, kan dengesi ve vücut ağırlığına etkisini göstermek amacıyla yapılan bir çalışmada, sıçanlara 12 hafta boyunca oral olarak 1 ml/kg dozunda çörek otu tohumunun yağı günlük olarak uygulanmıştır. 12 haftalık uygulama sonucunda hemoglobin ve hematokrit değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, serum kolesterol, TAG ve glukoz değerleri anlamlı olarak azalmıştır. Bu sonuçlarda çörek otu tohumunun hiperglisemi ve dislipidemi tedavisinde kullanılmasını desteklemektedir (88).

2.5.2.10. Antiviral etkileri

Viral enfeksiyona karşı gelişen immün cevap doğal öldürücü hücreler ve makrofajları içeren nonspesifik hücreler, CD4 ve CD8 T hücrelerini içeren spesifik hücreler tarafından kontrol edilir. Bununla birlikte T hücreleri geç dönemde virüsün klirensinde çok önemli iken, doğal öldürücü hücreleri ve makrofajlar erken dönemde önemlidir. Bu hücreler tarafından üretilen IFN-gama da antiviral cevapta rol alır (67). Çörek otu yağının antiviral etkisini araştırmak amacı ile yapılan bir çalışmada; sitomegalovirüs ile infekte edilmiş deney farelerine enfeksiyonun 10. gününde çörek otu yağı uygulandığında, deney farelerinin dalak ve karaciğerinde virüs gözlenmemiş, ayrıca IFN-Gama miktarında, makrofaj sayı ve fonksiyonlarında artış görülmüştür (89).

2.5.2.11. Antihelmintik etkileri

Schistosomiasis bir parazit hastalığıdır. Bu hastalıktan korunma hem hücresel hem de humoral immünite ile sağlanır (67). Yapılan çalışmada S.mansoni enfeksiyonu ile indüklenerek karaciğer hasarı oluşturulan farelere çörek otu yağının 2.5 ve 5 ml/kg dozunda 2 hafta önce verilmesiyle ALT, GGT ve ALP aktivitelerindeki enfeksiyonun neden olduğu biyokimyasal ve patolojik değişiklikleri düzeltmiştir. Ayrıca çörek otu yağı SOD ve glutatyon düzeylerini arttırmıştır. Bu etkilerinin antioksidan aktiviteyi uyarak yapabileceği düşünülmüştür (90). Ayrıca çörek otu tohumlarının helper/sitotoksik hücre oranını, makrofaj ve natural killer hücre aktivitelerini ve IL-3, IFN-gama üretimini arttırdığı bilindiğinden, antihelmintik etkisinin de bu immün cevabı düzenleyici etkisinden dolayı olabileceği düşünülmüştür (67).

2.5.2.12. Antifungal etkileri

Çörek otu tohumunun farelerde antifungal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Candida albicans* inokulasyonundan 24 saat sonra başlanan ve 3 gün devam eden günlük çörek otu tohumu tedavisiyle mantarın büyümesinin anlamlı derecede inhibe edildiği gösterilmiştir (91).

2.5.2.13. Antitümöral etkileri

Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar çörek otu tohumlarının hem yağının hem de aktif bileşenlerinin antitümör etkileri olduğunu göstermiştir. Çörek otu yağının antitümör mekanizmalarını açıklamaya odaklanan çalışmalarda çörek otunun doz konsantrasyonuna bağlı olarak metastazla alakalı faktörler olan tip 4 kollajenaz, metalloproteinaz, serine proteinaz inhibitörleri, angiogenik protein-fibroblastik growth faktör, doku tipi plazminojen aktivatör, ürokinaz tipi plasminojen aktivatörünün inhibisyonunu indüklediği belirtilmiştir. Çörek otu tohumu ve tüm bileşenlerinin antitümör etkilerine ek olarak hepatosellüler karsinomda, lösemide, akciğer karsinomunda sitotoksik etkilerde gösterdiği belirtilmiştir (67).

2.5.2.14. Antioksidan ve hepatoprotektif etkileri

Serbest oksijen radikalleri hücrelere saldırırlar ve hücre membranını parçalayarak vücutta bulunan nükleik asit, protein ve enzimlerle reaksiyona girerek çok büyük tahribat yaparlar (67). Bu oksidatif hasarın sebebi prooksidan ve antioksidan mediatörler arasındaki dengenin bozulmasıdır (62). Çörek otu tohumunun potansiyel özelliklerinden biride bileşeninin antioksidan aktivitesinden dolayı toksisiteyi azaltma yeteneğidir (67). Hem çörek otu yağı hem de timokinonun lipozomlarda non-enzimatik lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Burits ve Bucar; çörek otu yağı ve bileşiklerinin (özellikle de timokinonun) önemli bir antioksidan ve serbest radikal çöpçüsü etkilerinin olduğu ancak prooksidan bir etkilerinin olmadığını göstermişlerdir (92). İskemi/reperfüzyon uygulanan sıçanlarda yapılan bir çalışmada TQ ve çörek otu yağının önceden verilmesiyle GSH ve SOD düzeylerinin azalmasını önlediği bildirilmiştir (84). Farelerde yapılan bir çalışmada da timokinonun dokularda antioksidan bir ajan gibi davranıp, membran lipit peroksidasyonunu engellediği ileri sürülmüştür (93). CCl₄ enjeksiyonundan 1 saat önce farelere profilaktik olarak TQ verilmesiyle CCl₄ neden olduğu hepatotoksisiteyi azaltmış ve hepatik GSH içeriğinde belirgin bir artış görülmüştür (67). TQ ayrıca izole hepatositleri tert-butylhidroperoksitin

indüklediği toksisiteye karşı korumuştur ki bu durum AST, ALT kaçağının azalmasıyla ve glutatyon düzeyinin artmasıyla kanıtlanmıştır (5,76). Çörek otu tohumunun CCl₄ uygulanmış sıçanlara önceden verilmesi sonucunda karaciğer tahribatının daha az olduğu bildirilmiştir (3,94). 60 gün süreli CCl₄ verilerek yapılan hepatotoksisite çalışmasında çörek otu önceden verilmesiyle lipid peroksidasyonunun, ALT, AST düzeylerinin'nin azaldığı ve düşük olan antioksidan enzim seviyelerinin yükseldiği görülmüştür (70). Al-Gharebly ve arkadaşları (92) CCl₄'ün indüklediği hepatotoksisiteye karşı TQ'nun koruyucu etkisinin, bu ajanın lipid peroksidasyonunu inhibe edebilme yeteneği ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür. Schistosoma'nın indüklediği karaciğer fibrozisinde çörek otu yağının önceden verilmesiyle serum ALT, gama-glutamyltransferaz (GGT), alkalen fosfataz (ALP) değerlerinde ve GSH ve SOD aktivilerinde kısmi bir iyileşmeye neden olmuştur (90).

2.5.2.15. Antihistaminik etkileri

Histamin vücut dokuları tarafından salınır, bronşial astma gibi durumlarda allerjik reaksiyonu oluşturur. Bronşial astma tedavisinde çocuklara ve yetişkinlere çörek otu uçucu yağlarından olan nigellone verildiğinde hastaların birçoğunda semptomları baskılandığı görülmüştür (67). Yapılan çalışmalarda da alerjik rinit, bronşial astma, atopik ekzama gibi alerjik hastalıkları olan hastaların çörek otu yağı ile tedavisi, plazma ve idrarda IgE, eozinofil miktarını ve endojen kortizolü azalttığı görülmüştür (67,95).

2.5.3. Çörek otu tohumunun yan etkileri

Çörek otu yağının akut toksisitesi fareler üzerinde çalışılmıştır. LD₅₀ (letal doz,LD) değerleri tek doz olarak 28.8 ml/kg p.o., 2.06 ml/kg intraperitonealdır. Sıçanlarda 12 hafta 2 ml / kg dozda verilmiştir. Çörek otu tohumunun 12 haftalık uygulanmasında AST, ALT ve GGT gibi karaciğer enzim seviyelerinde değişiklikler gözlenmemiştir. Ancak serum kolesterol, TAG ve glikoz seviyeleri ile lökosit ve trombosit sayıları kontrol değerlerine nazaran belirgin derecede düşmüştür. Hemotokrit ve hemoglobin seviyeleri belirgin bir şekilde artmıştır. Çörek otu tohumu uygulanan sıçanların vücut ağırlığının artmasının da yavaşladığı gözlemlenmiştir. Yüksek LD₅₀ değerleri ve karaciğer enzim stabilitesi ile kanıtlanan düşük toksisitesi, çörek otu tohumunu sabit yağının terapötik doz sınırının geniş olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte hemoglobin metabolizması, lökosit ve trombosit sayısındaki düşüşler göz önüne alınmalıdır (96). Çörek otu tohumunun LD₅₀'si oral uygulamada intraperitoneal yoldan yaklaşık 20 kat

daha yüksektir bu da uygulama şeklinin toksisite için önemli olduğunu ve oral alımın sistemik alımdan daha güvenli olduğunu gösterir (67). Timokinonun da yüksek dozda (LD_{50} 'si 90,3 mg/kg) intraperitoneal letal olduğu bildirilmiştir. Oral yolla ise LD_{50} si 2,4 gr/kg dır (76).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç ve yöntem

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışma Tıp Fakültesi Etik Kurulunda 15.06.2009 tarihli ve 06. 2009–5 karar nolu onay alınarak yapıldı. Çalışmaya alınan sıçanlarda deneylerin tüm aşamalarında hayvan hakları evrensel bildirgesi kurallarına uyuldu.

3.1.1. Çalışma tasarımı

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 200–250 gr arasında olan 50 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı ve her grupta 10'ar adet sıçan olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu. DMN ile siroz oluşturma modeli, Joseph'in modeline göre tasarlandı (97).

Kontrol grubu: Haftanın ardışık 3 gününde toplam 3 hafta boyunca intraperitoneal (ip.) olarak serum fizyolojik enjekte edildi. 3. hafta sonunda 10 gün boyunca normal yem ve su ile beslendikten sonra deney sonlandırıldı.

TQ grubu: Haftanın ardışık 3 gününde toplam 3 hafta boyunca %1'lik DMN 10 mg/kg ip. olarak enjekte edildi. 3. haftanın sonunda 10 gün boyunca 50 mg/kg/gün TQ gavaj yolu ile verildikten sonra deney sonlandırıldı.

Çörek otu tohumu grubu: Haftanın ardışık 3 gününde toplam 3 hafta boyunca %1'lik DMN 10 mg/kg ip. olarak enjekte edildi. 3. haftanın sonunda 10 gün boyunca hayvanın yemine 6.85 gr/kg/gün çörek otu ilave edilerek beslendikten sonra deney sonlandırıldı.

DMN grubu: Haftanın ardışık 3 gününde toplam 3 hafta boyunca %1'lik DMN 10 mg/kg ip. olarak enjekte edildi. 3. haftanın sonunda deney sonlandırıldı.

Çörek otu yağı grubu: Haftanın ardışık 3 gününde toplam 3 hafta boyunca %1'lik DMN 10 mg/kg ip. olarak enjekte edildi. 3. haftanın sonunda 10 gün boyunca 2.4 gr/kg/gün çörek otu yağı gavaj yolu ile verildikten sonra deney sonlandırıldı.

3.1.2. Hayvanların bakımı

Çalışmaya alınan hayvanlar 21 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusü olan bir ortamda tutuldu. Hayvanlar standart sıçan yemi ile beslendi. Çalışmaya başlamadan önce yapılan muayenede sağlık durumu elverişli olmayan sıçanlar çalışmanın dışında bırakıldı. Çalışma sonunda hayvanlara 50 mg/kg / ip. ketamin ile anestezi uygulandı.

3.1.3. Örneklerin alınımı

Örnekler toraks açılarak kalpten alındı. Alınan kanlar heparinli, EDTA'lı ve antikoagülansız tüplere konuldu. Daha sonra tüm hayvanlar dekapitasyonla sakrifiye edilerek karaciğerleri çıkartıldı. Karaciğer doku örneklerinin yarısı % 10' luk nötral tamponize formalin solüsyonunda patoloji inceleme için ayrıldı, geri kalan kısmı da biyokimyasal ölçümler için -85 °C'de saklandı.

Antikoagülansız tüplere alınan kanlar 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1000 g, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden alınan kandan hemoglobin ölçümü yapıldı. Hemoglobin düzeyi siyanomethemoglobin yöntemiyle "Sysmex (Roche)" cihazı ile ölçüldü. Heparinli tüpe alınan kan örnekleri de 1000 g, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazması ayrıldıktan sonra eritrosit paketleri hazırlanıp porsiyonlara ayrıldı ve analiz zamanına kadar -85 °C'de saklandı.

AST, ALT, ALP, GGT, total bilirubin (TB), direkt bilirubin (DB), total protein (TP) ve albumin (ALB) düzeyleri ticari kit (Cormay,Japonya) kullanılarak "Prestige 24i" (Japonya,Tokyo Boeki) cihazında ölçüldü. ALT, AST, GGT enzimatik-kolorimetrik, ALP, TBİL, DBİL, TP, ALB ise kolorimetrik metodla ölçüldü.

3.1.4. Karaciğerin histopatolojik değerlendirilmesi

Karaciğer doku örneklerinin yarısı %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisinde 24 saat fikse edildikten sonra doku örneklerinden en az 3 kesit alınarak sırasıyla alkol ve ksilol solüsyonlarından geçirilip parafin içerisine gömüldü. Parafin bloklar oluşturularak 5µ kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson-Trikrom boyaları ile histokimyasal boyamadan sonra ışık mikroskopu X400 büyütme ile incelendi. Preparatlar modifiye Knodell skorlamasına göre 6 puan üzerinden incelenerek değerlendirildi (98).

Tablo 2: Modifiye Knodell skorlaması

Değişiklik	Skor
Fibrozis yok	0
Bazı portal alanlarda kısa fibröz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme	1
Çoğu portal alanlarda kısa fibroz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme	2
Çoğu portal alanlarda kısa fibröz genişleme, nadir porto-portal köprüleşme	3
Portal alanlarda belirgin köprüleşme birlikte hem porto-portal hem porto-sentral köprüleşme	4
Nadir nodüllerle birlikte belirgin köprüleşme (porto-portal ve/veya porto-sentral köprüleşme) (inkomplet siroz)	5
Diffüz fibrözis ve nodül oluşumu (siroz)	6

3.1.5. Gereçler

Santrifüj: Nüve NF 800R, Türkiye

Benmari: BM 402 ve Clifton Türkiye

Spektrofotometre: Shimadzu UV-1601 Japonya

Vortex: Janke-Kunkel VF 2 Almanya

Soğutucu: Sanyo Ultra Low Japonya

Homojenizatör: Heidolp, 24000 devir/dk, Almanya

Elektronik hassas terazi: TE2145 Sartorius, Almanya

3.1.6. Kullanılan kimyasallar

Timokinon: (İnterlab)

Çörek otu tohumu: (Origo)

Çörek otu yağı (Soğuk pres.): Origo

Coomassie Blue G Merck

Etanol (Merck)

Orto-fosforik asit (Atabay kimya)

Ksantin: (Sigma)

XO: Ksantin oksidaz (Sigma)
 Na₂EDTA: Disodyum etilen diamintetra asetik asit (Sigma)
 NBT: Nitro blue tetrazolium klorid (Merck)
 Na₂CO₃: Sodyum karbonat (Merck)
 BSA: Bovin serum albümin (Fluka)
 (NH₄)₂SO₄: Amonyum sülfat (Merck)
 CuCl₂:Bakır (II) klorür (Fluka)
 NaCl: Sodyum klorür (Merck)
 Na₂ HPO₄ : Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
 NaH₂ PO₄: Sodyum dihidrojen fosfat (Riedel)
 BHT: Butil hidroksi toluen (Merck)
 TCA: Triklorasetik asit (Merck)
 TBA: Tiyobarbitürük asit (Sigma)
 NaOH: Sodyum hidroksit (Sigma)
 SDS: Sodyum dodesil sülfat (Merck)
 Asetik asit: (Merck)
 1-Butanol: (Merck)
 Piridin: (Fluka)
 GSH: Glutasyon (Sigma)
 NaN₃: Sodyum azid (Merck)
 NADPH: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (Sigma)
 GSH-Redüktaz: GRD (Sigma)
 H₂O₂: Hidrojen peroksit (Sigma)
 KH₂PO₄: Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)

3.1.7. Dokunun alınması ve hazırlanması

Sıçanlara ait karaciğer doku örnekleri derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığında gelmeleri sağlandı ve serum fizyolojikle yıkanıp kurulandıktan sonra, 1 gr doku tartıldı ve üzerine 9 hacim %0.9 NaCl ilave ederek 1:10 sulandırıldı (w/v) ve homojenizatör yardımıyla 1 dakika boyunca doku homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri buzla soğutulmuş ortamda yapıldı. Daha sonra homojenat +4°C'de 10.000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant biyokimyasal parametreler ölçülene kadar -85 °C' de saklandı.

3.1.8. Hemolizat hazırlanışı

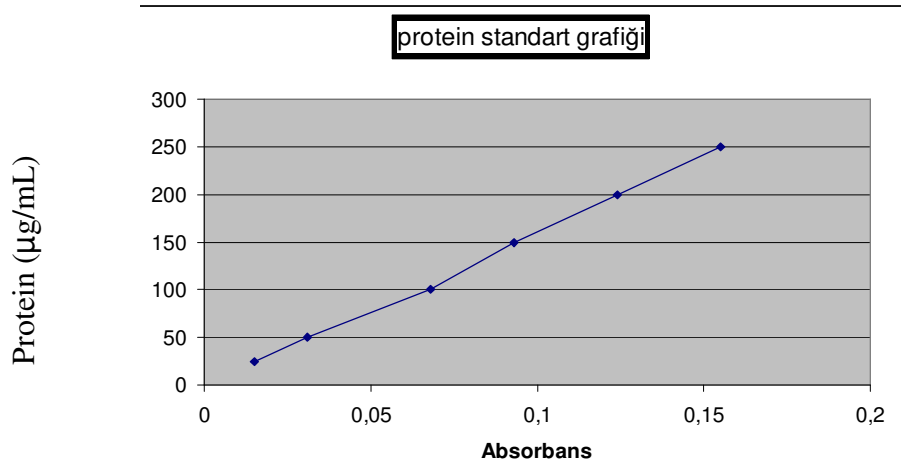
Heparinli tam kan tüplerine alınan kanlar 1000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek plazması atıldı. Eritrositlerin üzerine soğuk serum fizyolojik ilave edildi. Tüpün kapağı kapatılarak birkaç kez alt üst edildi. Sonra 1000 g'de, +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki faz pipetle ayrılıp atıldı. Bu işlem üç kez tekrar edildi ve hazırlanan hücre paketinden 0.1 mL alınıp 4.9 mL buz steril distile su ile karıştırıldı ve karışım vorteksledikten sonra 1 saat 4 °C' buzdolabında bekletildi ve 1000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısımdan alındı ve porsiyonlara ayrılarak analiz edinceye kadar -85 °C de saklandı.

3.1.9. Protein tayini

Karaciğer dokusu için protein tayini Bradford yöntemiyle çalışıldı (99). Standart eğri için sıgır serum albumini ihtiva eden 25–300 µg'lık seri çözeltiler hazırlandı. 0.1 mL çözelti, 5 mL Coomassie blue G boya reaktifine katıldı. 5 dakika sonra 595 nm'de absorbansı ölçüldü (Grafik 1).

Coomassie blue G boya reaktifi:

100 mg Coomassie blue G alındı, 50 mL %95'lik etil alkol içinde çözüldü. Bu solüsyona 100 mL (%85'lik) fosforik asit H_3PO_4 ilave edildi ve toplam hacim distile su 1000 mL'ye tamamlandı.



Grafik 1:Doku protein düzeyinin saptanmasında kullanılan standart eğri grafiği (µg/mL)

3.1.10. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini

Kullanılan Reaktifler

1. 0.3 mmol/L ksantin: 9.13 mg ksantin bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 200 mL'ye tamamlandı.
 2. 0.6 mmol/L etilendiamin tetraasetik asit-2 Na tuzu (EDTA): 25 mg EDTA bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
 3. 150 µmol/L nitrobluetetrazolyum (NBT): 12.3 mg NBT bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
 4. 400 mmol/L Na₂CO₃: 2.54 gr Na₂CO₃ bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 60 mL'ye tamamlandı.
 5. 1 gr/L bovin serum albumin (BSA): 30 mg BSA üzerine yaklaşık 15 mL distile su ilave edildi. Köpürmeden alt üst edilerek karıştırıldı. Son hacim distile su ile 30 mL'ye tamamlandı. Işık geçirmeyen şişede +4° C' de saklandı.
- İlk beş çözeltinin yukarda belirlenen miktarları karıştırılarak ölçüm reaktifi hazırlandı. Koyu renkli şişede, +4 °C' de saklandı.
6. 2 mol/L (NH₄)₂SO₄: 2.64 gr (NH₄)₂SO₄ alınıp 10 mL distile suda çözüldü.
 7. 167 U/L ksantin oksidaz (XO): Enzim çözeltisi çalışma esnasında hazırlandı. Bunun içinden 10 µL XO alınıp üzerine, 2 mol/L'lik (NH₄)₂SO₄ çözeltisinden 1 mL eklendi. Tüp birkaç kez altüst edilerek karıştırıldı.

Testin prensibi: SOD aktivitesi, Sun ve ark. tarafından tanımlanan (100), NBT indirgenmesi yöntemiyle çalışıldı. Reaktif içerisinde bulunan ksantin, ksantin oksidaz tarafından hipoksantine oksitlenirken ortaya çıkan süperoksit radikali numunede mevcut SOD için substrat görevi görür. Ortamda bulunan süperoksit radikali NBT'yi indirgeyerek mavi renkli formazan oluşur. Oluşan bu formazanın 560 nm'de absorbansı ölçüldü.

Tablo 3: SOD çalışma şeması

	Kör (mL)	Numune (mL)
Substrat solüsyonu	2.45	2.45
Süpernatant		0.5
Distile su	0.5	
XO	0.05	0.05
Tüpler oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir		

SOD aktivitesinin hesaplanması

Bir SOD Ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}] \times 100$$

$A_{\text{kör}}$: Körün absorbansı

A_{numune} : Numunenin absorbansı

$$\text{Aktivite (U/mL)} = [(\% \text{ inhibisyon} / 50 \times 0.5) \times \text{Dilüsyon Faktörü}]$$

$$\text{Spesifik Aktivite (U/mg protein)} = [(U/mL) / (mg/mL \text{ protein})]$$

$$\text{SOD aktivitesi (U /mg Hb)} = [\text{SOD aktivitesi (U /mL)} / \text{Hb değeri (mg/mL)}]$$

3.1.11. Eritrositlerde malondialdehid ölçümü

Eritrositlerde MDA Jain ve ark. (101) tarafından tanımlanan tiyobarbitürik asit metodu esas alınarak yapılmıştır. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA içeriği ölçülmesinde MDA'nın TBA ile reaksiyona girmesi esas alınır. Yöntem MDA ile tiyobarbitürik asidin (TBA) oluşturduğu pembe renkli bileşiğin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanır.

Deneyde kullanılan çözeltiler:

1-Fosfat Tamponu pH:7.4

NaCl, 8.1 gr

Na_2HPO_4 2.302 gr

NaH_2PO_4 0.194 gr

Distile su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

2-BHT çözeltisi (%0.88): 88 mg BHT tartılıp, 10 mL %96 alkol içinde çözüldü.

3-TCA çözeltisi (%30): 30 gr TCA tartılıp bir miktar suda eritilerek ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4- EDTA çözeltisi (0.1 M): EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 37.224 gr tartılıp distile su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

5-TBA çözeltisi (%1'lik): 1 gr TBA tartılıp, 100 mL 0.05 N NaOH içinde eritildi.

6-NaOH çözeltisi (0.05 N): 2 gr NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözünür son hacim 1000 mL'ye tamamlandı.

Tablo 4: MDA çalışma şeması

Çözeltiler	Tüpler (mL)
Hemolizat (örnek)	0.2
BHT	0.025
TCA	0.5
Fosfat Tamponu	0.8

Tüpler buz içinde 2 saat bekletildikten sonra 500 g' de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edilip oluşan süpernatandan her bir örnek için 1 mL tüplere alındı.

Çözeltiler	Tüpler (mL)
EDTA	0.075
TBA	0.25

15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Daha sonra spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda absorbanları okundu.

Hesaplama:

Elde edilen absorban değerleri ekstinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 / \text{cm M}$) ile hesaplandı. Değerler nmol/mg Hb cinsinden ifade edildi.

3.1.12. Dokuda MDA ölçümü

Testin Prensibi

Ohkawa ve ark.'nın tanımladığı metoda göre hazırlanmıştır (102). Bu metod da MDA'nın tiyobarbitürik asitle reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda maksimum absorban vermesi prensibine dayanır.

Ayıraçlar

1.%8.1'lik SDS: Sodyum dodesil sülfat (SDS) 8.1 gr tartılıp, distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2.%20'lik Asetik asit: Asetik asit 20 mL alınıp, distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.%0.8'lik TBA: Tiyobarbitürik asit 0.8 gr gr tartılıp, distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Doymuş NaOH ile pH:3.5'e ayarlandı.

4.n-bütanol / pridin (nB / Pri) Çözeltisi (v/v; 15/1)

Tablo 5: MDA çalışma şeması

Çözelti	Tüpler (mL)
Doku homojenatı	0.2
Sodyum dodesil sülfat	0.2
Asetik asit	1.5
Tiyobarbitürik asit	1.5

Bu reaksiyon karışımı distile su ile 4 mL'ye tamamlandı.

95 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

Tüpler soğutuldu ve her tüpe 1 mL distile su ilave edildi.

Her tüpe 5 ml butanol-pridin çözeltisi kondu.

Karışım vortekslendi.

3000 g'de 10 dakika santrifüj yapılarak tüpün üst kısmında bulunan süpernatant spektrofometrik ölçüm için kullanıldı.

Her örneğin absorbansı 532 nm dalga boyunda ölçüldü.

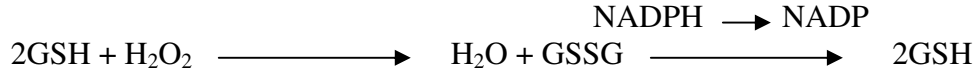
Hesaplama

Elde edilen absorbans değerleri molar ekstinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 / \text{cm M}$) kullanılarak hesaplandı. Değerler nmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.1.13. Glutatyon peroksidaz aktivitesinin tayini

Testin prensibi

GSH-PX Pagli ve Valentina metoduna uygun olarak ölçüldü (103). Bu metod da, ortamda bulunan GSH-Px enziminin kataliziyle H_2O_2 'nin H_2O ve oksijen (O_2) çevrilmesi ve bunun da redükte GSH'ı okside GSH'a (GSSG) çevirmesi prensibine dayanmaktadır.



Enzim ünitesi: Birim zamanda okside olan NADPH'ın mikromol miktarıdır.

Glutatyon peroksidaz tayininde kullanılan çözeltiler

1. GSH (150 mM): 50 mg GSH 1 mL tamponda çözüldü.
2. NaN_3 (1 mM): 65 mg NaN_3 1mL tamponda çözüldü.
3. NADPH (3 mM): 5 mg NADPH alındı, 1mL tamponda çözüldü.
4. GSH-Redüktaz: 30 mg enzim 1 mL 3.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ile çözümlenerek kullanıldı.
5. H_2O_2 (50 mM): 15 μL H_2O_2 alınıp, 5 mL tampona konuldu.
6. Tampon (pH: 7) 50 mM fosfat tamponu:
 A: Na_2HPO_4 :50 mM, 7.1 gr/L B: KH_2PO_4 :50 mM, 6.8 gr/L
 600 mL A + 400 mL B + 2.08 gr Na_2EDTA şeklinde hazırlandı

Tablo 6: GSH-Px çalışma şeması

Reaktifler	Tüpler (mL)
Fosfat Tamponu	2.65
Redükte GSH	0.1
NADPH	0.1
GRD	0.01
NaN_3	0.01
Numune	0.02
Karıştırılıp 37 °C sıcaklıkta 30 dk inkübe edildi.	
H_2O_2	0.1

5 dk boyunca 340 nm' de meydana gelen absorbans azalması takip edilerek kaydedildi.

Hesaplama

1 Unite: Bir dakikada okside edilen NADPH'in mikromol cinsinden miktarıdır.

$$A/t \times V_t \times 10^6$$

$$U/L(\text{mikromol/dk/L}) = \frac{\quad}{\quad}$$

$$E \times V_s \times L$$

E = NADPH'in ekstinksiyon sabiti ($6.22 \times 10^3 \text{ L. mol}^{-1} . \text{cm}^{-1}$)

V_t = Total reaksiyon hacmi (mL)

V_s = Total reaksiyon içindeki numune hacmi (mL)

L=Küvet çapı cm

A/t = Dakikadaki absorbands değişimi

10⁶ = Molü mikromole çevrim sabiti

Spesifik aktivite (U /gr protein) = (U /L) / (gr/L protein)

U /gr Hb = U /mL enzim ak. / Hb (g/mL)

3.1.14. Verilerin istatistiksel analizi

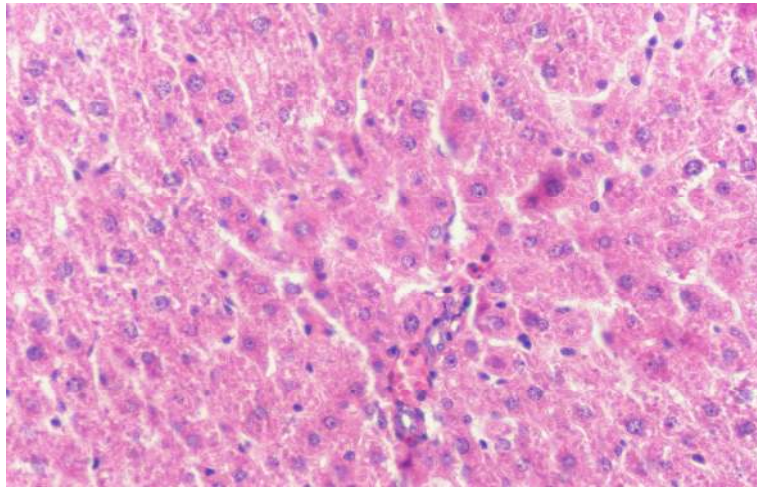
Çalışmanın istatistiksel değerlendirmeleri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 11 programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin normal dağılım sergileyip sergilemediğini incelemek için Kolmogorov Smirnov testi uygulandı. Grupların çalışılan tüm parametreleri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi ile karşılaştırıldı. Gruplara ait tüm değişkenlerin tanımlayıcı değerleri ortalama, standart hata, minimum ve maksimum olarak hesaplandı Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Bulgular

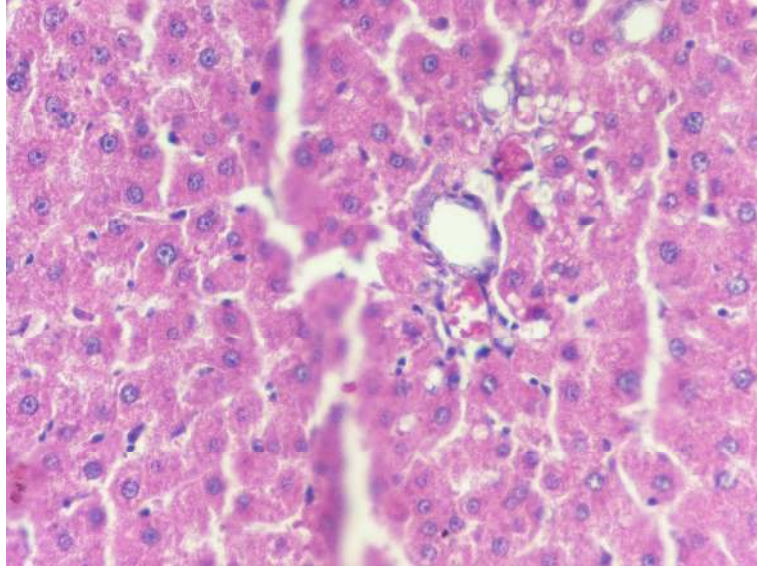
Çalışmaya alınan toplam 50 sıçandan 3 tanesi çalışma süresini tamamlanamadan öldü. Çalışma, geriye kalan 47 sıçanla yürütüldü.

Kontrol grubu: Çalışmaya 10 sıçanla başlandı ve 10 sıçanla tamamlandı. Çalışma sonuna dek sıçanlarda genel durumda bozulma, kilo kaybı gibi yan etkiler gözlenmedi. Çalışma sonunda patolojik incelemede normal karaciğer dokusu görüldü (Resim 2).

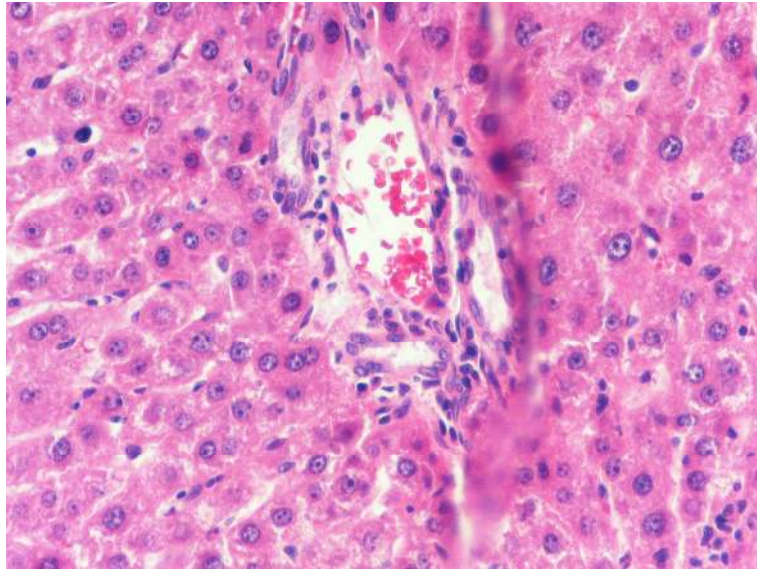


Resim 2: Knodell skorlamasına göre skor 0 olan karaciğer dokusu (X 400)

Timokinon grubu: Çalışmanın 10 sıçanla yapılması planlandı ancak 2 sıçana herhangi bir enjeksiyon yapılmadan çalışma günü kafesinde ölü bulunduğundan çalışma 8 sıçan ile yürütüldü. Çalışma sonuna kadar sıçanlarda genel durumda bozulma, kilo kaybı gibi yan etkiler gözlenmedi. Çalışma sonunda patolojik incelemede normal karaciğer dokusu (skor 0, Resim 3) ve bazı portal alanlarda kısa fibroz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme görüldü (skor 1, Resim 4).



Resim 3: Knodell skorlamasına göre skor 0 olan karaciğer (X 400)

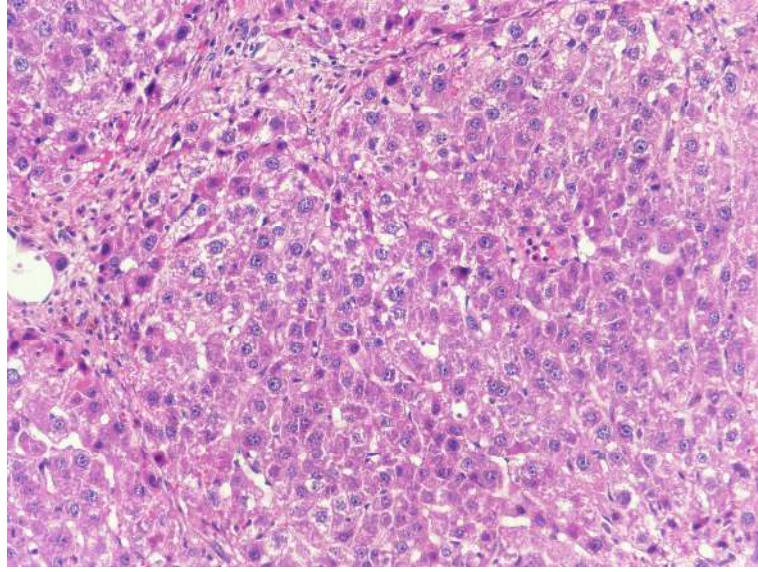


Resim 4: Knodell skorlamasına göre skor 1 olan karaciğer (X 400)

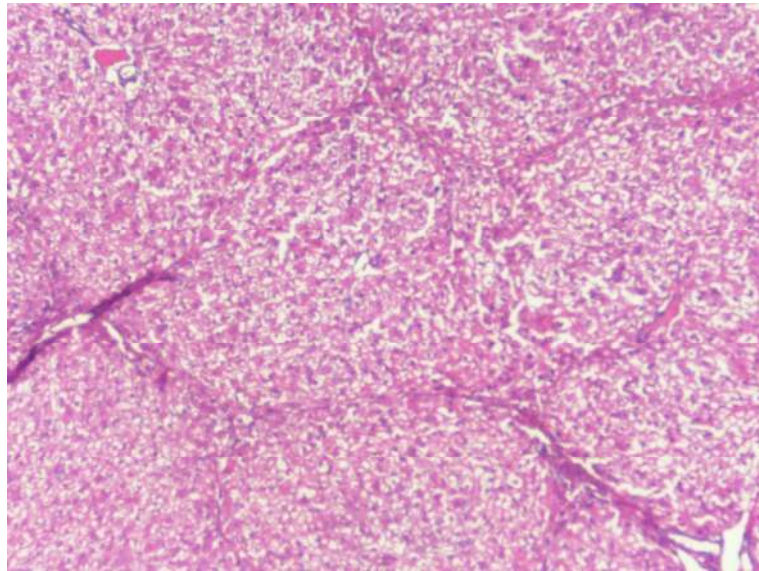
Çörek otu tohumu grubu: Çalışmanın 10 sıçanla yapılması planlandı ancak 1 sıçana herhangi bir enjeksiyon yapılmadan çalışma günü kafesinde ölü bulunduğundan çalışma 9 sıçan ile yürütüldü. Çalışma sonuna kadar sıçanlarda genel durumda bozulma, kilo kaybı gibi yan etkiler gözlenmedi. Çalışma sonunda patolojik incelemede normal

karaciğer dokusu (skor 0, Resim 2) ve bazı portal alanlarda kısa fibroz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme görüldü (skor 1, Resim 3).

DMN grubu: Çalışmanın 10 sıçanla yapılması planlandı ve 10 sıçanla tamamlandı. Çalışma sonuna kadar sıçanlarda genel durumda bozulma, kilo kaybı gibi yan etkiler gözlenmedi. Çalışma sonunda patolojik incelemede portal alanlarda belirgin köprüleşme birlikte hem porto-portal hem porto-sentral köprüleşme (skor 4, Resim 5) ve nadir nodüllerle birlikte belirgin köprüleşme ile birlikte inkomplet siroz olduğu görüldü (skor 5, Resim 6)



Resim 5: Knodell skorlamasına göre skor 4 olan karaciğer dokusu(X 200)



Resim 6: Knodell skorlamasına göre skor 5 olan karaciğer dokusu (X 100)

Çörek otu yağı grubu: Çalışmanın 10 sıçanla yapılması planlandı ve 10 sıçanla tamamlandı. Çalışma sonuna kadar sıçanlarda genel durumda bozulma, kilo kaybı gibi yan etkiler gözlenmedi. Çalışma sonunda patolojik incelemede normal karaciğer dokusu (skor0, Resim 3) ve bazı portal alanlarda kısa fibroz, septumlu veya septumsuz fibröz genişleme görüldü (skor 1, Resim 4).

4.1.1. Fibrozis

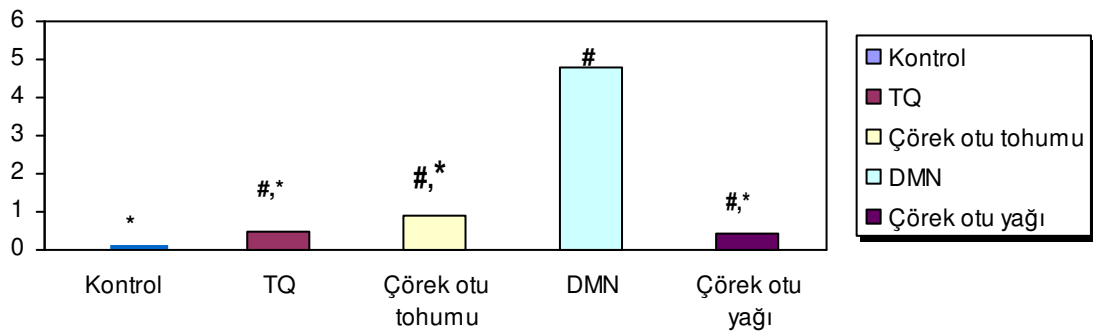
Kontrol grubuna göre tüm gruplarda fibrozis skor ortalamasında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (Şekil 2, Tablo 7, TQ grubu $p<0.01$, çörek otu yağı grubu $p<0.05$, çörek otu tohumu ve DMN grupları $p<0.001$) .

DMN grubuna göre tüm grupların fibrozis skor ortalamasında istatistiksel anlamlı bir azalış saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarının fibrozis skor ortalaması artmış olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 7: Grupların fibrozis skorlamaları

Gruplar	Denek sayısı	Fibrozis skor ortalama $\pm$ std.hata	p (Kontrol grubuna göre)	p (DMN grubuna göre)
Kontrol	10	0 $\pm$ 0		p=0.001
TQ	8	0.5 $\pm$ 0.164	p=0.01	P=0.001
Çörek otu t.	9	0.88 $\pm$ 0.111	p=0.001	p=0.001
DMN	10	4.80 $\pm$ 0.133	p=0.001	
Çörek otu yağı	10	0.40 $\pm$ 0.163	P=0.027	p=0.001



Şekil 2: Grupların fibrozis skorları

#: Kontrol grubuna göre (TQ grubu $p<0.01$, çörek otu yağı grubu $p<0.05$, çörek otu tohumu ve DMN grubu $p<0.001$)

*: DMN grubuna göre ($p<0.001$)

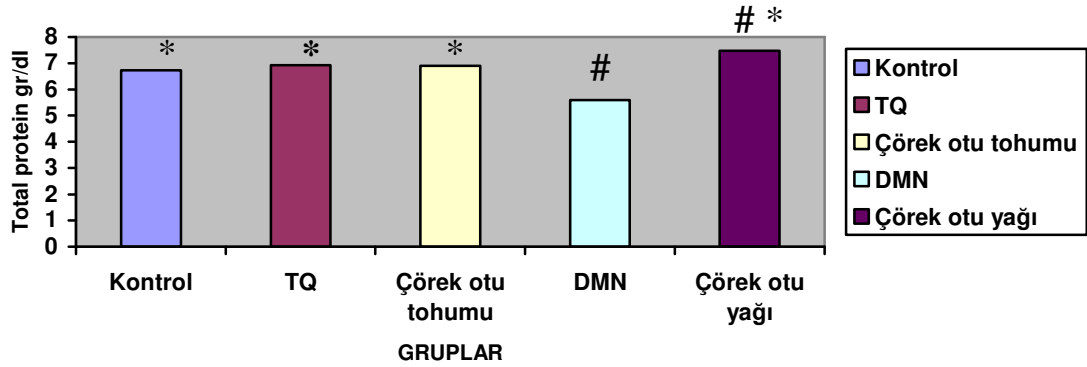
4.1.2. Biyokimyasal değerler

4.1.2.1. Total protein

Kontrol grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarının TP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış saptanırken, çörek otu yağında bu artış istatistiksel olarak anlamlı olduğu, DMN grubunda da istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (Tablo 8, Şekil 3, çörek otu yağı grubu $p<0.01$, DMN grubu $p<0.001$).

DMN grubuna göre diğer tüm gruplardaki TP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulundu ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarındaki TP düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı azalış olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Şekil 3: Grupların serum total protein düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre (çörek otu yağı grubu $p<0.01$, DMN grubu $p<0.001$)

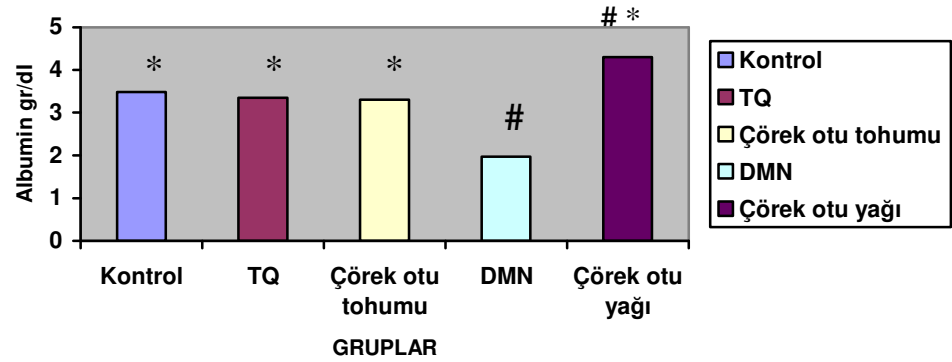
*: DMN grubuna göre ($p<0.001$)

4.1.2.2 Albumin

Kontrol grubuna göre çörek otu yağı grubundaki serum albumin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu, DMN grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi (Tablo 8, Şekil 4, $p<0.001$).

DMN grubuna göre diğer grupların serum albumin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarında serum albumin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0.001$).



Şekil 4: Gruplarının serum albumin düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p < 0.001$)

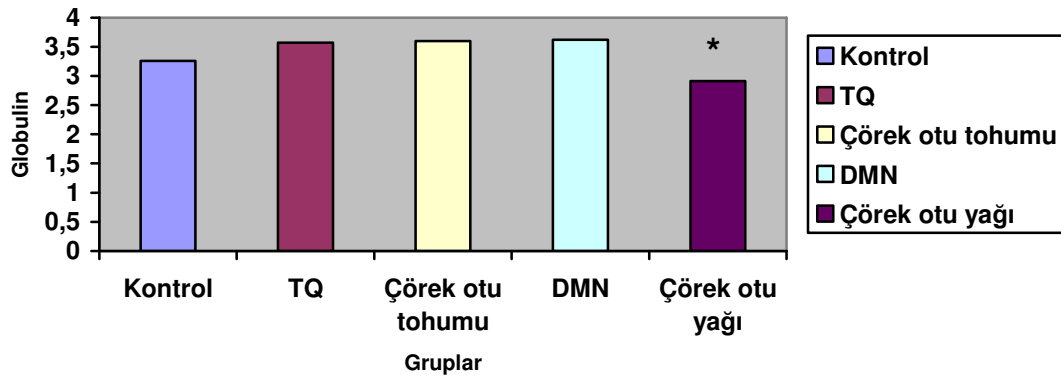
*: DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

4.1.2.3. Globulin

Kontrol grubuna göre TQ, çörek otu tohumu ve DMN gruplarında serum globulin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış saptandı (Tablo 8, Şekil 5, $p > 0.05$).

DMN grubuna göre kontrol, TQ, çörek otu tohumu ve çörek otu yağı gruplarındaki serum globulin düzeylerinde azalma olduğu bu azalmanın çörek otu yağı grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.05$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ, çörek otu tohumu ve DMN grubunda serum globulin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 5: Gruplarının serum globulin düzeyleri

*: DMN grubuna göre ($p < 0.05$).

4.1.2.4. Albumin / globulin oranı

Kontrol grubuna göre çörek otu yağı grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken, DMN grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (Tablo 8, çörek otu yağı grubunda $p<0.001$, DMN grubunda $p<0.05$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı (kontrol ve çörek otu yağı grupları $p<0.001$, TQ ve çörek otu tohumu grupları $p<0.05$).

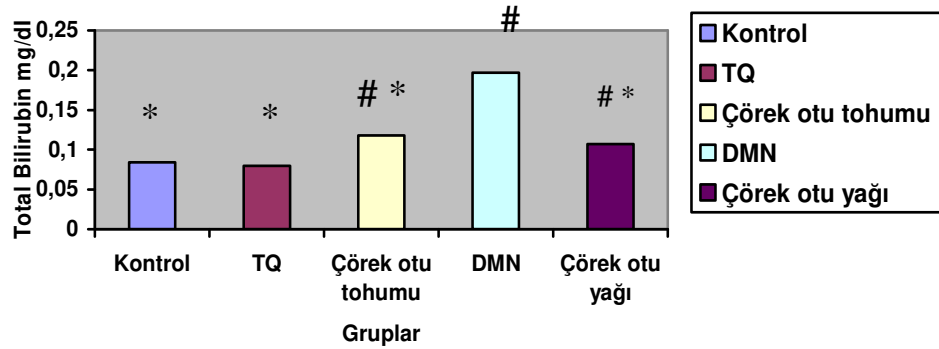
Çörek otu yağı grubuna göre tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (kontrol $p<0.05$, diğer gruplar $p<0.001$).

4.1.2.5. Bilirubin

Kontrol grubuna göre çörek otu tohumu, DMN ve çörek otu yağı gruplarındaki serum TBİL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı (Tablo 8, Şekil 6, çörek otu tohumu, DMN gruplarında $p<0.001$, çörek otu yağı $p<0.01$).

DMN grubuna göre diğer tüm grupların serum TBİL düzeylerin de istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ' daki serum TBİL düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu belirlendi ($p<0.01$).



Şekil 6: Gruplarının serum total bilirubin düzeyleri

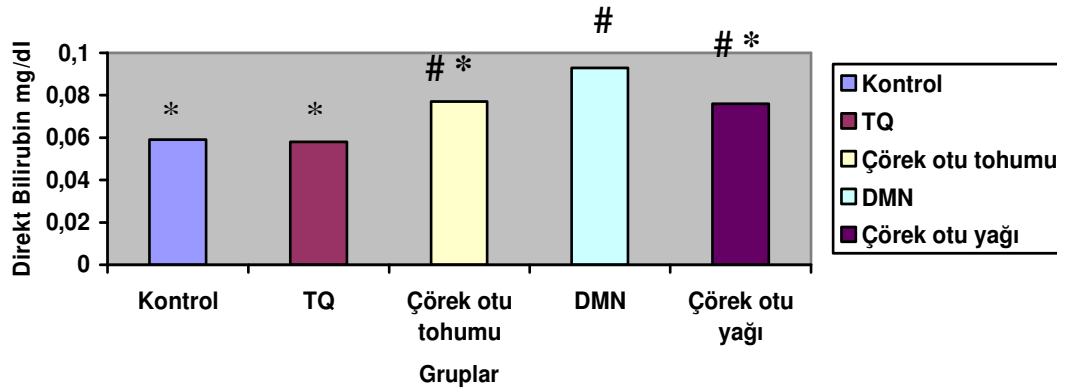
#: Kontrol grubuna göre (çörek otu tohumu, DMN gruplar $p<0.001$, çörek otu yağı grubu $p<0.01$)

*: DMN grubuna göre ($p<0.001$).

Kontrol grubuna göre çörek otu tohumu, DMN ve çörek otu yağı gruplarındaki serum DBİL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı ($p<0.001$, Şekil 7).

DMN grubuna göre tüm gruplardaki serum DBİL düzeylerin de istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı (çörek otu tohumu grubu $p<0.01$, TQ, DMN ve çörek otu yağı grupları $p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ grubundaki serum DBİL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.001$).



Şekil 7: Gruplarının serum direkt bilirubin düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p<0.001$)

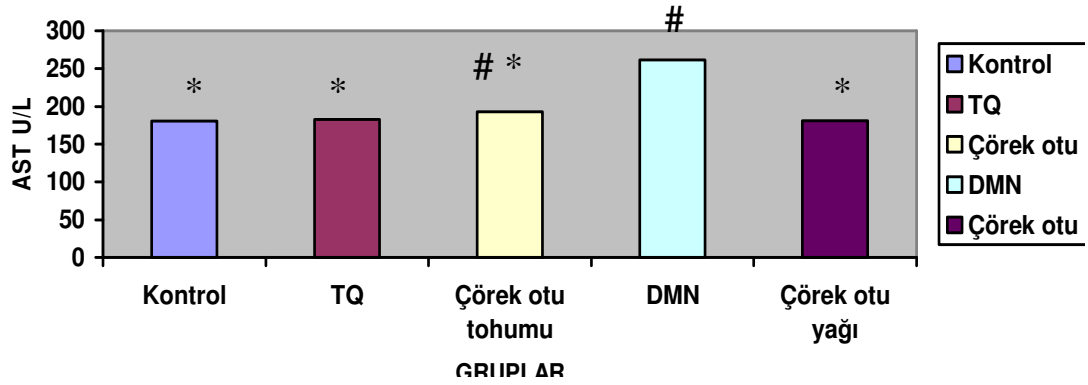
*: DMN grubuna göre (kontrol, TQ ve çörek otu yağı grupları $p<0.001$, çörek otu tohumu grubu $p<0.01$).

4.1.2.6. Aspartat aminotransferaz (AST)

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda serum AST düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın çörek otu tohumu ve DMN' de istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Tablo 8, Şekil 8, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda serum AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ grubundaki serum AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış olduğu saptandı ($p > 0.05$).



Şekil 8: Grupların serum AST düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p < 0.001$)

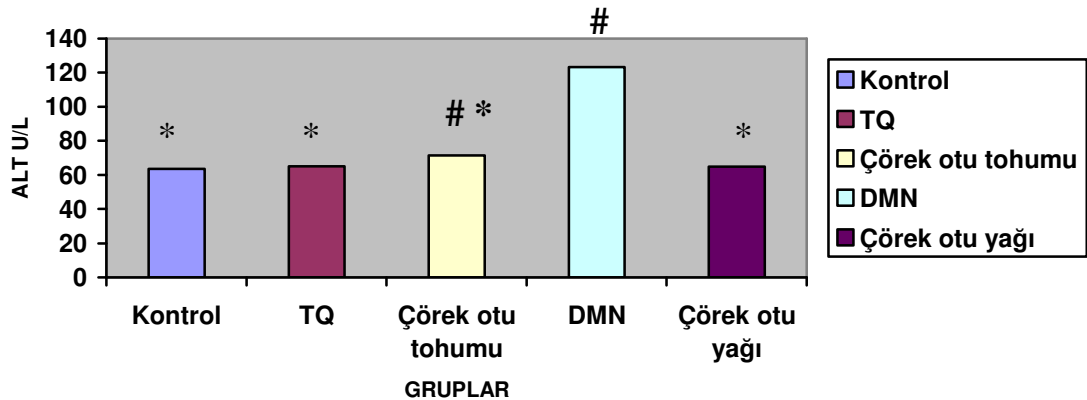
* : DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

4.1.2.7. Alanin aminotransferaz (ALT)

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda serum ALT düzeylerinin artmış olduğu, bu artışın çörek otu tohumu ve DMN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Tablo 8, Şekil 9, çörek otu tohumu grubu $p < 0.01$, DMN grubu $p < 0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda serum ALT düzeylerinin de istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu ($p < 0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarındaki serum ALT düzeylerinde artış olmakla birlikte bu artışın çörek otu tohumu grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 9: Gruplarının serum ALT düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre (çörek otu tohumu grubu $p < 0.01$, DMN grubu $p < 0.001$)

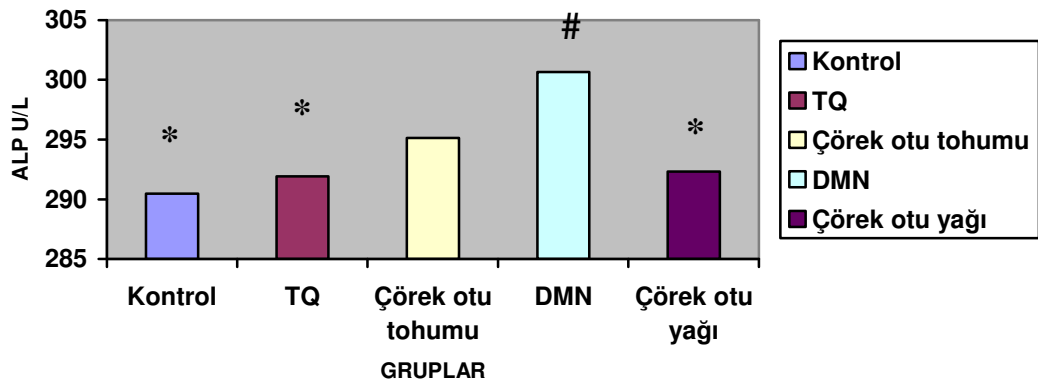
*: DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

4.1.2.8. Alkalen fosfataz (ALP)

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda serum ALP düzeylerinin artmış olduğu bu artışın DMN grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Tablo 8, Şekil 10, $p<0.01$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda serum ALP düzeylerinin azalmış olduğu bu azalışın kontrol, TQ ve çörek otu yağı verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (kontrol grubu $p<0.01$, TQ ve çörek otu yağı grubu $p<0.05$).

Çörek otu yağı grubu ile TQ grubu karşılaştırıldığında serum ALP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$)



Şekil 10: Gruplarının serum ALP düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p<0.01$)

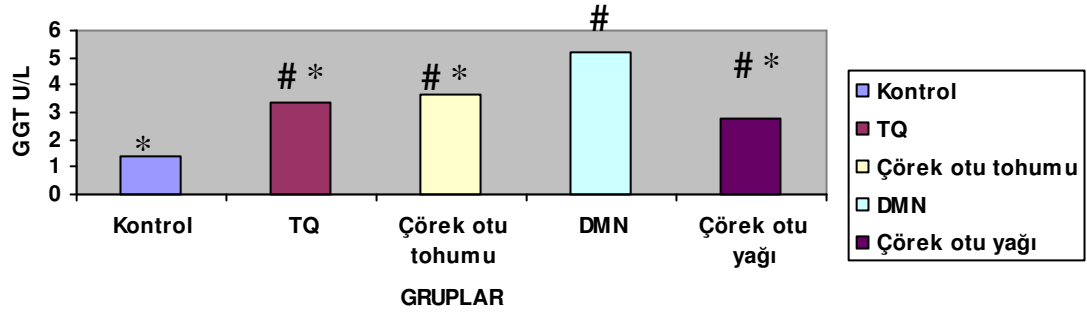
*: DMN grubuna göre (kontrol $p<0.01$, TQ ve çörek otu yağı $p<0.05$)

4.1.2.9. Gama glutamiltransferaz (GGT)

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda serum GGT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulundu (Tablo 8, Şekil 11, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda serum GGT düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu grubunun serum GGT düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı (TQ grubu $p<0.05$, çörek otu tohumu grubu $p<0.001$).



Şekil 11: Gruplarının serum GGT düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p < 0.001$)

*: DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

Tablo 8: Grupların biyokimyasal değerleri

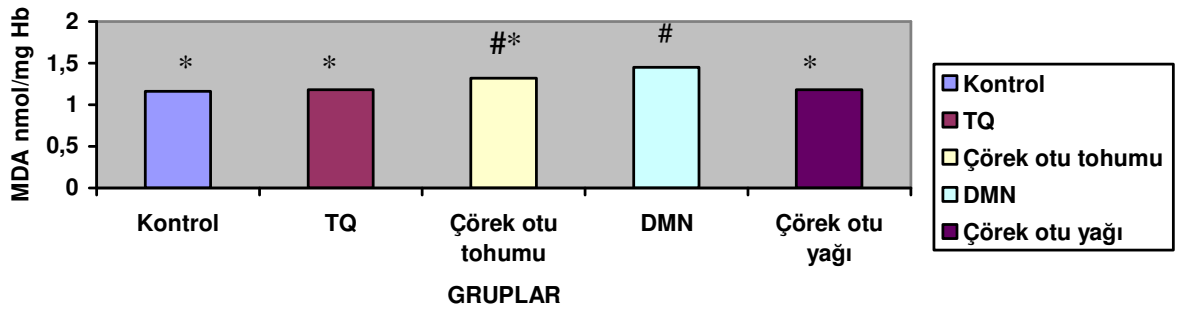
	Gruplar	N	Ort±std hata	Min.	Max	p (Kontrol'e göre)	p(DMN'e göre)
Total Protein (gr/dL)	Kontrol	10	6.73±0.285	5.8	9		p=0.001
	TQ	8	6.92±0.119	6.50	7.60	p=0.448	p=0.001
	Çörek otu t.	9	6.90±0.203	5.8	7.90	p=0.494	p=0.001
	DMN	10	5.59±0.093	5	6	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	7.48±0.046	7.3	7.80	p=0.003	p=0.001
Albumin (gr/dL)	Kontrol	10	3.48±0.186	1.90	4.10		p=0.001
	TQ	8	3.35±0.174	2.40	4.10	p=0.602	p=0.001
	Çörek otu t.	9	3.30±0.264	1.90	5	p=0.456	p=0.001
	DMN	10	1.97±0.036	1.80	2.10	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	4.30±0.125	3.80	5.00	p=0.001	p=0.001
Globulin	Kontrol	10	3.26±0.338	2.01	5.30		p=0.213
	TQ	8	3.57±0.166	2.70	4.10	p=0.308	p=0.873
	Çörek otu t.	9	3.60±0.189	2.30	4.50	p=0.256	p=0.937
	DMN	10	3.62±0.08	3.24	3.99	p=0.213	
	Çörek otu yağı	10	2.91±0.140	2	3.40	p=0.214	p=0.015
Albumin/globulin	Kontrol	10	1.18±0.141	0.38	2.04		p=0.001
	TQ	8	0.96±0.096	0.59	1.52	p=0.179	p=0.012
	Çörek otu t.	9	0.94±0.107	0.51	1.52	p=0.135	p=0.013
	DMN	10	0.54±0.013	0.49	0.6	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	1.53±0.135	1.15	2.50	p=0.026	p=0.001
Total Bilirubin (mg/dL)	Kontrol	10	0.08±0.003	0.07	0.10		p=0.001
	TQ	8	0.08±0.004	0.06	0.1	p=0.639	p=0.001
	Çörek otu t.	9	0.11±0.005	0.10	0.16	p=0.001	p=0.001
	DMN	10	0.19±0.007	0.16	0.23	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	0.1±0.006	0.09	0.15	p= 0.006	p=0.001
Direkt Bilirubin (mg/dl)	Kontrol	10	0.05±0.003	0.04	0.7		p=0.001
	TQ	8	0.05±0.004	0.04	0.8	p=0.960	p=0.001
	Çörek otu t.	9	0.07±0.002	0.07	0.09	p=0.001	p=0.003
	DMN	10	0.09±0.003	0.08	0.11	p= 0.001	
	Çörek otu yağı	10	0.07±0.004	0.06	0.10	p= 0.001	p=0.001
AST (U/L)	Kontrol	10	180.54±2.42	170.70	197.30		p=0.001
	TQ	8	182.96±1.69	175	191.90	p=0.520	p=0.001
	Çörek otu t.	9	193.26±1.68	185	202	p=0.001	p=0.001
	DMN	10	261.58±4.15	231.40	277	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	181.04±1.30	176	190	p=0.888	p=0.001
ALT (U/L)	Kontrol	10	63.43±1.51	56.40	73.30		p=0.001
	TQ	6	65.10±1.51	57.40	71.70	p=0.573	p=0.001
	Çörek otu t.	9	71.45 ±0.73	69	75	p=0.007	p=0.001
	DMN	10	123.20±3.57	114	152	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	64.7±0.96	59	69	p=0.628	p=0.001
ALP (U/L)	Kontrol	10	290.47±2.10	280	299.20		p=0.005
	TQ	8	291.90±1.56	284	297	p=0.698	p=0.021
	Çörek otu t.	9	295.11±3.12	280	316	p=0.198	p=0.125
	DMN	10	300.66±3.62	290	326	p=0.005	
	Çörek otu yağı	10	292.3±0.93	289	297	p=0.599	p=0.020
GGT (U/L)	Kontrol	10	1.42±0.07	1.10	1.80		p=0.001
	TQ	8	3.35±0.15	2.50	3.90	p=0.001	p=0.001
	Çörek otu t.	9	3.68±0.28	2.30	4.80	p=0.001	p=0.001
	DMN	10	5.21±0.16	4.40	5.80	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	2.80±0.06	2.30	3.10	p=0.001	p=0.001

4.1.3. Eritrosit MDA düzeyleri

Kontrol grubuna göre diğer gruplardaki eritrosit MDA düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın çörek otu tohumu ve DMN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Tablo 9, Şekil 12, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda eritrosit MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (tümü için $p<0.001$).

Çörek otu yağı grubu ile TQ grubunun eritrosit MDA düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Çörek otu yağı grubuna göre çörek otu tohumu grubundaki eritrosit MDA düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı artış oldu tespit edildi ($p<0.001$).



Şekil 12: Grupların eritrosit MDA düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre (çörek otu tohumu ve DMN grubu $p<0.001$)

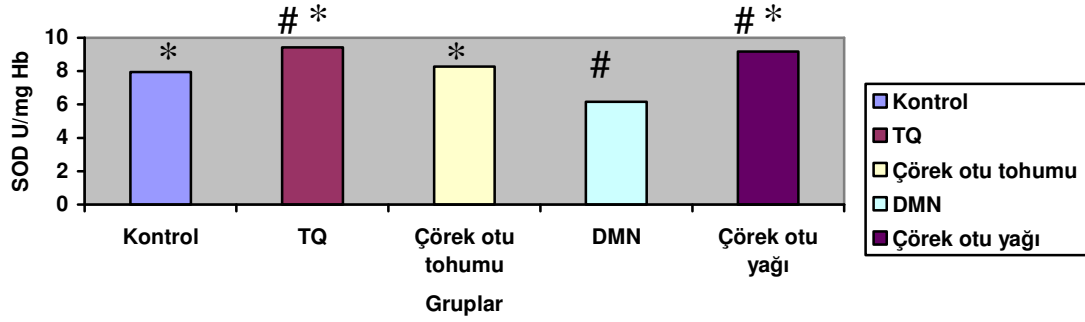
*: DMN grubuna göre ($p<0.001$)

4.1.4. Eritrosit SOD düzeyleri

Kontrol grubuna göre TQ, çörek otu tohumu ve çörek otu yağı gruplarındaki eritrosit SOD düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın TQ ve çörek otu yağı gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu, DMN grubunda da istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (Tablo 9, Şekil 13, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda eritrosit SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ grubundaki eritrosit SOD düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).



Şekil 13: Grupların eritrosit SOD düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p < 0.001$)

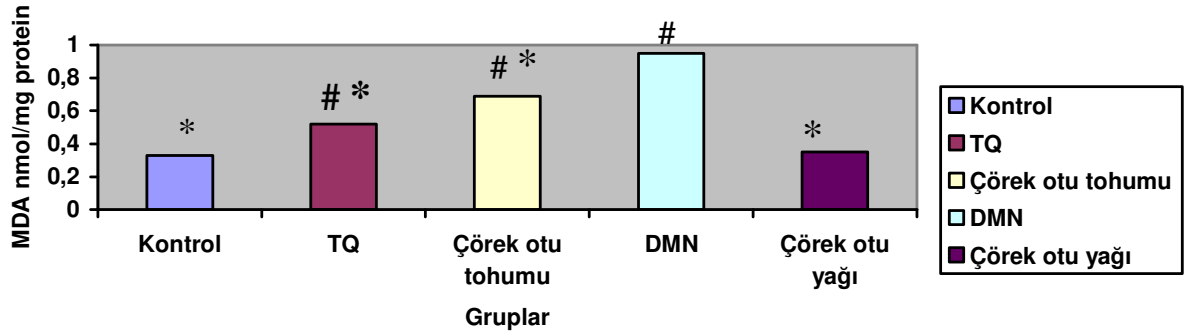
*: DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

4.1.5. Doku MDA düzeyleri

Kontrol grubuna göre tüm gruplarda doku MDA düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın TQ, çörek otu tohumu ve DMN grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (Tablo 9, Şekil 14, TQ grubu $p < 0.01$, çörek otu tohumu, DMN grubu $p < 0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda doku MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı ($p < 0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu doku MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi (TQ grubu $p < 0.05$, çörek otu tohumu grubu $p < 0.001$).



Şekil 14: Grupların karaciğer dokusu MDA düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre (TQ grubu $p < 0.01$, çörek otu tohumu grubu, DMN grubu $p < 0.001$)

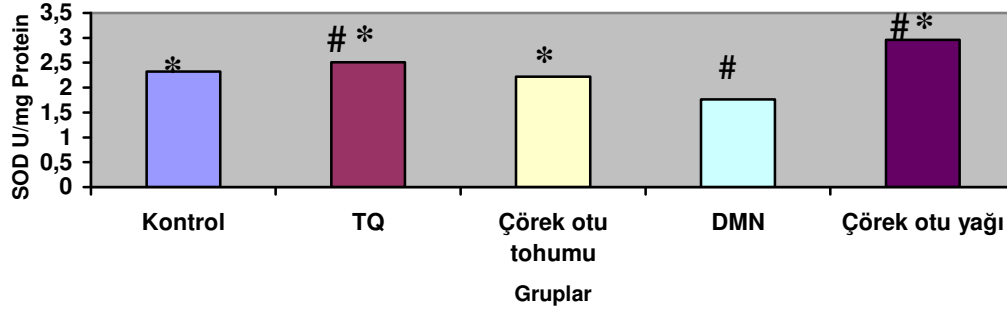
*: DMN grubuna göre ($p < 0.001$)

4.1.6. Doku SOD düzeyleri

Kontrol grubuna göre TQ ve çörek otu yağı gruplarındaki doku SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu, DMN grubunda da istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu saptandı (Tablo 9, Şekil 15, TQ grubu $p < 0.05$, çörek otu yağı grubu $p < 0.001$, DMN grubu $p < 0.05$).

DMN grubuna göre tüm gruplarda doku SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu saptandı ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarının doku SOD düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu ($p<0.001$).



Şekil 15: Grupların karaciğer dokusu SOD düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre (TQ grubu $p<0.05$, çörek otu yağı grubu $p<0.001$)

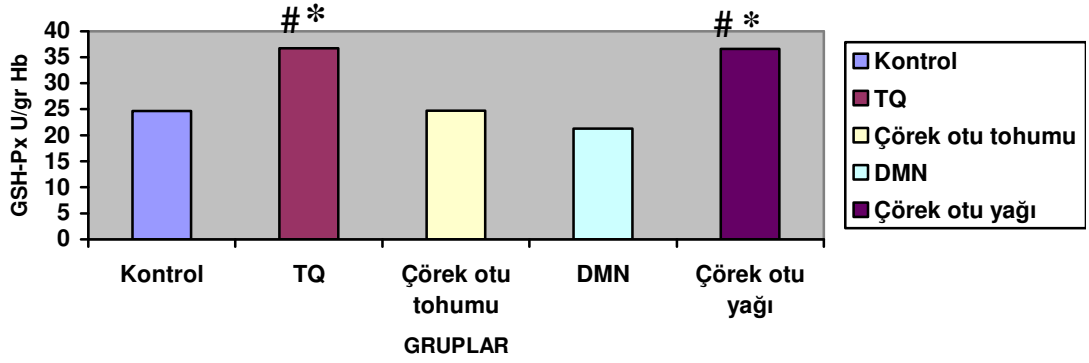
*: DMN grubuna göre ($p<0.001$)

4.1.7. Eritrosit GSH-Px düzeyleri

Kontrol grubuna göre TQ, çörek otu tohumu ve yağı gruplarındaki eritrosit GSH-Px düzeyleri artmış olmakla birlikte bu artışın TQ ve çörek otu yağı gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (Tablo 9, Şekil 16, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm gruplarının eritrosit GSH-Px düzeylerinin artmış olduğu bu artışında TQ ve çörek otu yağı gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.001$).

Çörek otu yağı grubu ile TQ grubunun eritrosit GSH-Px düzeyleri kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Çörek otu yağı grubuna göre çörek otu tohumu grubunda GSH-Px düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p<0.001$).



Şekil 16: Grupların eritrosit GSH-Px düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p<0.01$)

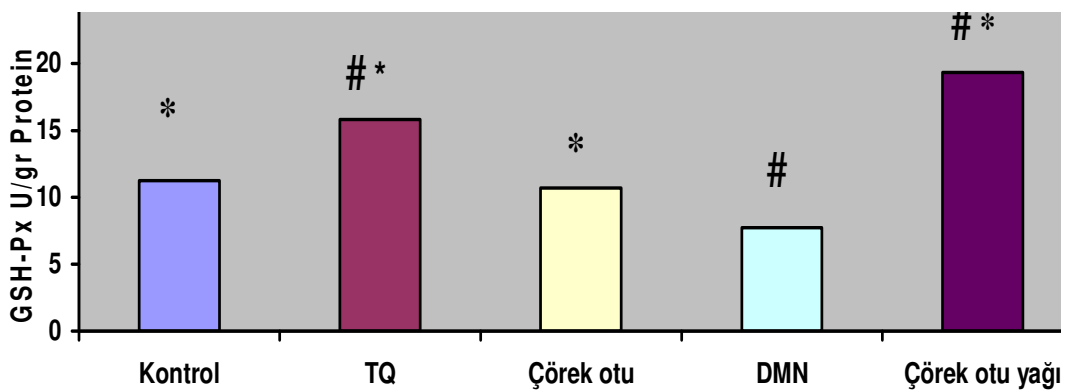
*: DMN grubuna göre ($p<0.001$)

4.1.8. Doku GSH-Px düzeyleri

Kontrol grubuna göre TQ ve çörek otu yağı gruplarının GSH-Px düzeylerinin anlamlı derecede artmış olduğu bulunurken, DMN grubunun GSH-Px düzeylerinin de istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi (Tablo 9, Şekil 17, $p<0.001$).

DMN grubuna göre tüm grupların GSH-Px düzeylerinin istatistiksel anlamlı derecede artmış olduğu saptandı (Kontrol, TQ ve çörek otu yağı grupları $p<0.001$, çörek otu tohumu grup $p<0.01$).

Çörek otu yağı grubuna göre TQ ve çörek otu tohumu gruplarındaki GSH-Px düzeylerinin istatistiksel anlamlı derecede azalmış olduğu tespit edildi ($p<0.001$).



Şekil 17: Grupların karaciğer dokusu GSH-Px düzeyleri

#: Kontrol grubuna göre ($p<0.001$)

*: DMN grubuna göre (çörek otu tohumu grubu $p<0.01$, kontrol, TQ ve çörek otu yağı grupları $p<0.001$)

Tablo 9: Grupların oksidan ve antioksidan düzeyleri

	Gruplar	N	Ort±Std.hata	Min.	Max.	p(kontrol grubuna göre)	p(DMN grubuna göre)
MDA nmol/mg Hb	Kontrol	10	1.16±0.016	1.10	1.28		p=0.001
	Timokinon	8	1.18±0.02	1.10	1.30	p=0.578	p=0.001
	Çörek otu tohumu	9	1.32±0.018	1.23	1.42	p=0.001	p=0.001
	DMN	10	1.45±0.022	1.37	1.55	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	1.18±0.018	1.10	1,28	p=0.442	p=0.001
SOD U/mgHb	Kontrol	10	7.94±0.196	7.01	8.74		p=0.001
	Timokinon	8	9.42±0.212	8.42	10.42	p=0.001	p=0.001
	Çörek otu tohumu	9	8.28±0.251	7.19	9.16	p=0.247	p=0.001
	DMN	10	6.17±0.215	5.24	7.17	p=0.001	p=0.001
	Çörek otu yağı	10	9.18±0.127	8.53	9.78	p=0.001	p=0.001
MDA nmol/mg protein	Kontrol	10	0.33±0.015	0.23	0.39		p=0.001
	Timokinon	8	0.52±0.082	0.05	0.90	p=0.010	p=0.001
	Çörek otu tohumu	9	0.69±0.037	0.61	0.98	p=0.001	p=0.001
	DMN	10	0.95±0.060	0.72	1.27	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	0.35±0.028	0.22	0.53	p=0.738	p=0.001
SOD U/mg Protein	Kontrol	10	2.32±0.041	2.08	2.45		p=0.001
	Timokinon	8	2.51±0.05	2.30	2.79	p=0.041	p=0.001
	Çörek otu tohumu	9	2.22±0.086	2.00	2.90	p=0.278	p=0.001
	DMN	10	1.76±0.069	1.48	2.13	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	2.96±0.045	2.81	3.30	p=0.001	p=0.001
GSH-Px U/gr Hb	Kontrol	10	24.67±3.00	15.06	40.51		p=0.305
	Timokinon	8	36.73±2.20	23.11	43.54	p=0.001	p=0.001
	Çörek otu tohumu	9	24.70±1.83	13.00	32.00	p=0.994	p=0.315
	DMN	10	21.26±2.02	9.00	33.00	p=0.305	
	Çörek Otu yağı	10	36.63±2.52	24.79	50.07	p=0.001	p=0.001
GSH-Px U/gr protein	Kontrol	10	11.25±0.53	8.24	14.21		p=0.001
	Timokinon	8	15.83±0.42	14.24	17.23	p=0.001	p=0.001
	Çörek otu	9	10.71±0.47	8.49	13	p=0.590	p=0.005
	DMN	10	7.75±0.43	6.10	10.01	p=0.001	
	Çörek otu yağı	10	19.33±1.17	12.22	23.98	p=0.001	p=0.001

5. TARTIŞMA

Karaciğer sirozu tüm dünya için özellikle de hepatotrofik virüs enfeksiyonlarının (B, C) endemik olduğu bölgelerde ve yüksek alkol tüketiminin görüldüğü batı toplumlarında büyük bir halk sağlığı problemidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde siroz, erişkin erkeklerin en sık dördüncü ölüm nedenidir. Bu nedenle günümüzde karaciğer fibrozisi ve sirozu önleyebilmek, hepatolojinin en hayati konusudur (3). Siroz nodüler hepatosit rejenerasyonlu diffüz fibrozis olarak tanımlanmaktadır (1). Fibrozis önceleri pasif ve irreversibl kronik karaciğer hasarı olarak tanımlanırken, şimdi dinamik bir süreç olduğu ve kısmen reversibl olduğu kabul edilmektedir (3). Karaciğer fibrozisi sırasında skar dokusu oluşabilir, bunun üretiminden HSH'i sorumludur. HSH aktivasyonunu başlatan uyaranlarda ECM kompozisyonundaki hızlı değişiklikler, hasarlı hepatositler, kupffer hücreleri ve endotel hücreleri sorumludur (14). Hepatik hasar ve fibrozisle sonuçlanan çeşitli karaciğer hastalıklarının patogenezinde serbest radikaller ve lipid peroksidleri de rol oynamaktadır. Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller vücudun antioksidan mekanizmaları tarafından ortadan kaldırılabilir (22). Çeşitli nedenlerle üretimi artan serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aşarsa organizma oksidatif strese maruz kalmaktadır. Oksidatif stres sonucu oluşan SOR karaciğer hücrelerinden Kupffer hücrelerini uyarak TNF- α üretimine yol açar. TNF- α etkisiyle mitokondrial ATP tükenir, kaspaz sistemi aktive olur ve hepatosit hücreleri apoptoza uğrar. Ancak SOR düzeyi daha fazla yükseldiğinde kaspaz sisteminin kapasitesi de aşılar ve nekroz tarzında daha zararlı bir hücre ölümü ortaya çıkar (11). HSH' ler karaciğer fibrozis tedavisinde ana hedeflerdir. HSH' i inhibe ederek fibrozisin gerilemesini sağlayan çeşitli tedavi yöntemleri vardır, bunlar arasında; TGF- β inhibisyonu, endotelin aktivitesinin inhibisyonu, fumagillin ve analogu olan TNP-470 sayılabilir (104-107). Ayrıca kolşisin, silymarin, polienilfosfatidil kolin, ellagik asit, ginkgo biloba bileşiği ve son olarak sho-saiko-to

gibi bazı bitkisel kaynaklı bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip oldukları ve kronik karaciğer hastalıklarının tedavilerin de etkilerinin olabileceği öne sürülmüştür (3). SOD, CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler, A, C ve E gibi antioksidan vitaminler ve seruloplazmin gibi antioksidan proteinler hücreleri birçok patolojik sürecin temelini oluşturan lipid peroksidasyonuna karşı korurlar (70).

Klasik tedavinin yan etkilerinden dolayı, doğal ürünler çeşitli hastalıkların tedavisinde, klasik tedaviye alternatif olarak kullanımı son yıllarda artmaktadır (67). Çörek otu tohumu ve tohumundan elde edilen preparatlar yüzyıllardan beri soğuk algınlığı, baş ağrısı, astım, gaz giderme, idrar söktürücü, sarılık, çeşitli romatizma ve iltihap hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (66). Yapılan çalışmalarda çörek otunun bronkodilatör, antibakteriyel, antihipertansif, antidiyabetik, hepatoprotektif, gastroprotektif, antihistaminik, nöroprotektif ve antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (4). Çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antioksidan özelliği ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu bitkiden elde edilen uçucu yağların analizi yapılmış ve yapılan analiz sonucunda çörek otunun uçucu yağ içeriğinin ana fraksiyonunun timokinon, karvakrol, t-anethole ve 4-terpinenol'un antioksidan özelliği gösterdiği, bunların en önemlisinin de timokinon olup %18,4-24'ünü oluşturduğu belirtilmiştir (7,108). Yapılan çalışmalarda, çörek otu tohumunun çeşitli hepatotoksik ve genotoksik ajanlar olan tert-butil hidroperoksit, CCl₄, DOX, gentamisin, metionin, cisplatin ve potasyum bromatın etkisine karşı yüksek oranda koruyucu etki gösterdiği de saptanmıştır (67). Ayrıca çörek otu tohumunun karaciğer sirozu ve fibrozise karşı korumada antioksidan özelliğinin rolü olduğu da belirtilmiştir (7). Çörek otu tohumunun aktif bileşiklerinden olan timokinonun da CCl₄, tert-butil hidroperoksit gibi hepatotoksik ajanlarla oluşturulmuş karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif bir ajan olduğu yapılan birçok çalışmada kanıtlanmıştır (5,119,110). Farelerde yapılan çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarda timokinonun oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir. Timokinonun dokularda antioksidan bir ajan gibi davranmaktadır. Timokinonun bu etkisinin Tromboksan B₂ ve Lökotrien B₄ adlı eikozanoidlerin üretimini (sırasıyla siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz'ı inhibe ederek) ve membran lipid peroksidasyonunu inhibe etmesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (111). Timokinonun siklooksijenaz-2 ve 5-lipooksijenaz inhibisyonunda NF- κ B' ün rol oynadığı belirtilmiştir. NF- κ B bir yandan hücre proliferasyonuna yol açarken bir yandan

da apoptozu engellemekte görevlidir. Timokinon NF- κ B' bağımlı proliferasyonu, invazyonu azaltarak, bu yolla apoptozis de artışa sebep olduğu da gösterilmiştir (112).

Oksidatif strese maruz kalınca hepatosit nekrozu olacağını gösteren kritik basamağın, artan plazma membranı bleb formasyonu olduğu bulunmuştur. Artan bleb formasyonu için ileri sürülen mekanizma, tromboksan B₂ üretiminin artışıdır. Timokinonun lipid peroksidasyonu ve tromboksan B₂ ve lökotrien B₄ gibi eikozanoidlerin üretimini inhibe ettiğinden dolayı timokinonun tromboksan B₂ üretimi üzerine inhibitör etkisi ile karaciğeri koruduğu da düşünülmüştür (5). Çörek otu yağının lipid peroksidasyonunda ve eikozanoid oluşumunda TQ'a göre daha fazla inhibe edici özellikte olduğu da bildirilmiştir (113).

Türkdoğan ve ark. (3) CCl₄ ile oluşturdukları karaciğer hasarının önlenmesinde çörek otu tohumunun rolünü araştırmışlardır. CCl₄ ile birlikte çörek otu tohumu verilen grupta, sadece CCl₄ verilen grup da görülen fibrozis ile ilişkili koagülasyon nekrozu ve hidrofilik dejenerasyonların oluşmadığını bildirilmişlerdir. Çörek otu tohumunun karaciğeri korumadaki etkisinin membran lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve immunomodülatör aktivitesiyle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Sıçanlarda fibrozis modeli oluşturmak için DMN ve CCl₄ gibi hepatotoksik ajanlar kullanılmaktadır (56). Deneysel olarak DMN ile oluşturulmuş siroz modellerinin, CCl₄ ile oluşturulan siroz modeline kıyasla daha kısa sürede daha belirgin bir siroz tablosu oluşturması nedeniyle DMN siroz modeli oluşturmada sıklıkla kullanılmaktadır.

Çalışmamızda DMN enjekte edilen sıçanların, modifiye Knodell skorlamasına göre fibrozis değerleri diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ve histopatolojik görünümünde de nodüllerle birlikte belirgin köprüleşme (porto-portal ve/veya porto-sentral köprüleşme) inkomplet sirozun olduğu görüldü. Hepatik fibrozis sonrası çörek otu tohumu, çörek otu yağı ve TQ uygulanan sıçanlarda modifiye Knodell skorlamasına göre fibrozis değerlerinin DMN grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Histopatolojik olarak da normal karaciğer dokusu ve bazı portal alanlarda kısa fibroz, septumlu veya septumsuz fibröz şeklinde genişleme görüldü. bu azalma çörek otu yağın grubunda daha belirgin olmakla beraber timokinon grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Çörek otu yağı verilen grupta fibrozis skoru sadece çörek otu tohumu verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı

olarak daha düşük bulundu. Sonuçlarımız, Türkdogan ve ark. yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur.

Abdal-Wahhab ve arkadaşlarının (114) yaptığı deneysel çalışmada son derece hepatoksik bir mikotoksin olan aflatoksin ile oluşturdıkları karaciğer hasarını ve oksidatif stresin önlenmesinde çörek otu yağının etkilerini araştırmışlardır. Çörek otu yağı vererek aflatoksin uygulaması sırasında meydana gelen serbest oksijen radikallerini temizleyebilme yeteneğini değerlendirmek için eritrosit SOD ve GSH-Px düzeylerini ve serum ALT, AST, ALP, TP, Alb, TB değerlerini incelemişlerdir. Bu değerlerden eritrosit SOD ve GSH-Px değerlerinde aflatoksin verilen grupta kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptanırken, aflatoksin ile birlikte çörek otu yağı verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Serum ALT, AST ve ALP değerlerinde aflatoksin verilen grupta kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, TP, Alb değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. Aflatoksin ile çörek otu yağı verilen grupta ise serum ALT, AST, ALP, TP ve Alb düzeylerini kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Karaciğer fonksiyonlarındaki bu iyileşmenin çörek otu yağında bulunan p-cymene, m-cymene, karvakrol ve bunların en etkili olan timokinon gibi antioksidan bileşiklerin serbest radikal yakalayıcı özelliği ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da DMN grubuna oranla çörek otu tohumu, yağı ve çörek otu tohumunun önemli bileşenlerinden olan timokinon gruplarında karaciğer enzimlerinden olan ALT, AST, GGT ve ALP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken, çörek otu tohumu grubunda ALT, AST, GGT ve ALP düzeylerindeki azalma timokinon ve çörek otu yağı gruplarındaki azalmadan daha az olmuştur. Bunun sebebi olarak da çörek otu tohumları hayvan yemine katılarak verildiğinden sıçanlar hesaplanan miktardaki dozu alamamış olmalarından kaynaklanabilir.

Karaciğerin fibrozisine bağlı parankim hasarı olduğundan bilirubin metabolizması ve atılımı bozulmakta ve serum bilirubin düzeyleri yükselmektedir. Abdal-Wahhab ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada çörek otu yağının uygulanmasıyla TB ve DB düzeyleri kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Çalışmamızda da çörek otu yağı, tohumu ve TQ verilen grupların TB, DB düzeyleri DMN grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı bulundu. TQ verilen grubun TB, DB düzeyleri, çörek otu tohumu ve çörek otu yağı verilen gruplara göre de istatistiksel

olarak anlamlı azalma olduğu saptandı. Bu sonuçlar çörek otu yağının en önemli bileşenlerinden olan TQ'nun bilirubin metabolizmasında daha etkin olduğunu göstermektedir.

Karaciğerde siroz gibi şiddetli parankim hasarına neden olan hastalıklar sırasında karaciğerin sentez fonksiyonları azalır. Albumin de başlıca hepatik parankim hücrelerinden sentezlenir ve karaciğer sentezleme kapasitesinin azalmasına bağlı olarak azalma gösterirler. Mahmoud ve ark.'nın (90) yaptıkları deneysel çalışmada fareler de *Schistosoma mansoni*'nin enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarına karşı çörek otu yağının etkisini araştırmışlardır. Çörek otu yağının önceden verilmesiyle azalan Alb ve TP düzeylerini kontrol grubunun değerlerine getirdiğini ve antioksidan enzim düzeylerini de arttırdığını bildirmişlerdir. Çörek otu yağının bu etkilerini de immunomodulator ve antioksidan özelliğiyle gerçekleştirebileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da deneysel olarak DMN verilerek karaciğerde hasar oluşturduğumuz grup da TP, Alb düzeyleri düşmekte ancak DMN' den sonra çörek otu yağı, tohumu ve TQ verilen grupların TP, Alb düzeylerinin DMN grubuna göre arttığı bu artışta istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Çörek otu yağı verilen grubun TP, Alb düzeyleri TQ ve çörek otu tohumu grupların göre daha fazla arttığı bunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Sentezleme kapasitesinin DMN grubuna göre artması çörek otu tohumu ve bileşenlerinin koruyuculuk etkisi yanında DMN kullanılarak oluşturulmuş karaciğer sirozunda fibrozisi geri döndürdüğünün de bir göstergesidir. Karaciğer sirozunda normalde yaklaşık 1.3–1.8 olan albumin / globulin oranı ters döner. Literatürde çörek otu tohumu ve bileşenlerinin bu parametrelere etkisi incelenmemiş olsa da albumin sentezini arttırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda da globulin düzeyleri incelendiğinde de en yüksek artışın DMN grubunda olduğu tespit edilirken, albumin / globulin oranının da ise diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu. Çörek otu yağı grubunda ise albumin / globulin oranı diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu, globulin düzeylerinde de DMN grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi. Çörek otu yağı grubunun TP, albumin düzeylerinin çörek otu tohumu ve TQ grubuna göre daha fazla artmış olması, çörek yağında bulunan p-cymene, m-cymene, karvakrol ve bunların en etkilisi olan timokinon gibi birçok bileşiklerin karaciğerin sentezleme kapasitesini arttırmasından kaynaklanabilir.

Hepatik hasar ve fibrozisle sonuçlanan çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneğinde serbest radikaller ve lipid peroksitleri de rol oynamaktadır (23). Daba ve arkadaşlarının (5) yaptığı deneysel çalışmada TQ'un, sıçan karaciğerinde tert-bütildidroperoksit tarafından meydana getirilen oksidatif strese karşı etkisini değerlendirmişlerdir. Timokinon verilen grup, tert-bütildidroperoksit verilen grupla karşılaştırıldığında timokinonun karaciğeri koruduğu ve ALT, AST düzeylerini düşürdüğünü, intrasellüler glutatyon üretimini arttırdığı kantitatif olarak saptamışlardır.

Mansour (115) yaptığı çalışmada CCl₄ ile indüklenerek karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlar da TQ'un koruyucu etkisini araştırmak için serum ALT, AST, LDH, karaciğer dokusunda ise MDA, CAT, GSH aktivitelerini değerlendirmiştir. TQ'nun serum ALT, AST LDH ve doku MDA değerlerinde CCl₄ verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalma, doku GSH değerlerinde ise anlamlı bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Timokinonun lipid peroksidasyonuna neden olan serbest oksijen radikallerinin üretimini inhibe ederek hepatoprotektif etki gösterebileceğini belirtmişlerdir.

Nagi ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada fareler de TQ'un CCl₄ ile oluşturulan hepatotoksisite üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. TQ' un uygulanması ile CCl₄'ün hepatotoksik etkilerine karşı nonenzimatik lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan özelliğıyle belirgin bir iyileştirici ve koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir (109).

Yıldız ve arkadaşlarının (111) yaptığı deneysel çalışmada çörek otu tohumunun karaciğerde iskemi-reperfüzyon hasarını önleyip önleyemediğini tespit etmek için serum AST, ALT ve LDH düzeylerini incelemişler. Hepatik dokuda da total antioksidan kapasite (TAK), katalaz (CAT) , total oksidant seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) ve myeloperoksidaz (MPO) düzeyini ölçmüşlerdir. Ayrıca karaciğer dokusunun histopatolojisi ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Çörek otu tohumu verilen grubun AST, ALT ve LDH düzeyleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalma tespit edilmiştir. Karaciğer dokusundaki TAK düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek, TOS, OSI ve MPO değerleri ise anlamlı derecede daha düşük bulmuşlardır. Ayrıca çörek otu tohumu ile tedavi edilen grubun histolojik doku hasarı, kontrol grubuna göre daha az görülmüştür. Bu verilerle, karaciğer iskemi-reperfüzyonun oksidatif stresi arttırdığını, çörek otu tohumunun karaciğerde iskemi-

reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinin olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da DMN grubunda doku MDA düzeyleri eş zamanlı verilen çörek otu yağı, tohumu ve timokinon grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulunurken, dokudaki SOD ve GSH-Px düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edildi. DMN'den sonra verilen çörek otu tohumu, yağı ve TQ gruplarının MDA düzeylerinin DMN grubuna göre azaldığı bunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Ayrıca çörek otu yağı grubunda doku MDA değerleri TQ ve çörek otu tohumu verilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanırken, doku SOD ve GSH-Px değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi. TQ verilen grupta çörek otu tohumu verilen gruba göre doku MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu, doku SOD ve GSH-Px değerlerin de ise istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı. Çörek yağının, çörek otu tohumuna ve TQ göre daha fazla antioksidan etkili olması; çörek otu yağının, timokinon dışında karvakrol, t-anethole ve 4-terpineol gibi antioksidan bileşenleri içermesinden ve karaciğerde yüksek miktarda bulunan DT diyaforaz enziminin TQ' u antioksidan etkinliği TQ'a göre daha güçlü olan dihidrotimokinona metabolitine dönüştürmesinden kaynaklanabilir.

Kanter ve arkadaşlarının (116) yaptığı çalışmada; CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlara, çörek otu tohumunu çalışmanın başlangıcından ilave edilerek eritrosit MDA seviyelerini, ALT, AST düzeylerini ve antioksidan enzimleri değerlendirilmişlerdir. Çörek otu tohumu başlandıktan sonra yükselen eritrosit MDA seviyelerini, ALT, AST düzeylerini düşürdüğünü ve düşmüş antioksidan parametrelerinin seviyelerinide arttırdığını belirtmişlerdir.

İlhan ve ark. (94) yaptığı deneysel çalışmada CCl₄ indüklediği karaciğer fibrozisinin engellenmesinde çörek otu tohumunun rolünü araştırmak için plazma AST, ALT, MDA düzeylerini ve eritrosit SOD ve GSH-Px aktivitelerini karşılaştırmışlardır. Plazma AST, ALT ve MDA düzeyleri CCl₄'ün indüklenerek hepatotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı şekilde yüksek, eritrosit GSH-Px ve SOD düzeyleri ise CCl₄'ün indüklediği grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu parametrelerin düzeyleri çörek otu tohumu verildikten sonra anlamlı şekilde arttığı da tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla, çörek otu tohumun, sıçanlarda CCl₄ ün indüklediği hepatotoksisite de

lipid peroksidasyonunu önlemek, antioksidan savunma sistemini aktivitesini arttırmak ve karaciğer hasarını önlemek için kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da DMN grubunda eritrosit MDA düzeyleri eş zamanlı verilen çörek otu yağı, tohumu ve timokinon grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulunurken, eritrosit SOD ve GSH-Px düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edildi. Çalışmamız da eş zamanlı verilen çörek otu yağı ve TQ verilen gruplar karşılaştırıldığında eritrosit MDA, SOD ve GSH-Px değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken, çörek otu yağı ve TQ verilen grubunun eritrosit MDA değerleri çörek otu tohumu grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmış olduğu bulundu. Eritrosit SOD, GSH-Px düzeylerinde ise çörek otu tohumu grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu. Çörek otu tohumu verilen grup da tohumlar hayvan yemine katılarak verildiğinden ve hesaplanan etkin doz almamış olabileceklerinden çörek otu yağı ve TQ verilen gruplar kadar etkili olmamıştır.

Karaciğer dokusunda çörek otu yağı grubu ile TQ ve çörek otu tohumu gruplarındaki SOD, GSH-Px ve MDA düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark varken, eritrositlerde çörek otu yağı ve TQ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması; karaciğerin, çok fazla işlevli olan bir organ olması, savunma sistemini destekleyici özelliği diğer organlara göre daha kuvvetli olması, antioksidan kapasitesinin eritrositlere göre daha büyük olması ve çörek otu yağında bulunan bazı bileşenlerinin bu antioksidan kapasiteyi uyarmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Literatürde çörek otu tohumu ve bileşenlerinin indüklenmiş hepatotoksitedeki koruyucu etkisine dair birçok çalışma mevcuttur ancak fibrozisi geri döndürdüğüne dair de herhangi bir çalışma yoktur. Bu amaçla çalışmamız DMN kullanılarak oluşturulmuş karaciğer sirozunda çörek otu tohumu, çörek otu yağı ve TQ takviyesinin antifibrotik etkilerini araştırmayı amaçladık. Bunun etki mekanizması tam olarak ortaya konmamış olsa da;

- Timokinonun hepatik glutatyon S transferaz ve DT diaforaz enzimlerini belirgin ölçüde indüklediklerini ve neticede eritrosit ve dokuda MDA düzeylerini azaltabileceklerini,

- Çörek otu yağı, çörek otu tohumu ve TQ'un glutatyon konsantrasyonunu arttırarak antioksidan savunma sistemine etki edebileceğini,
- Çörek otu yağı, çörek otu tohumu ve timokinonun lipid peroksidasyonunu, eikozanoid (prostoglandin, lökotrien, tromboksan A₂) oluşumunu inhibe ettiğini ve antioksidan savunma sistemini aktivitesini arttırarak fibrozisi geriletteği,
- TQ'un tromboksan B₂ üretimi üzerine inhibitör etkisiyle bleb formasyonunu oluşumunu azaltıp sirozu geriletteği,
- Çörek otu yağı, çörek otu tohumu ve TQ' un karaciğer hasarının göstergesi olan AST, ALT, ALP, GGT, DB, TB düzeylerini de azaltarak karaciğer hasarını düzeltteği,
- TQ'nun NF- κ B 'yı inhibe ederek HSH'nin proliferasyonunu azaltarak sirozu geriletteği düşünöldü.

Sonuç olarak DMN belirgin fibrozis oluşturan hepatotoksik bir ajandır. Çörek otu tohumu ve bileşenlerinin etki mekanizması tam olarak anlaşılmamış olsa da oluşmuş fibrozisi gerileten doğal bir üründür. Bu çalışmayla, çörek otu tohumu ve bileşenlerinin insanlarda da benzer mekanizmalarla siroz tedavisinde kullanılabileceği ümidi doğmaktadır. Ancak bu çalışmada deneysel olarak DMN ile siroz oluşturulduktan sonra ileri dönem siroz olması için uzun süre beklenilip daha sonra uygulanmadığı için geç sirozdaki etkileri değeriendirilemedi bu yüzden elde ettiğimiz sonuçlar çörek otunun, yağının ve TQ'nun erken dönem sirozda başarılı olabileceği yönündedir ve geç dönemdeki başarısını da görmek için başka çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmayla sıçanlarda DMN ile oluşturulmuş karaciğer hasarını çörek otu tohumu, yağı ve önemli antioksidan bileşenlerinden biri olan timokinonun önemli derecede gerilettiği biyokimyasal ve patolojik parametrelerdeki değişimlerle gösterildi. Bu çalışma çörek otu tohumu veya bileşenlerinin karaciğer sirozlu hastalarda tedavi edici etkisinin olabileceğini düşündürmekte ve destekleyici farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara altyapı oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. Karaciğer sirozu. Gastroenterohepatoloji Nobel Tıp Kitapevi. 2001;449–500.
- 2- Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? N Engl J Med. 2001;344:452–454.
- 3- Türkdöğän MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res*. 2003;17:942–946.
- 4- Kanter M. Effects of *Nigella sativa* and its major constituent, Thymoquinone on sciatic nerves in experimental Diabetic Neuropathy. *Neurochem Res*. 2008;33:87–98.
- 5- Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett*. 1998;95:23–29.
- 6- Demirdag K, Bakcecioglu IH, Ozercan IH, Ozden M, Yilmaz S, Kalkan A. Role of L-carnitine in the prevention of acute liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004;19:333–338.
- 7- Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*. 2003;17:299–305.
- 8- Tietz Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics (4nd ed). Elsevier Saunders, 2006:1818-1830.
- 9- Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji (Çev.Y Aytekin, S Solakoğlu). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2006:332–344.
- 10- Ovalle W K, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji (Çev. S Müftüoğlu, F Kayman). Netters Essential Histology Saunders Elsevier, 2009: 312–323.
- 11- Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:1–8.

- 12- Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects of Med.* 2000;21:49–98.
- 13- Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji (Çev. H Çavuşoğlu). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri*, 2001:797–800.
- 14- Urtasun R, Nieto N. Hepatic stellate cells and oxidative stres. *Rev Esp Enferm Dig.* 2007;99:223–230.
- 15- Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin J Med Sci.* 2002;22:442- 448.
- 16- Biernert GP, Schjoerring J K, Jahn TP. Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimic Biophys Acta.* 2006;1758:994–1003.
- 17- Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology.* 1999;29:719–727.
- 18- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem.* 2000;275:2247–2250.
- 19- Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis.* 2001;21:351–372.
- 20- Cubero F, Nieto N. Kupffer cells and alcoholic liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006;98:460–472.
- 21-Friedman SL. Cytokines and fibrogenesis. *Semin Liver Dis.* 1999;19:129–140.
- 22- Kaçmaz B, Ögüş E, Paşaoğlu H, Kılınç D, Tülek N, Bakır F. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda lipid peroksidasyonu ve oksidasyona direncin incelenmesi. *Viral Hepatit Dergisi.* 2001;7:374–378.
- 23- Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology.* 2002;35:62–73.

- 24- Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic Fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009;25:223–229.
- 25- Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension: Stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology*. 1997;25:2–5.
- 26- Whalen R, Rockey DC, Friedman SL, Boyer TD. Activation of rat hepatic stellate cells leads to loss of glutathione S-transferases and their enzymatic activity against products of oxidative stress. *Hepatology*. 1999;30:927–933.
- 27- Apakkan S, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinazlar inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin J Med Sci*. 2001;2:332–342.
- 28- Marra F, Defranco R, Grappone C, Milani S, Pastacaldi S, Pinzani M. Increased expression of monocyte chemotactic protein-1 during active hepatic fibrogenesis: Correlation with monocyte infiltration. *Am J Pathol*. 1998;152:423–430.
- 29- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel Patoloji (Çev. U Çevikbaş). Nobel Tıp Kitapevleri*. 2003;517, 2000.
- 30- Karagöz İ, Haktanır A. Kronik karaciğer hastalıkları. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 2004;2:33–40.
- 31- Bissell DM. Hepatic fibrosis as wound repair. A progress report. *J Gastroenterol*. 1998;33:295–302.
- 32- Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2002;33:110–118.
- 33- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997;34:92–95.
- 34- Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları, Kuzucular ofset*, 1995:3–25.

- 35- Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta*. 2001;306:1–17.
- 36-J Lee, N Koo, DB Min. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals comprehensive. In *Food Science And Food Safety*. 2004; 3: 37–47.
- 37- Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction. *Apoptosis*. 2000;5:415–418.
- 38- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine* (3nd ed). Oxford, Oxford University, 1999:30–90.
- 39-Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi*. 2004;35:159–169.
- 40-Sağol S, Özkınay E. Lipid peroxidation in the etiopathogenesis of preeclampsia. *T Klin Jineköl Obst*. 2000;10:7–15.
- 41-Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Dicle Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005;3:30–39.
- 42-Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch of Biochem Biophys*. 2002;397:342–44.
- 43-Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*. 2004;16:42–47.
- 44-Valko M, Rhodes C J, Moncola J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interac*. 2006;160:1–40.
- 45-Stief TW. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypoth*. 2003;60:567–572.
- 46- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995;4:1819–1828.
- 47- Huy LAP, He H, Huy CP. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*. 2008;4:89–96.

- 48- Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide. *Ann NY Acad Sci.* 1999;890:301–311.
- 49- Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* 2001;357:593–615.
- 50- Ünal MT, Tufan H. Biyolojik sistemlerde peroksinitritin rolü. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji.* 2003;16:110–118.
- 51- Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry.* 2004;69:4–9.
- 52- Gümüştas MK, Atukeren P. Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. *Türkiye’de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyumu dizisi. İstanbul: Cerrahpaşa;* 2008;329–340.
- 53- Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;222:283–292.
- 54- Reilly MP, Schiller HJ. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Sur.*1991;161:488–503.
- 55-Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc.* 1987;46:13–26.
- 56-Bhattacharjee A, Lappi VR, Rutherford MS, Schook LB. Molecular dissection of dimethylnitrosamine (DMN)-induced hepatotoxicity by mRNA differential display. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998;150:186-195.
- 57-Pelaez FP, Brooks PJ, Stedeford T, Song S,Ramos SJ. DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:779–785.
- 58-Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:7915–22.

- 59-Mates JM, Gomez CP, Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999;32:595–603.
- 60-Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hypertension. 2004;44:381–386.
- 61-Ferrari R, Ceconi K, Curello S. Role of oxygen free radicals ischemic an reperfused myocardium. Am J Clin Nutr.1991;53:215–222.
- 62-Murray, RK., Granner, DK., Mayes, Pa. Harper's Biochemistry.In:Mayes A.Part Lange Medical Publication, London,1993,126-350.
- 63-Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. Eur J Biochem. 2000;267:4904–4911.
- 64-Coughlin SS, Hall IJ. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of ovarian cancer. Genet Med. 2002;4:250–257.
- 65-Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: The role of carotenoids, tocopherols, and thiols. Am J Clin Nutr. 1991;53:194–200.
- 66-Kar Y, Şen N, Tekeli Y. Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörek otu (*Nigella Sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi). 2007;2:197–203.
- 67-Salem ML. Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L seed. Int imunopharmacol. 2005;5:1749–1770.
- 68-Kaya MS, Kara M, Özbek H. Çörek otu (*Nigella Sativa*) tohumunun insan hücrel bağışıklık sisteminin CD+3,CD+4,CD+8 hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. Genel Tıp Dergisi. 2003;13:109–112.
- 69-Sharma NK, Ahirwar D,Jhade D, Gupta S. Medicinal and Phamacological Potential of *Nigella sativa*. 2009;13:946-55. Available from: <http://www.ethnoleaflets.com/leaflets/nigella>.

70-Kanter M, Çoskun Ö, Budancamanak M. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenterol*. 2005;11:6684–6688.

71-Muhtasib HG, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone: A promising anti-cancer drug from natural sources. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38:1249–1253.

72-Rouhou SC, Besbes S, Hentati B, Blecker C, Deroanne C, Attia H. *Nigella sativa* L Chemical Composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chem*. 2007;101:673–681.

73-Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy S T. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Int J Immunopharmacol*. 1999;2:283–285.

74-Al-Saleh I, Billedo G, El-Doush I I. Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *J Food Compos Anal*. 2006;19:167–175.

75-Takrurı HRH, Dameh MAF. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L). *J Sci of Food Agr*. 1998;76:404–410.

76-Khader M, Bresgen N, Eckl PM. In vitro toxicological properties of thymoquinone. *Food Chem Toxicol*. 2009;47:129–133.

77-Ghosheh OA, Houdı AA, Crookscor PA. High performance liquid chromatographic analysis of pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L). *J Pharmaceut and Biomed Anal*. 1999;19:757– 762.

78-Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.):an overview. *Int J of Food Sci Tech*. 2007;42:1208–1218.

79-Rakhshandeh MVV. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pak J Med Sci*. 2005;21:47–52.

80-Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*. 1999;18:7908–7916.

81-El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol*. 2006;6:1135–1142.

82- Wu D, Meydani M, Leka LS, Nightingale Z, Handelman GJ, Blumberg JB, Meydani SN. Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune response of healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:536–543.

83-El-Dakhakny M, Barakat M, El-Halim A, Aly SM. Effects of *N. sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J Ethnopharmacology*. 2000;72: 299–300.

84-El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia-reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol*. 2003;84:251–258.

85-Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of TQ on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*. 2000;143:219–226.

86-El-Saleh SC, Al-Sagair OA, Al-Kalaf MI. Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. *Int J Cardiol*. 2004;93:19–23.

87-Kanter M, Meral I, Yener Z, Özbek H, Demir H. Partial regeneration/proliferation of the cells in the islets of langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoku J Exp Med*. 2003;201:213–219.

88- Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hasar M. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J Ethnop*. 2002;79:23–26.

89-Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol*. 2000;22:729– 740.

90-Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol*. 2002;79:1–11.

91-Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res*. 2003;17:183–186.

92-Hosseinzadeh H, Parvardeh S, Asl MN, Sadeghnia HR, Ziaee T. Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemiareperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine* 2007;14:621-627.

93-Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem Funct*. 2002;20:143-151.

94-İlhan D, Seçkin D. Protective effect of *Nigella sativa* seed against carbon tetrachloride-induced liver damage. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bil. Dergisi*.2005;19:175–179.

95- Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekolava A, Lichius JJ. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother Res*. 2003;17:1209– 1214.

96-Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoi K, Amarouch H, Hassan M. Acute and chronic toxicity of NS fixed oil. *Phytomedicine*. 2002;9:69–74.

97-George J. Ascorbic acid concentrations in dimethylnitrosamine induced hepatic fibrosis in rats. *Clinica Chimica Acta*. 2003;335:39–47.

98-Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22:696-699.

99-Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-254.

100-Sun Y, Oberley LW, Li YA. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988;34:497–500.

101-Jain SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes.* 1989;38:1539–1543.

102-Okawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. *J Lipid Res.* 1978;19:1053–1057.

103-Paglia DE, Valentina WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70:158–169

104-George J, Roulot D, Kotliansky, Bissell DM. In vivo inhibition of rat stellate cell activation by soluble transforming growth factor beta type II receptor: a potential new therapy for hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96: 1219–1224

105-Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:2345–2349.

106-Rockey DC, Chung JJ. Endothelin antagonism in experimental hepatic fibrosis. Implications for endothelin in the pathogenesis of wound healing. *J Clin Invest.* 1996;98:1381–1388

107-Wang YQ, Ikeda K, Ikebe T, Hirakawa K, Sowa M, Nakatani K et al. Inhibition of hepatic stellate cell proliferation and activation by the semisynthetic analogue of fumagillin TNP-470 in rats. *Hepatology.* 2000;32:980–989.

108-Machmudah S, Shiramizu Y, Goto M, Sasaki M, Hirose T. Extraction of *Nigella sativa* L. using supercritical CO₂: A study of antioxidant activity of the extract. *separation science and technology. Separ Sci Tech.* 2005;40:1267–1275.

- 109-Nagi MN, Alam K, Badary OA, Al- Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al- Bekairi. Thymoquinone protects against carbontetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochem Mol Biol Int.* 1999;47:153–159.
- 110- Badary OA, Taha RA, Gamal El-Din A.M, Abdel-Wahab M.H. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol.* 2003;35:260–300.
- 111-Yıldız F, Çoban S, Terzi A, Ateş M, Aksoy N, Ocak AR, Bitiren M. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol.* 2008;14:504–520.
- 112-Sethi G, Ahn KS, Aggarwal BB. Targeting nuclear factor-KB activation pathway by Thymoquinone: Role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. *Mol Cancer Res.* 2008;6:1059–1070.
- 113-Houghton PJ, Zarka R, Hoult JR. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* 1995;61:33–36.
- 114-Abdel-Wahhab MA, Aly SE. Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol.* 2005;25:218–223.
- 115-Mansour MA. Protective effects of Thymoquinone and Desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice. *Life Sciences.* 2000;66:2583–2591.
- 116-Kanter M. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄ –treated rats. *J Vet Med.* 2003;50:264–268.

8. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Gaziantep’de doğdu. 1995 yılında Gaziantep Anadolu Lisesinden mezun oldu. 2002 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldu. 2003–2005 yılları arasında Malatya Merkez Hanımın Çiftliği Sağlık Ocağında Pratisyen Hekim olarak görev yaptı. 2005 yılında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Evli, bir kız ve bir erkek çocuk annesidir.