



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

**ÇÖREK OTUNUN(*NİGELLA SATİVA*) YAPISI VE
AKCİĞERLER ÜZERİNDEKİ ANTİOKSİDAN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Kübra TAŞKAN

Danışman
Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

SAMSUN
2022

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



**ÇÖREK OTUNUN(*NİGELLA SATİVA*) YAPISI VE
AKCİĞERLER ÜZERİNDEKİ ANTİOKSİDAN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Kübra TAŞKAN

Danışman
Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Kübra TAŞKAN tarafından, **Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ** danışmanlığında hazırlanan “**Çörek Otunun (*Nigella Sativa*) Yapısı ve Akciğerler Üzerindeki Antioksidan Etkisi**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 21.3.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Ahmet CEYLAN Ankara Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret

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

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

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

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

İmza

... / ... / 2022

Kübra TAŞKAN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: Çörek Otunun (*Nigella Sativa*) Yapısı ve Akciğerler Üzerindeki Antioksidan Etkisi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 11.02.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 24

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

İmza

... / ... / 2022

Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

ÖZET

ÇÖREK OTUNUN(*NIGELLA SATIVA*) YAPISI VE AKCİĞERLER ÜZERİNDEKİ ANTİOKSİDAN ETKİSİ

Kübra TAŞKAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Mart/2022

Danışman: Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

Nigella sativa , halk arasından bilinen adıyla çörekotu, genellikle Akdeniz kıyılarında yetişen otsu bir bitkidir. Son zamanlarda bitki antioksidanları yan etkilerinin az olması ve besin takviyesi olarak kullanılması sebebiyle sıkça tercih edilir hale gelmiştir. Tüm zamanların bitkisi olan çörek otu (*Nigella Sativa*), insanlar tarafından sağlığı desteklemek amacıyla kullanılmıştır. Timokinonun (TQ) yüksek antioksidan özelliğinden dolayı birçok hastalıkta yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışmada timokinonun (TQ) antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan, antifibrotik, antihistaminik, hipoglisemik ve antidiyabetik etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Timokinonun (TQ) toksik etkisi ancak çok yüksek dozlarda görülmektedir. Timokinon (TQ) yüksek biyolojik yapısı ve düşük toksisitesi sebebiyle dikkat çekmekte ve terapötik ilaçlara alternatif olabilmektedir. Çörek otu (*Nigellasativa*) bitkisi ve yağı asırlar boyunca, Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da; günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da milyonlarca insan tarafından sağlığı desteklemek için kullanılmıştır. Bilimsel araştırmalar sonucunda çörek otu tohumu yapısında bulunan vitaminler, etken maddeler ve önemli yağ asitleri nedeni ile bilim adamları tarafından tüketilmesi önerilen bir ürün olmuştur. Bu çalışmada, çörek otunun aktif bileşenlerinden biri olan timokinonun akciğerler üzerindeki antioksidan etkisinin kapsamlı değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Çörekotu (*Nigella Sativa*), Timokinon, Antioksidan, İmmunhistokimya, Akciğer

ABSTRACT

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

Kübra TAŞKAN

Ondokuz Mayıs University

Institute Of Graduate Studies

Department Of Veterinary Histology and Embryology

Master, March/2022

Supervisor: Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ

Nigella sativa, popularly known as black cumin, is a herbaceous plant that usually grows on the Mediterranean coast. Recently, plant antioxidants have become frequently preferred due to their low side effects and nutritional supplementation. *Nigella Sativa*, an all-time plant, has been used by people to promote health. Thymoquinone (TQ) is widely used in many diseases due to its high antioxidant properties. Many studies suggest that thymoquinone (TQ) has antimicrobial, antiinflammatory, anticancer, antioxidant, antifibrotic, antihistaminic, hypoglycemic and antidiabetic effects. The toxic effect of thymoquinone (TQ) is only seen at very high doses. Thymoquinone (TQ) attracts attention due to its high biological structure and low toxicity and may be an alternative to therapeutic drugs. *Nigella* (*Nigella sativa*) plants and oil for centuries in Africa, Asia and the Middle East today is by the United States and millions of people in Europe to promote health was a plant used and has been a material referenced in terms of health. As a result of scientific research, it was suggested that the seeds of vitamins, active substances and essential fatty acids should be consumed by scientists due to acid. In this study, it was aimed to comprehensively evaluate the antioxidant effect of thymoquinone, one of the active components of black cumin, on the lungs.

Keywords: *Nigella sativa*, Thymoquinone, Antioxidant, Immunohistochemistry, Lung

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışma süresince her türlü yol gösterici olan, olumlu tavırlarıyla beni cesaretlendiren, bilgi birikimiyle çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan, güler yüzünü eksik etmeyen, beraber çalışmaktan ve her zaman öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ' ye sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecim boyunca hiçbir konuda desteğini esirgemeyen güzel yürekli hocam Dr. Öğretim Üyesi Tuğrul ERTUĞRUL'a sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimine birlikte başlamış olduğum, bu yolda birlikte ilerlediğim, desteklerini eksik etmeyen çok saygı değer arkadaşlarım Tuğba ERGEL ve Hülya ŞEN'e teşekkür ederim.

Son olarak tüm hayatım boyunca benim yanımda olan, aldığım kararları her zaman destekleyen, sadece bu çalışma sürecinde değil tüm hayatım boyunca beni cesaretlendiren ve moral veren annem Selma TAŞKAN'a, babam Orhan TAŞKAN'a ve kardeşlerim Büşra, Meryem, N.Taha TAŞKAN'a sonsuz şükranlarımı sunar ve teşekkür ederim.

Kübra TAŞKAN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Çörek Otunun Genel Özellikleri	3
2.1.1. Çörek Otunun Yapısı	3
2.1.2. Çörek Otu Tohumunun Geleneksel Kullanımı	3
2.1.3. Çörek Otunun (<i>Nigella Sativa</i>) Fizikokimyasal Özellikleri	4
2.2.Timokinonun Genel Özellikleri	4
2.2.1Timokinonun Kimyasal Özellikleri	4
2.2.2.Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri.....	6
2.2.3.Timokinonun Farmakokinetik Özellikleri	6
2.2.4.Timokinonun Moleküler Etki Mekanizmaları	7
2.2.5.Timokinonun Solunum Yolu Hastalıklarına Karşı Etkisi.....	7
2.3.Antioksidan Sistem	8
2.3.1.Endojen Antioksidanlar	9
2.3.1.1.Enzimatik Antioksidanlar	9
2.3.1.2.Nonenzimatik Antioksidanlar	12
2.3.2.Eksojen Antioksidanlar.....	15
2.3.2.1.Vitamin Eksojen Antioksidanlar	15
2.3.3.Serbest Radikaller	16
2.3.3.1.Homolitik Bölünme:.....	17
2.3.3.2.Heterolitik Bölünme:.....	17
2.3.3.3.Bir Moleküle Tek Bir Elektronun Eklenmesi	17
2.3.4.Reaktif Azot Türleri.....	18
2.3.4.1.Nitrik Oksit (NO)	18
2.3.5.Reaktif Oksijen Türleri	21
2.3.6.Reaktif Sülfür Türleri	22
2.4.Solunum Sistemi Histolojisi.....	23
2.4.1.İletim Bölümü	23
2.4.1.1.Nazal Kavite	23

2.4.2.Solunum Bölümü	23
2.4.2.1.Akciğerler (Pulmones)	23
2.5.Timokininin Akciğerler Üzerindeki Etkisi.....	26
2.5.1.Timokininin Antioksidan Etkisi.....	26
3. MATERYAL VE METOD.....	28
3.1.Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları	28
3.2.Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması	28
3.3.Hayvanların Canlı Ağırlık Ölçümü, Organların Alınması, Tespit ve Takip.....	29
3.4.İmmünohistokimyasal Boyama.....	29
3.4.1.Gereçler.....	29
4. BULGULAR.....	33
4.1.Histokimyasal bulgular	33
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular:	40
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ.....	64
KAYNAKLAR.....	65
ETİK KURUL KARARI.....	73
ÖZ GEÇMİŞ.....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALI	: Akut Akciğer Yaralanması
ARDS	: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
B1	: Tiamin
B2	: Riboflavin
CAT	: Katalaz
cNOS	: Konstitütif Nitrik Oksit Sentetaz
DHLA	: Dihidrolipoik Asit
DTQ	: Ditimokinon
EC SOD	: Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü
GCL	: Glutamin-Sistein Ligaz
GCLC	: Glutamin-Sistein Ligaz Katalizör
GCLM	: Glutamin-Sistein Ligaz Düzenleyici
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSS	: Glutasyon Sentetaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
I/R	: İskemi-Reperfüzyon
IL-1	: İmmünolojik Reaksiyonların Mediatorü
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
İp	: İntraperitoneal
İv	: İntravenöz
NF-Kb	: Nuclear Factor kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NO ₂	: Nitrojen Dioksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
ONOO-	: Timokinonun Peroksinitrit
PP	: Niasin
PPARs	: Peroksizom Poliferator Aktiflenmiş Respiratörler
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RSS	: Reaktif Sülfür Türleri

Se-GPx	: Selenyuma Bağlı Glutasyon Peroksidaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SR	: Serbest Radikaller
THQ	: Timohidrokinon
THY	: Timol
TNF	: Tümör Nekrozu Faktörü
TQ	: Timokinon
UV	: Ultraviole



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Nigella Sativa çiçeği	3
Şekil 2.2 . Çörek otu tohumu yağının bileşenleri	5
Şekil 2.3. Homolotik Bölünme	17
Şekil 2.4. Nitrik oksit sentezi	19
Şekil 2.5. L-Arjinin-nitrik oksit yolu	20
Şekil 2.6. Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonu	22
Şekil 2.7. Moleküler oksijenin indirgenmesi	22
Şekil 4.1. 1ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif	33
Şekil 4.2. 1ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'lik objektif	34
Şekil 4.3. 2 ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif	35
Şekil 4.4. 2ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif	35
Şekil 4.5. 10 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif....	36
Şekil 4.6. 10 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif...	37
Şekil 4.7. 20 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif....	38
Şekil 4.8. 20 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'lu objektif.....	38
Şekil 4.9. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 40'lük objektif	39
Şekil 4.10. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif	40
Şekil 4.11: Negatif kontrol x10	41
Şekil 4.12. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif	42
Şekil 4.13. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif	43
Şekil 4.14. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif	44
Şekil 4.15. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif	45
Şekil 4.16. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 10'lik objektif	46
Şekil 4.17. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 20'lik objektif	47
Şekil 4.18. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif	48
Şekil 4.19. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif	49
Şekil 4.20. Kontrol grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif	50
Şekil 4.21. Kontrol grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif	50
Şekil 4.22. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif	52
Şekil 4.23. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif	53
Şekil 4.24. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif	54
Şekil 4.25. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif	55
Şekil 4.26. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif	56
Şekil 4.27. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif	57
Şekil 4.28. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif	58
Şekil 4.29. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif	59
Şekil 4.30. Kontrol grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler	60
Şekil 4.31. Kontrol grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler	60

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Çörek otu tohumunun kimyasal içeriği.....	5
Tablo 2.2. Çörek otu tohumu sabit yağının kimyasal içeriği	6
Tablo 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması	9
Tablo 2.4. α -Lipoik asit ve Dihidrolipoik asitin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerindeki sürücü etkileri.....	15
Tablo 2.5. Reaktif azot türleri	18
Tablo 2.6. Reaktif oksijen türleri	21
Tablo 2.7. Reaktif sülfür türleri	22
Tablo 4.1. iNOS'un ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri	51
Tablo 4.2. SOD'un ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri	61

1.GİRİŞ

Yıllardır tıbbi ve itri bitkiler birçok hastalığın tedavisi dışında lezzet amacıyla kullanılmaktadır. Kronik hastalıklar sonucu meydana gelen ölümler, hastalıklardan korunma ve tanı tedavi yollarında tam başarı sağlanamaması uzmanları farklı araştırmalara yöneltmektedir. Bu nedenlerden dolayı, alternatif tıp uygulamalarından birisi olan “fitoterapi” diğer bir deyişle bitkilerle tedavi konusu bilimsel olarak günümüzde oldukça önemli bir boyut kazanmaktadır (Izzo, 2005). Günümüzde de bu bitkiler antioksidan etkileri ve geniş spektrumdaki tedavi edici özelliklerinden dolayı kozmetik, eczacılık ve gıda sektörü gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Gün, 2012). Ayrıca son dönemlerde gıdaları bozulmalara karşı korumak için bitkisel kaynaklı doğal maddelerin kullanımı büyük önem kazanmıştır. Bunlardan biride gıda sektöründe de kullanılan ve antioksidan etki gösteren maddelerdir.

Nigella sativa’nın organizmada başta immun sistem ve solunum sistemi olmak üzere birçok sistem üzerine etkileri bulunmaktadır (Forouzanfar, et al., 2014). *Nigella sativa* halk arasında astım, öksürük, bronşit, romatizma, dispepsi, ishal, dizanteri, ateş, ağrı, şişkinlik, sarılık, paralizi, basur ve diğer rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Ayrıca kardiyovasküler, sindirim, bağışıklık, karaciğer, böbrek ve solunum sistemi problemlerini düzeltebileceği ve geleneksel tıbbi kullanımda faydalı olabileceği düşünülmektedir (Khader,2014; Darakhshan, 2015). Bitkinin tohumundan yapılan tentür ise ishal, hazımsızlık, amenore, parazit, deri döküntüsü ve dismenorenin tedavisinde kullanılmaktadır. Kusmanın önlenmesinde çörek otu tohumları kavruarak tüketilebilmektedir. Çörek otu yağı antiseptik olarak da deri yoluyla uygulanabilmektedir (Mollazadeh, 2014).

Çörek otu sağlık sektörü dışında; gıda endüstrisi, ilaç, kozmetik ve boya gibi birçok sektörlerde de kullanılmaktadır. Çörek otu hakkında yayınlanmış yüzlerce bilimsel çalışma olmasına rağmen bitkinin kullanım alanları, spesifik ve güvenli kullanım formları, etkili miktar ve doz bilgileri hala netlik kazanmamıştır. Çörek otu, içerdiği timokinon ve diğer uçucu yağlar nedeniyle güçlü bir antioksidan ve besin takviyesi olarak kullanımı ile dikkat çeken bir bitkidir.

Son yıllarda sentetik antioksidanların toksikolojik ve kanserojenik özelliklerinin bulunması nedeniyle, üretilen katkı maddelerinin gıdalara ilave edilmesinden kaçınılmaktadır. Bu nedenle gıdalara ilave edilecek antioksidanlarda aranan en önemli

Özellik doğal olması ve sentetik olmamasıdır. Antioksidan etkiye sahip bitkilerden birisi de çörek otu esansiyel yağıdır.

Yıllar boyunca çörek otu tohumları Afrika'da, Asya'da ve Ortadoğu'da, günümüzde ise Amerika ve Avrupa'da birçok insan tarafından hastalıkların tedavisi dışında yaşam kalitesini artırma, aktif ve sağlıklı yaşama gibi birçok amaç için kullanılmıştır. Çörek otu tohumu içerisindeki en önemli bileşeni olan timokinon (TQ) sayesinde çok tercih edilen şıfalı bitkidir. Aynı zamanda klinik bulgular ile etkinlikleri bilimsel olarak da kanıtlanan çörek otu modern tıbbın da ilgisini çekerek tedavi amaçlı kullanılmaktadır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Çörek Otunun Genel Özellikleri

2.1.1. Çörek Otunun Yapısı

Çörek otu olarak bilinen *Nigella Sativa* Asya, Avrupa, Kuzey Afrika ve Güney Asya'da yetişmekte olan Ranunculaceae (dügün çiçeğigiller) ailesinde yer almaktadır. Ülkemizde ise yetiştirme yoğunluğu bakımından fazla olan yerler Isparta, Burdur, Konya ve Afyon illeridir (Forouzanfar, 2014; Khader, 2014). Ranunculaceae familyasının bir üyesi olan *Nigella Sativa* otsu ve tek yıllık bir bitkidir (Ceylan, 1983; Seçmen vd., 2000). Üç parçadan oluşan *Nigella Sativa*, yapraklı ve 20-50 cm boylarında bir bitkidir. Bu bitkinin gövde kısmı dallı, tüylü, dik ve seyrek yapılıdır. Çiçekler dalların uç kısmında tek tek ve uzun saplı olarak bulunur. *Nigella Sativa*'nın çiçekleri açık mavi veya beyaz renkli ve sarımsı yeşil uçludur. Çiçek açma dönemi Haziran ve Temmuz aylarıdır. Çok sayıda tohum taşıyan ve kapsül şeklinde bulunan bir meyvesi vardır. Bu tohumlar 3 mm uzunluğunda, oval şekilli ve üç köşeli taneler olup bitkinin kullanılan en önemli kısmını oluşturur (Feza, 2011).



Şekil 0.1. *Nigella Sativa* çiçeği

2.1.2. Çörek Otu Tohumunun Geleneksel Kullanımı

Halk arasında çörek otu olarak bilinen *Nigella sativa*'nın tohumları geleneksel tıpta yıllardır farklı hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır (Khader, 2014). Modern tıp biliminin dışında, geleneksel tıpta Uzak Doğu ve Orta Doğu ülkelerinde bazı semptom ve hastalıkların tedavisinde uzun yıllardır uygulanmaktadır. Bunlar ateş, baş dönmesi, ağrı, öksürük, astım, bronşit, inflamatuvar hastalıklar, diyabet, egzama,

hipertansiyon, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozuklukları, sinir sistemi hastalıkları, mide ve bağırsak sistemi hastalıklarıdır (Darakhshan, 2015).

Çörek otunun tohum kısmından elde edilen tentürün ise hazımsızlık, ishal, ağrılı adet göreme, deri döküntüsü, iştah kaybı ve kurt tedavisinde kullanıldığı; kusmanın engellenmesinde ise çörek otu tohumlarının kavrularak dahilen verildiği, yağının ise haricen antiseptik olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Mollazadeh and Hosseinzadeh, 2014).

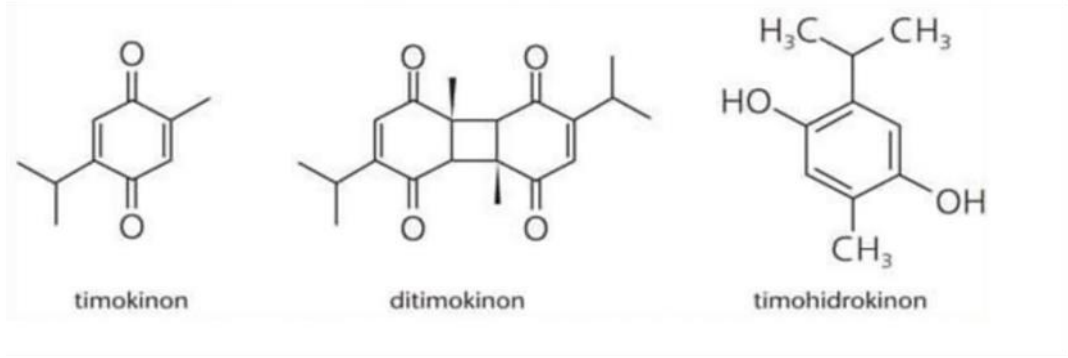
2.1.3. Çörek Otunun (*Nigella Sativa*) Fizikokimyasal Özellikleri

Çörek otu tohumu yağının fizikokimyasal özellikleri incelenirken bazı parametrelere bakılmaktadır. Bakılan parametrelerin bazıları şunlardır; renk, viskozite, termal profil, yağ asidi bileşimi ve oksidatif stablitedir (Cheikh–Rouhou, et al., 2007). Kullanılan soğuk pres yönteminde görülen şudur ki fenolik bileşeni fazla olan çörek otu tohumu yağı en düşük oksidatif stabiliteye sahiptir (Lutterodtn, et al., 2010). Oksidatif stabilite konusunda rancimat cihazı ile yapılan bir çalışmada 55 saate kadar dayanım süresi görülmüştür. Renk bileşenleri nedeni ile UV absorpsiyonunun yüksek olduğu ve bu özelliği ile güneşten koruyucu etki sağlayabileceği belirtilmiştir. İçerisinde yüksek miktarda doğal antioksidanlar ve düşük miktarda çoklu doymamış yağ asitleri bulundurmaktadır (Cheikh–Rouhou, et al., 2007).

2.2. Timokinonun Genel Özellikleri

2.2.1. Timokinonun Kimyasal Özellikleri

Bitkinin kimyasal yapısı yetiştirildiği iklime, hasat mevsimine ve çeşidine göre değişkenlik göstermektedir (El-Tahir and Bakeet, 2006). Ülkemizde 12 farklı türü yetişmekte olan ve günümüzde koruyucu olarak gıdalarda kullanılabilecek özelliklere sahip doğal kaynaklı maddelerden birisi de çörek otunun bileşiminde bulunmaktadır (Kar vd., 2007). *Nigella Sativa* ülkemizde çörek otu, siyah kimyon, siyah tohum ve bereket tanesi olarak da adlandırılmaktadır (Baytop, 1984). *Nigella Sativa* bitkisinin yağında 4 ana madde bulunmaktadır (Ghosheh, et al., 1999). Bunlar timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ, nigellon) ve timol (THY) dür.



Şekil 2.2 . Çörek otu tohumu yağının bileşenleri

Çörek otu tohumunun içeriği karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve esansiyel aminoasitleri içermektedir. Bu içeriğin %33-40 karbonhidrat, %16-20 proteindir (El-Tahir and Bakeet, 2006).

Tablo 2.1. Çörek otu tohumunun kimyasal içeriği (El-Tahir ve Bakeet, 2006)

İçerik	Miktar(kütle/kütle)
Yağ	31 -35.5
Protein	16-19.9
Karbonhidrat	33-34
Lif	4.5-6.5
Kül	3.7-7.0
Saponin	0.013
Nem	5-7

Çörek otu içerisinde monosakkarit olarak glikoz, ksiloz, arabinoz ve ramnoz bulundurmaktadır (Takruri ve Dameh, 1998). Vitamin ve mineral yönünden zengin olduğu bilinen çörek otu tohumu 100 gramında 1.529 mg B1 (tiamin), 10.5 mg Fe, 6 mg Zn, 1.8 mg Cu, 0.1 mg B2 (riboflavin), 0.5 mg B6 (pidoksin), 5.7 mg PP (niasin), 0.061 mg B9 (folik asid), 185.9 mg Ca, 1.7 mg Se, 526.5 mg P, 9.02 mg alfa-tokoferol, 54.2 mg gama tokoferol, 2.7 mg all-trans retinol bulundurmaktadır. Bu tohumlar demir, potasyum, kalsiyum bakımından da zengindirler (Al-Saleh, et al., 2006).

Doymamış yağ asitlerince zengin olan çörek otu tohumu içeriği, yağın esas kısmı olan linoleik asit ve daha az kısmını kapsayan oleik asitten oluşmaktadır. Geriye kalan doymamış yağ asitleri ise eikosanoit asit ve araşidonik asittir (Rhouhou, et al., 2007).

Tablo 2.2. Çörek otu tohumu sabit yağının kimyasal içeriği (El-Tahir and Bakeet, 2006)

Yağ Asit Bileşeni		%(KÜTLE/KÜTLE)
Linoleik Asit	18:2	44.7-56
Oleik Asit	18:1	20.7-24.6
Lineloik Asit	18:3	0.6-1.8
Araşidik Asit	20:0	2-3
Palmitoleik Asit	16:1	3
Eikosadienoik Asit	20:1	2-2.5
Palmitik Asit	16:0	12-14.3
Stearik Asit	18:0	2.7-3
Miristik Asit	14:0	0.16
Steroller		0.5

Çörek otu tohumunun içerisinde ayrıca birçok önemli mineral bulunmaktadır. Bunlar fosfor, kalsiyum, magnezyum, sodyum, demir, çinko, mangan ve bakırdır (Cheikh – Rouhou, et al., 2007).

2.2.2. Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri

Timokinon 1963 yılında ilk olarak El-Dakhkhany tarafından *Nigella sativa* L.'den ekstre edilen bir monoterpen bir bileşiktir (Salomi, et al., 1991). Kinin bileşenleri çörek otu tohumunun farmakolojik etkilerinin birçoğundan sorumludur (Darakhshan, et al., 2015; Forouzanfar, et al., 2014; Khader and Eckl, 2014;). Molar ağırlığı 164,20 g/mol molekül formülü $C_{10}H_{12}O_2$ olan timokinon (2-izopropil-5-metilbenzo-1, 4-kinon), tohumun yağının en biyoaktif majör bileşeni olup keto, enol ve karışık formlardan oluşur. Timokinon hidrofobik özelliğiyle ilaç formülasyonlarında kullanımı ve biyoyararlanımını sınırlandırmaktadır (Salomi, et al., 1991).

2.2.3. Timokinonun Farmakokinetik Özellikleri

Timokinon subakut, intravenöz (iv), intraperitoneal (ip), oral ve subkronik olarak uygulanmaktadır (Darakhshan, et al., 2015).

Timokinonun birçok terapötik uygulamaları olmasına rağmen yüksek derecede hidrofobik özelliği düşük çözünürlüğünden dolayı ilaç formülasyonlarının geliştirilmesi açısından kısıtlayıcı etki yaratmaktadır (Surekha, 2016). Son girişimlerle

timokininin biyoyararlanımını ve aktivitesini artırarak yeni analoglar elde edilmiştir. Timokininin etki mekanizmasını artırma nanopartikülat enkapsülasyonu sistemiyle çözülmüştür. (Örneğin; timokinin yüklü lipozomlar, katı lipid nanopartiküller, timokinin yüklü nano yapıllı lipid taşıyıcılar bu analoglardan bazılarıdır) (Darakhshan, et al., 2015).

2.2.4. Timokininin Moleküler Etki Mekanizmaları

Timokininin bütün etki mekanizmaları tamamen bilinmemekle birlikte oldukça karmaşıktır. Yapılmış olan çalışmalarda ortaya çıkan moleküler etki mekanizmaları; oksidatif parametreler ve inflamasyon araçları, peroksizom proliferator aktiflenmiş reseptörler (PPARs), apoptoz, transkripsiyon faktörleri üzerinde etkileri şekline ortaya çıkmıştır.

Timokininin antioksidan, kemokoruyucu ve antiinflamatuvar etkileri raporlanmıştır (Aggarwal, et al., 2008).

2.2.5. Timokininin Solunum Yolu Hastalıklarına Karşı Etkisi

Akut akciğer yaralanması (ALI) ve akut solunum sıkıntısı sendromunda (Acute respiratory distress syndrome, ARDS) tedavi metodu olarak çoğunlukla destekleyici tedavi kullanılmaktadır. Yapılmış olan bir çalışmada mide suyu ile ratlarda ARDS/ALI oluşturulmuş ve sonrasında TQ'nun akciğer dokusunu insan mide suyunun zararlı etkilerinden koruduğu ortaya koyulmuştur (Işık vd., 2005). Dispne ve astımda olmak üzere çörek otu tohumları solunum yolu problemlerine karşı terapötik etkilere sahiptir (Işık vd., 2005).

El Gazzar ve ark (El Gazzar, 2006a) TQ'yu ovalbumin farelere havayolu ile vermeden önce i.p enjekte ederek akciğer eozinofilinde artışa sebep olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte TQ, akciğerde allerjenin indüklediği eozinofilik inflamasyonu ve kadeh hücrelerinde mukus üretimini belirgin derecede inhibe etmiştir. Buna benzer başka bir çalışmada ise TQ'nun deneysel astımda antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu saptanmıştır (El Gazzar, 2006b).

Timokininin; sıçanlarda bleomisinindüklediği, pulmoner fibröz ilerleyişini azalttığı, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, alveollerde amfizeme, bronş etrafındaki lenfoid hiperplastik hücre aktivasyonunu ve bleomisin kaynaklı akciğer dokusunda NF- κ B'nin aktif form over-ekspresyonunu önlediği ve glutatyon S-transferaz ve

SOD antioksidan enzim aktivitesini normal değerlere düzelttiği bildirilmiştir (El-Khouly, et al., 2012).

Timokinonun, sıçanlarda antiapoptotik etki göstererek kronik tolüen maruziyeti kaynaklı akciğer hasarını azalttığı ve timokinonun siklofosfamid kaynaklı pulmoner hasara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Kanter, 2011; Suddek, et al., 2013).

2.3. Antioksidan Sistem

İnsanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan oksijen büyük öneme sahip olmasına rağmen metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijenler vücuda büyük zararlar verebilmektedir (Diplock, 1998).

Metabolizma sırasında üretilen bu reaktif oksijen türlerini engellemek, detoksifikasyonu sağlamak ve bu reaktif oksijen türlerinin oluşturabileceği zararları engellemek için vücutta görev yapan savunma sistemine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” denilmektedir (Şener, 2009).

Serbest radikallerin meydana getirmiş olduğu oksidatif stresi antioksidanlar ortadan kaldıracaktır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilir ve hücre harabiyetini önleyebilir özelliklere sahiptir. Antioksidanlar insan vücuduna dışarıdan alınabileceği gibi vücutta doğal olarak üretilmektedir. Antioksidanların dışarıdan alınan ve vücutta doğal üretilmiş olan ve serbest radikal süpürücü olarak hareket ederler. Bu özelliklerinden dolayı da savunma sisteminin etkisini artırır ve hastalık riskini azaltır (Shinde, 2012).

Oksidan ajanların vücudumuzda oluşumu ve uzaklaştırılması bu ajanların fonksiyonları ve oluşturacağı hasara bağlıdır. Antioksidanlar hücre içi ve dışı, enzimatik ve nonenzimatik, primer-sekonder-terciyer olarak sınıflandırılırlar (Tkaczyk, 2007). Bu sınıflandırmalar arasında kabul göreni ise enzimatik ve nonenzimatik ayırımıdır (Bast, 1991).

2.3.1. Endojen Antioksidanlar

Tablo 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir vd., 2011)

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q ₁₀
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α-lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
VİTAMİN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
α-Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehyd, tungsten)	
β-karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD),

Katalaz (CAT),

Glutasyon peroksidaz (GP_x),

Glutasyon redüktaz (GR)

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunmayı gösteren enzimatik antioksidan süperoksit dismutazdır (Sen, 2010).

Hücrede mitokondride hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijen oluşturmak için süperoksit radikallerinin dönüşümünü katalizleyen enzimatik antioksidan süperoksit dismutaz (SOD) dır (Kinnula and Crapo, 2004).



İnsan vücudunda SOD'un üç farklı şekli bulunmaktadır. Bunlar sitozolde çinko (Zn) ve bakır (Cu) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD), mitokondride manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) ve hücre dışı sıvılarda ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) bulunur (Young, 2001).

SOD'un hücrede en çok bulunan formu Cu/Zn SOD'dur. Cu/Zn SOD 32 kDa molekül ağırlığına sahip ve iki eşit alt üniteden oluşur ve bu üniteler bir Zn bir Cu atomu içerir (Mruk, et al., 2002).

Mitokondriyal bir enzim olup dört eşit alt üniteye sahip olan Mn SOD ise 80 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Bazı farklılıkları olmasına rağmen Cu/Zn SOD ile aynı reaksiyonu katalizleyen Mn SOD aktif bölgesinde Mn^{+3} bulundurmaktadır (Orbea, et al., 2000).

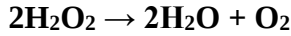
Ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) ın ise molekül ağırlığı 135,000 kDa dır. Organizmalarda birçok formda bulunur. Bunlar homotetramer, tetramer, dimer, multimer formlarıdır. Çoğunlukla homotetramer formda bulunur. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, her bir alt ünitesinde Zn ve Cu atomu içerir bu yüzden enzimatik reaksiyonlar için bakır ve çinko gereklidir. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz hücre yüzeylerinde, ekstrasellüler matrikste ve plazmada bulunur. Fakat yüksek yoğunlukta ve öncelikli olarak hücre yüzeyleri ve ekstrasellüler matrikste bulunur. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz birçok farklı hücre tarafından sentezlenmektedir. Bunlar fibroblast hücreleri, glia hücreleri ve endotel hücreleridir (Gao, 2008).

Katalaz (CAT)

Katalaz kalp, beyin ve iskelet kaslarında düşük miktarda hayvansal organizmaların aerobik hücrelerinde eritrositlerde ve karaciğerde yoğun olarak bulunmaktadır (Garewal, 1997).

Katalaz, her bir alt birimi bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içeren dört protein alt birimden meydana gelir (Kirkman, 1987). NADPH molekülü birçok katalazda yüzeye yakın ve sıkıca bağlıdır (Zamocky, 1999).

Katalaz daha çok peroksizomlar gibi hücre içi organellerde lokalize daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya ve oksijene çeviren enzimatik bir antioksidandır (Singh, et al., 2009). Katalaz enzimi H_2O_2 den hidroksil ($OH\bullet$) serbest radikalının oluşumunu engellediği için antioksidan özellik göstermektedir.



Glutasyon Peroksidaz (GP_x)

Glutasyon peroksidaz, her bir alt biriminde bir selenyum atomu bulunan dört protein alt birimden oluşmaktadır. Glutasyon peroksidaz hücrelerin sitoplazma kısmında bulunur ve H_2O_2 den kaynaklı oksidatif hasara karşı hücreyi koruyarak H_2O_2 den $OH\bullet$ 'nin oluşmasını engeller (Sen, 2011).

İntrasellüler glutasyon peroksidaz iki şekilde bulunmaktadır. Bunlar GP_x-1 ve GP_x-4 'tür. Hücre içerisinde yaygın olan ve çoğu dokuda bulunan türü GP_x-1 dir. GP_x-4 veya fosfolipid hidroperoksit peroksidaz lipid peroksitlerinin detoksifikasyonunda fosfolipaz reaksiyonu gerektirmeyen eşsiz bir antioksidan enzimdir (Sajjad, et al., 2000).

İki ana tipi olan glutasyon preoksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (DNA hidroperoksitler, lipid hidroperoksitler) metabolize eden bir enzimdir. Bunlardan biri selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz ($Se-GP_x$) 'dir ve aktif bölgesinde selenyum bulundurmaktadır. Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, organik hiperoksitlere ve H_2O_2 ye karşı etkiliyken selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde etkin rol oynamaktadır (Reiter, 1995).

Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz flavoprotein bir enzimdir içerisinde flavin adenin dinükleotid (FAD) vardır. Hücre içi glutasyon (GSH) seviyelerinin korunmasına yardımcı olarak oksidatif hasarın önlenmesinde rol almaktadır. Glutasyonla birlikte glutasyon peroksidaz enzimi hücrede hidrojen peroksit seviyesini düşürmekten

sorumludur (Meister, 1994). Bir flavoprotein olan GR hidrojen donör olarak β -nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) kullanarak okside glutatyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyon (GSH) katalizler (Massey and Willams, 1965).

2.3.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutatyon	Albümin
Melatonin	Selenyum
Ürik asit	α -lipoik asit
Bilirubin	Transferrin
Koenzim Q ₁₀	Seruloplazmin

Glutatyon (GSH)

Glutatyon neredeyse tüm ökaryotik hücrelerde sentezlendiğinden dolayı yüksek yoğunlukta bulunan bir antioksidandır ve hücrede detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, hücrenin redoks durumunu korumada, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de görev almaktadır (Townsend, 2003).

Glutatyon (γ -L-glutamyl- Lcysteinylglycine, GSH) kataliz, ara metabolizma ve taşıma gibi birçok biyolojik olayda faaliyet gösteren suda çözünen bir tripeptiddir (Bannai and Tateishi, 1986). GSH çoğunlukla sitoplazmada (yaklaşık olarak %85-90) bulunsa da burada sentezlendikten sonra çekirdek, peroksizomlar, endoplazmik retikulum ve mitokondride de bulunabilmektedir (Green, 2006).

Glutatyon iki kademeyle sentezlenir. İlk aşamada glutamin-sistein ligaz (GCL), sistein ve glutamini bağlayarak γ -glutamilsisteini meydana getirir. Sonra ki aşamada ise glutatyon sentetaz (GSS), glisinini γ -glutamilsisteine bağlayarak GSH molekülünü oluşturur. Glutamin-sistein ligazın düzenleyici (GCLM) ve katalitik (GCLC) görevleri vardır. Glutamin-sistein ligaz katalitik olarak glutamin ve sisteinin bağlamasından sorumlu iken düzenleyici olarak GCLC'nin etkisini artırmaktadır (Lagman, 2015).

Glutatyon lenfositleri aktive ederek bağışıklık sistemini kuvvetlendirir ve bağışıklık sisteminin normal çalışmasını sağlar (Li, et al., 2007). Ksenobiyotiklere maruz kalan bazı organlarda yüksek oranda bulunurlar. Bunlar; böbrek, karaciğer ve bağırsaklardır (Jewell and O'Brien, 1999).

Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), memelilerde birçok yerde seztezlenip salgılanır. Temel olarak beyin serebral yarı küreler arasındaki pineal bezdir fakat kemik iliği hücreleri, safra, lens ve gastrointestinal sistemden de sentezlenip salgılanmaktadır. Üreme ve uyku gibi biyolojik süreçleri düzenleyen bir hormondur (Yazıcı ve Köse, 2004). Karanlık esnasında triptofandan sentezlenir (Hevia, 2014).

Melatonin serbest radikallerin birçok zararlı etkilerini azaltmaktadır. Protein ve lipidlerin dışında hem çekirdek DNA'sını hem de mitokondriyel DNA'yı korur. Hücre içerisinde ki tüm bölümlerde makromolekülleri oksidatif hasardan korur. Melatonin serbest radikal süpürücüsü olmasına rağmen dolaylı bir antioksidan olması ve her yerde faaliyet göstermesiyle geniş çaplı bir koruma sağlar. Elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikallerin üretilmesini sağlar ve elektron kaçaklarını azaltır (Reiter, 2006).

Ürik Asit

Kanın toplam antioksidan kapasitesinin yaklaşık olarak yarısından sorumlu olduğu düşünülen ürik asit atık bir üründür. Yüksek yoğunlukta olduğu zaman kristalize olduğu için proveke gut artritis ve böbrek taşlarına neden olabilmektedir. Güçlü bir serbest radikal süpürücüsü olmasının yanında Cu ve Fe gibi metal iyonlarının şelatörlüğünü de yapar (Kumar, 2015; Waring, 2002).

Ksantin oksidoredüktaz enzimi hipoksantin ürik aside dönüştüğü son metabolik adımı düzenler. Bu reaksiyonun bir sonucu olarak reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Daha çok ince bağırsak ve karaciğerde olmasına rağmen miyokard ve endotelde de ksantin oksidoredüktazın üretildiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Iliesiu, 2010).

Bilirubin

Ömrünü tamamlayan eritrositlerin parçalanması sonucu içerisindeki hem proteininin yıkılmasıyla bilirubin oluşur. Son olarak safra ve idrarla atılan bilirubin aynı zamanda çok etkili bir antioksidandır (Gutteridge, 1995; Burtis, 2005).

Koenzim Q₁₀

Koenzim Q₁₀ (k-KoQ₁₀; ubikinol-10 ve/veya Ubikinon-10) her hücrede bulunabilen, yağda çözünen ve hücredeki enerji üretimi sırasında kilit enzimatik

reaksiyonlarda koenzim olarak görev alan vitamin benzeri bileşiktir (Stocker, 2007; Overvad, 1999). Koenzim Q₁₀'un kimyasal formülü 2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon'dur (Parkhideh, 2008).

Koenzim Q₁₀ lipit ve protein peroksidasyonunu baskılayan, serbest radikalleri süpüren bir antioksidan olarak görev yapar. İndirgenmiş formu, ubikinol (CoQH₂), elektron taşıma sisteminde elektron ve proton taşıyan lipofilik bir antioksidandır. Ubikinol, oksidanları nötralize etmek için elektron vererek çok güçlü bir antioksidan özellik gösterir (Gürkan, 2005).

Ayrıca koenzim Q₁₀ hücre sinyalinde, gen ekspresyonunda, hücre büyümesinin ve apoptosisin kontrolünde, membran stabilitesinin sağlanmasında fonksiyonları olduğu bilinmektedir (Kayapınar, 2002).

Albümin

Albümin, vücutta ozmotik basıncın düzenlenmesinde önemli bir görevi olan proteindir. Plazmada bulunan en önemli antioksidanlardan biridir (Roche, 2008).

Selenyum

Antioksidan ve bağışıklığı düzenleyici fonksiyonlara sahip başlıca elementlerden olan selenyum aminoasit sentezinde de rol alır. Selenyum GPx aktivitesini artırarak ROS oluşumunu engeller (Kim, 2014).

α -Lipoik Asit

α -Lipoik asit (1,2-ditiolan-3-pentanoik asit), dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidanlardır. Dihidrolipoik asit α -lipoik asitin indirgenmiş formudur (Packer, 2001).

Tablo 2.4. α -Lipoik asit ve Dihidrolipoik asitin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerindeki süpürücü etkileri (Packer L, 2001).

Serbest Radikal	α -Lipoik asit	DHLA
Süperoksit radikali	-	+
Hidroksil radikali	+	+
Hipokloröz asit	+	+
Peroksinitrit	+	+
Singlet oksijen	+	-
Nitrik oksit radikali	+	+
Peroksil radikali	-	+
Hidrojen peroksit	+	+

Transferrin ve Seruloplazmin

Transferrin temel olarak serumda bulunmasına rağmen düşük oranda diğer vücut sıvılarında da bulunur. Ferröz iyon (Fe^{+2}), fenton reaksiyonu ile yüksek derecede toksik olan $OH\bullet$ 'ye dönüşmesini katalizleyerek oksidatif strese neden olurken transferrin ise serbest ferröz iyon oranını düşürerek antioksidan özellik gösterir. Seruloplazmin, birçok dokuda sentezlenen antioksidan proteindir (Chauhan, 2004).

2.3.2. Eksojen Antioksidanlar

2.3.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

α -Tokoferol (Vitamin E)

Reaktif oksijen türlerinin fazla miktarda üretilmesi hücre içerisinde apoptoza neden olduğu düşünülmektedir. E vitamini hücrede ki reaktif oksijen türlerinin üretiminin inhibisyonu ile bu işlemi geciktirebilmektedir (Baldi, 2005).

Hücrede oksidatif stres arttığında α -tokoferol, hücre membranı ile ilişkili proteaz, protein kinaz C sitozolik fosfolipaz A2 enzimlerinin aktivitesini azaltması beklenir (Traber, 2007). Oksidatif stresin miktarı, E vitamininin dokuda tüketimini de etkiler (Baldi, 2005).

β -Karoten (Vitamin A)

β -karoten yağda çözünen bir pigmenttir. Hücrede oluşan serbest radikalleri scavenging etkisi ile yok eder ve hücreyi bu serbest radikallerin neden olabileceği

hastalıklara karşı korur. Karotenoidlerin birçok araştırmada görüldüğü üzere antioksidan etkisine bağlı olarak kanser oluşumunu inhibe ettiği görülmektedir. Bazı karotenoidler UV ışın ve kimyasalların neden olduğu tümörleri inhibe ettikleri ve immün yanıtı artırdıkları görülmüştür (Tojo and Lee, 1989).

Askorbik Asit (Vitamin C)

Askorbik asit suda çözünebilen bir vitamindir (Li, 2007). Vitamin C nitrojen dioksit, peroksinitrit, singlet oksijen, ozon, süperoksit gibi reaktif oksijen türlerini temizleyerek hücrede oksidatif strese karşı etkin bir koruma sağlar (Carr, 1999).

Folik Asit (Vitamin B9)

Folik asit (pteroilglutamik asit, vitamin B9 ya da vitamin M) suda çözünebilen bir vitamindir (Hussein, 2012). Folik asit ROS'u temizleyen çok güçlü antioksidanlardan biridir (Ebaid, 2013).

2.3.3. Serbest Radikaller

İlk kez Commoner ve arkadaşları tarafından 1950 yılında reaktif oksijen türlerinin hücre içinde üretildiği belirlenmiştir (Commoner, et al.,1954).

Serbest radikaller paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahip, kararsız yapıda, diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimleri yüksek atom veya moleküllerdir (Lü, et al.,2010; Carocho and Ferreira, 2013). Ömürleri oldukça kısadır. Bu süre milisaniye ile nanosaniyeler arasında değişiklik gösterir (Finaud, et al., 2006).

Serbest radikaller hem endojen hem ekzojen kaynaklar tarafından üretilmektedir. Endojen kaynaklar arasında sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar, mitokondri ve iltihaplı hücreler yer almaktadır.

Serbest radikaller hücre bütünlüğünün korunması ve hücre fonksiyonlarının sürülmesi esnasında ökaryotik hücreler tarafından üretilmektedir. Bunun dışında siklooksijenaz, nitrik oksit sentetaz, tirozin hidroksilaz, lipoksijenaz ve ribonükleoksit redüktaz enzimleri tarafından da serbest radikallerin oluşturulduğu bilinmektedir (Thomas, 2000).

Ekzojen kaynaklar arasında ise hava kirliliği, iyonize radyasyon, tüketilen gıda maddeleri, tütün ürünleri, aşırı fiziksel aktivite, güneş ve infrared ışınlar bulunmaktadır (Vinson, 2006). Bu kaynakların dışında alkol tüketimi, ilaç tedavisi,

enfeksiyon, toksin ve yetersiz beslenme, oksidatif strese serbest radikallerin artmasına neden olur (Singh, et al., 2004).

Serbest radikaller üç şekilde meydana gelir (Palmieri and Sblendorio, 2006):

2.3.3.1. Homolitik Bölünme:

Molekölü oluşturacak olan atomlar kovalent bağı oluşturan elektron çiftlerinden birer elektron alır ve yüksüz atom grupları oluşur.



Şekil 2.3. Homolitik Bölünme

2.3.3.2. Heterolitik Bölünme:

Bir molekülden sadece bir elektron kaybı olmaktadır. Bu tür heterolitik bölünmelerde serbestleşen elektronlar oluşan atom ya da atom gruplarından birinde kalırlar (Karakuş, 2007).

2.3.3.3. Bir Moleküle Tek Bir Elektronun Eklenmesi:

Bir moleküle herhangi bir şekilde tek bir elektronun transferiyle oluşur (Palmieri and Sblendorio, 2006).

Biyolojik ortamda serbest radikaller çoğunlukla azot, oksijen ve kükürtten oluşmaktadır. Reaktif azot türleri (RNS), reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif sülfür türleri (RSS) olarak adlandırılan molekül gruplarını oluşturmaktadır (Lü, et al.,2010).

2.3.4. Reaktif Azot Türleri

Tablo 2.5. Reaktif azot türleri (Halliwell, 1996).

Radikal Türler	Radikal Olmayan Türler
Nitrik oksit ($\text{NO}^\bullet$)	Nitrozil (NO^-)
Azot dioksit ($\text{NO}_2^\bullet$)	Nitröz asit (HNO_2)
	Nitroksit (NO)
	Dinitrojen tetroksit (N_2O_4)
	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)
	Peroksinitrit (ONOO^-)
	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Nitronyum katyonu (Nitril) (NO_2)
	Alkil peroksinitratlar (ROONO)

Reaktif azot türlerini nitrozil, nitroksit, nitröz asit gibi radikal olmayan bileşikler ve nitrik oksit, azot dioksit radikalleri oluşturmaktadır (Halliwell, 1996).

2.3.4.1. Nitrik Oksit (NO)

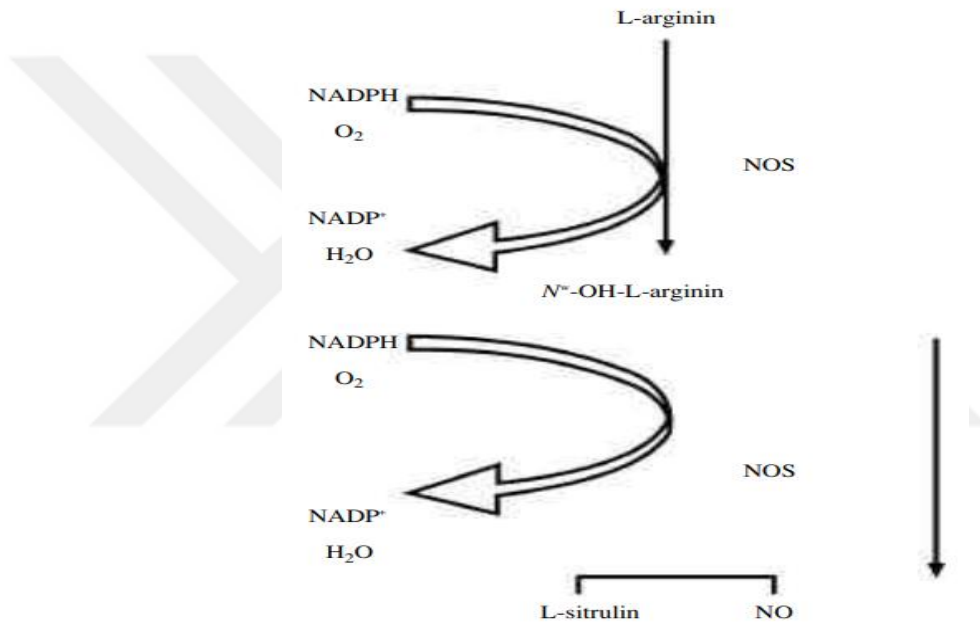
Nitrik oksidin (NO) 15-20 öncesine kadar basit bir atmosfer atığı olduğu düşünülmektedir (Ignarro, et al., 1987; Palmer, et al., 1988). Sigara dumanından ve otomobillerin egzozundan çevreye yayılarak asit yağmurlarına sebep olan ve ozon tabakasına zarar veren bir gaz olarak bilinirdi (Galanti, 1997). Fakat 1987 yılında damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) izole edilirken nitrik oksit sentetaz (NOS) keşfedilmiştir. Sonrasında süre gelen süreçte ise EDRF' nin NO olduğu tespit edilmiştir (Ignarro, et al., 1987; Palmer, et al., 1988).

Renksiz bir gaz olan NO düşük konsantrasyonda oksijenli ortamda bile stabil iken yüksek konsantrasyonda oksijensiz ortamda stabil durumda olup suda erime özelliği gösterir (Lowenstein, et al., 1994).

Eşlenmemiş elektrona sahip olması sebebiyle NO çoğu zaman ortamda serbest radikal bulunsada dahi birçok biyomolekülle zayıf tepkimeye girer. Peroksil ve alkil gibi radikallerle kolayca reaksiyona girerek daha az reaktif olan ürünler meydana gelir ve bu ürünler membran lipid peroksidasyonunu önleyerek serbest radikal süpürücü özellik

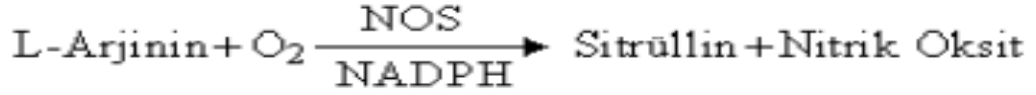
gösterir. Yüksek oranda üretildiğinde ise antioksidan özelliğini kaybeder ve oluşan peroksinitrit gibi ürünlerle oksidan etki gösterir (Laitonjam, 2012).

NO, parakrin ve otokrin bir hücrel ajandır. Ayrıca homeostazın sürdürülmesi ve normal fizyolojik koşulların sürdürülmesinde oldukça önemli rolü vardır (Davies, et al., 1995). NO, yarılanma ömrü 2-30 sn olan radikal bir molekül olup oksijen ve nitrojenin her bir atomundan oluşan küçük ve oldukça reaktif bir moleküldür (Lowenstein, et al., 1994; White, et al., 1992). NO, L-argininden sitrulin oluşumu esnasında L-argininin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan ara üründür (MacMicking, et al., 1997).



Şekil 2.4. Nitrik oksit sentezi

Nitrik oksidin antioksidan özellikleriyle ilgili ve serbest radikallerle etkileşimiyle ilgili varılan sonuçlar çelişkilidir. NO aracılığıyla aktif makrofajların mikrosidal aktivitelerini gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte, NO'dan üretilen doğru mediatörün nitrojen dioksit (NO₂) gibi ikincil bir oksidan madde olabileceği düşünülmektedir (Kalff, et al., 1999). Nitrik oksit sentetaz (NOS) vücudun birçok farklı dokularından (beyin, makrofaj, damar endoteli, üriner sistem dokuları vb.) izole edilerek kinetik ve fizyokimyasal özellikleri incelenmiştir (Moncado, 1992; Knowles, 1994).



Şekil 2.5. L-Arjinin-nitrik oksit yolu

NOS incelenen kinetik ve fiziko-kimyasal özelliklerine göre iki başlık altında incelenmektedir:

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz (iNOS)

Normal şartlarda bulunmayan bu enzim tümör nekrotizan faktör (TNF), endotoksinler ve interlökin1 (IL-1) gibi enflamatuar mediatörlerin varlığında granülositler ve makrofajlar gibi enflamatuar hücrelerde iNOS sentezi gerçekleşir (Fink, 1996).

Bu tip NOS hücre içerisinde bulunmaz. Genellikle makrofaj (hepatosit, nötrofil, monosit ve diğerleri) damar endotel hücrelerinde sentezlenmektedir (Lowenstein, et al.,1994). Bu hücrelerin özellikli olarak sitokinlerle aktivasyonu NO sentezine ve NOS'ın indüksiyonuna sebep olmaktadır (Cendan, et al., 1996).

NO sentezi indüksiyon sonrası saatlerce hatta günlerce devam edebilmektedir. Fakat uzun süren yüksek oranda NO sentezi makrofaj ve diğer dokularda da hasara sebep olabilmektedir (Nussler,1993; Marletta, 1994).

Çoğu ilaç ve hormonlar hücre içerisinde ki aktivasyonunu hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak gösterirler. Fakat NO hücre membranını geçerek sülfür veya demir içeren proteinlere bağlanarak etkisini göstermektedir (Ignarro, 1990). Merkezi sinir sisteminde NO koku alma, hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi gibi çoğu fonksiyonu destekleyen nörotransmitter olarak fonksiyon göstermektedir (Dawson, et al., 1992).

Konstitütif Nitrik Oksit Sentetaz (cNOS)

Özellikle idrar yolu dokuları, damar endoteli, santral ve periferik sinir sistemi gibi dokularda lokalize olan bu izoenzim her zaman bu dokularda bulunmasına rağmen her zaman aktif durumda değildir (Palmer, et al., 1988).

2.3.5. Reaktif Oksijen Türleri

Tablo 2.6. Reaktif oksijen türleri (Halliwell, 1996).

Radikal Türler	Radikal Olmayan Türler
Süperoksit ($O_2^{\cdot -}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH^{\cdot}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Peroksil ($RO_2^{\cdot}$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($RO^{\cdot}$)	Singlet oksijen (1O_2)
Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$)	

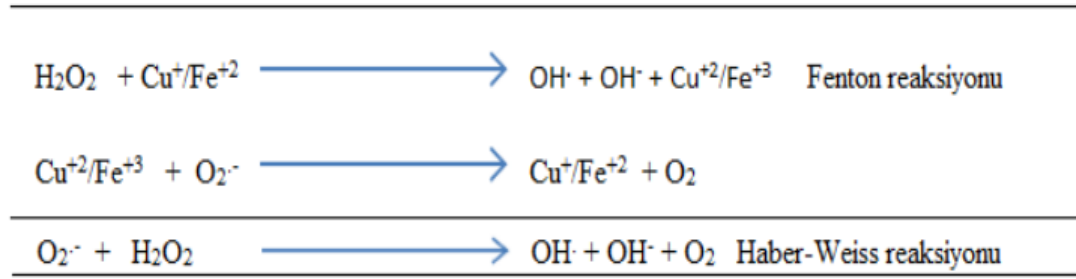
Vücut için önemli olan oksijen elementi nitrojen, karbon, kükürt ve hidrojen ile organik moleküllerin temelini oluşturur (Pham-Huy, et al., 2008).

Bir radikal olarak değerlendirilen ve yüksek derecede ROS üretme yeteneği olan O_2 , herhangi bir radikal olmayan madde ile yavaş tepkimeye girerken serbest radikallerle daha kolay bir şekilde reaksiyona girer (Dröge, 2002; Halliwell, 2006). ROS iki grupta incelenmektedir. Bunlar radikal ve radikal olmayan oksijen türleridir (Agarwal, et al., 2008).

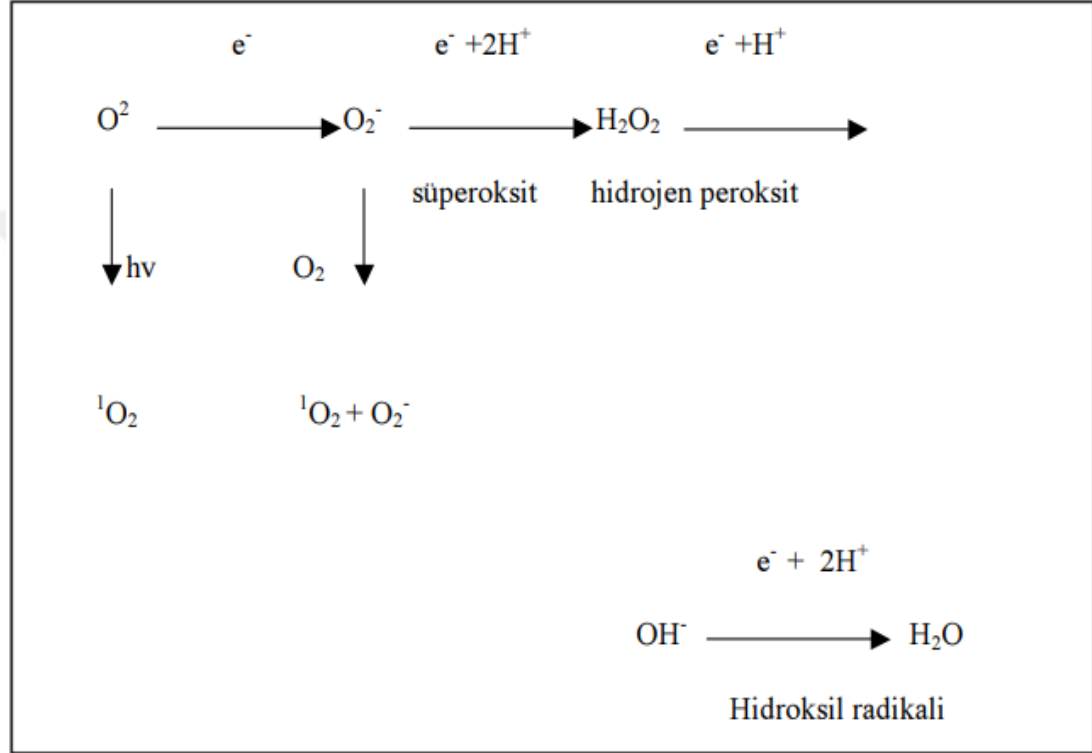
Süperoksit radikali oksijen molekülünün suya dönüşümü sırasında bir elektron ilavesiyle indirgenerek oluşan ilk ara maddedir (Yu, 1994). Üretimi genellikle hücrenin mitokondri organelinde olan süperoksit serbest radikal olduğu halde yüksek derecelerde reaktif değildir (Cadenas and Sies, 1998).

Oksijen molekülü iki elektron indirgendiğinde hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Serbest radikal olmamasına karşın hidrojen peroksit çok önemlidir. Zararlı ve yüksüz bir molekül olan H_2O_2 mitokondriyal ve diğer zarlar üzerine nüfuz edebilmektedir (Whittington, et al., 1999).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitten Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları sonucu oluşan çok güçlü bir reaktif oksidandır (Raha vd.,2000). Biyomoleküllerle daha güçlü reaksiyona girebilen hidroksil radikali biyolojik sistemlere ROS'lardan daha fazla zarar verebilir (Betteridge, 2000).



Şekil 2.6. Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonu



Şekil 2.7. Moleküler oksijenin indirgenmesi (Buechter, 1988).

2.3.6. Reaktif Sülfür Türleri

Tablo 2.7. Reaktif sülfür türleri (Gruhlke and Slusarenko, 2012).

Radikal Türler	Radikal Olmayan Türler
Tiyil ($\text{RS}^\cdot$)	Tiyol (RSH)
	Disülfid (RSSR)
	Sülfenik asit (RSOH)
	Tiyosülfinat (disülfid-S-monoksit) (RS(O)SR)
	Tiyosülfonat (disülfid-S-dioksit) ($\text{RS(O)}_2\text{SR}$)

2.4. Solunum Sistemi Histolojisi

Solunum sistemi iki bölümde incelenmektedir. Bunlar üst iletim bölümü ve alt solunum bölümüdür. Üst iletim bölümü; nazal boşluk, paranasal sinüsler, nazofarinks ve orofarinksden oluşmaktadır. Alt solunum bölümü; larinks, trakea, bronşlar, bronşiyoller, alveolar kanal, alveolar kese ve alveolden oluşmaktadır.

Temelde akciğer parankimi dallanmış hava keselerinden oluşmaktadır (Ross, 2015; Gartner, 2017).

2.4.1. İletim Bölümü

Akciğerlerde gaz değişiminin gerçekleştiği ve solunan havayı iletmekten sorumlu solunum sistemi bölümüdür.

2.4.1.1. Nazal Kavite

Solunum sisteminin üst kısmında içi hava dolu iki geniş boşluktan oluşmaktadır. Bu boşluklar septum adı verilen kemik ve kıkırdaktan oluşan yapı ile birbirinden ayrılmaktadır ve boşluklar ön taraftan iki adet nostril ile dışa açılmaktadır. Nazal kavite üç bölümden oluşmaktadır (Ross, 2015; Gartner, 2017). Bunlar;

1. Nazal Vestibül
2. Solunum Bölümü
3. Olfaktör Bölüm

2.4.2. Solunum Bölümü

2.4.2.1. Akciğerler (Pulmones)

Solunum sisteminin temel organı olan akciğerler göğüs kafesi içerisinde yerleşmiştir. Göğüs boşluğunu çevreleyen seröz zarın (plöyra) viseral yaprağı organı dıştan çevreler. Plöyranın boşluğa bakan yüzünde tek sıralı yassı mezotel hücreleri bulunur. Altında gevşek bağ dokulu subseroza katmanı yer alır. Subseroza katmanı içinde kollagen ve elastik iplikler ile düz kas hücreleri bulunur. Akciğer kapsülünü oluşturan bu bağ doku yapısı organ içerisine girerek organı loplara daha sonra lopçuklara ayırır. İnterstisyum diye adlandırılan bağ doku bölmeleri loplar arasında daha geniş, lopçuklar arasında ise daha dar bir alanı işgal eder. Kan ve lenf damarları, sinirler ve solunum borucuklarının hepsi interstisyumda yer alırlar. Akciğer yapısındaki oluşumlar fonksiyonlarına bağlı olarak havayı ileten borular ve respiratorik doku olmak üzere iki bölümde incelenir (Aytekin vd., 2008).

Havayı İleten Borular

Havayı ileten borular sistemi, trakeyanın göğüs boşluğunda ikiye ayrıldığı yerden (bifurkasyon) başlayıp respiratorik dokuya kadar devam eden bölümdür. Bronchus (bronkus- bronş) ve bronchiolus (bronkulus- bronşçuk) olmak üzere iki bölümden oluşur (Aytekin, vd., 2008).

Bronşlar

Bifurkasyon noktasından itibaren akciğerin hilusuna kadar olan ilk bronşlar, akciğer dokusu dışında yer alan ekstrapulmoner bronşlardır. Akciğerlere hilusdan girdikten sonra organ içinde dallanarak seyreden bölümü ise intrapulmoner bronşlardır. Bronşlar akciğer içerisinde dallanarak çapları küçülür. Bir bronşun çapı, kendisinden dallanan bronşların toplam çapından küçüktür.

Bronşlar bifurkasyon noktasından itibaren, son kolları olan bronşçuklara kadar aynı yapıyı gösterir. Bronş lumenini çevreleyen mukoza respiratorik mukoza özelliğindedir. Bronşları dışarıdan çevreleyen katman adventisya karşılığıdır. Akciğer dokusunda bulunan interstisyel bağ dokunun bronşlar etrafında yerleşenidir. Bağ doku içinde sinir telleri, bronşlara ait besleyici damarlar, akciğerin fonksiyonel damarları olan arteriya ve vena pulmonalisler bulunur. Bu hali ile bronşlar çevre dokuya gevşek olarak bağlanır (Aytekin vd., 2008).

Bronşçuklar

Bronşların bitmesiyle havayı ileten boruların duvar yapısında bir takım değişimler görülür. Parçalı kıkırdak ve submukozadaki bez yapıları tamamen ortadan kalkar. Geçiş sürecinde önce parçalı kıkırdak, sonra da bezler kaybolur. Bezlerin kaybolduğu yerden itibaren kanal, bronşçuk adını alır. Epitel katmanda da değişim söz konusudur. Bronşçukların başlangıcından itibaren epitel, tek katlı prizmatik yapıya dönüşür. Bronşçukların bronşlardan sonra gelen ilk bölümlerine bronkulus verus (bronkulus terminalis) adı verilir. Son bölümleri yani respiratorik dokuya çok yakın bölümleri bronkulus alveolaris (bronkulus respiratory)' lerdir. Bronkulus alveolarislerde yassı epitel hücreleri, silyumlu hücreler yanında silyumsuz hücreler de (Clara hücreleri) bulunur. Kadeh hücreleri tamamen yok olmuştur (Aytekin vd., 2008).

Respiratorik Doku

Sistemin fonksiyonlarını yerine getirmede en önemli bölümüdür. Bu kısımda özelleşmiş yapılar bulunmaktadır. Akciğer lopçukları içerisinde yer alan fonksiyonel ünite alveol denilen yapılardan oluşur. Çok sayıda alveolün birleşmesi ile kese şeklinde bir yapı oluşur buna sakkulus alveolaris denir. Bronşçukların son bölümü olan bronkulus alveolaris, sakkulus alveolarise açılır. Sakkulus alveolarisi oluşturan alveoller, interalveolar septum ile bağlantı halindedir. Alveoller akciğerin süngerimsi dokusunu oluştururlar. İnteralveolar septumlarda bağ doku içinde elastik iplikler ve düz kas hücreleri bir arada bulunurlar. Bu yapı havanın alveollerden, dolayısıyla sakkulus alveolarisinden dışarı verilmesinde önemli rol oynar.

Sakkulus alveolaris arasında bulunan bağ doku intersakkuler interstisyum olarak adlandırılır. Alveol keseleri arasında bulunan bağ doku yapısındaki interstisyum, birbirine komşu keselerin bazı alveolleri arasında çok incedir ve alveoller birbiriyle temas halindedir. Temas halindeki alveoller arasında yer yer por denilen açıklıklar bulunur. Böylelikle komşu sakkulus alveolarisler arasında luminal ilişki kurulur.

Alveoller, oksijen ve karbondioksit değişiminin yapıldığı ünitelerdir. Alveol lumenini çevreleyen epitel tek sıralıdır. Bu hücrelerin sitoplazmaları son derece incelmıştır. Alveol epiteline ait bazal membran ile alveolü çevreleyen damarların bazal membranı karşı karşıya gelmiştir. Çoğu zaman bu bazal membranlar birbirine karşılar ve tek olarak görülürler. Daha sonra da kapiller damar lümenini çevreleyen endotel hücresinin sitoplazması ve damar içinde yer alan alyuvarlar bulunur. İçte, alveolü çevreleyen ince sitoplazmalı epitel hücreleri pnömosit I'lerdir. Bu kısımdan gaz değişimi gerçekleşir. Kanla gelen karbondioksitin alveole verilmesi ve soluk almayla alveole gelen oksijenin kana geçmesi son derece incelmış bu duvardan olur. Bu katmanların tümüne kan-hava bariyeri adı verilir.

Alveol duvarında yer alan ikinci grup hücre pnömosit II'lerdir. Bunlar daha azınlıkta olup yuvarlağa yakın, lumene doğru çıkıntılı hücrelerdir. Organel yönünden zengin olan bu hücreler mikrovillus taşırlar ve surfaktant denilen maddeyi salgırlar. Surfactant, antiatletektazik faktör olan alveollerin epiteli üzerinde bir katman oluşturur. Alveol duvarını gergin tutarak kapanmalarını önler. Atektaziye önleyen başka bir mekanizma da daha önce bahsedildiği gibi interalveoler septum, interlobuler alanlar, interlober alanlar ve bunların subplöral alanda bulunan elastik iplik ve düz kaslarla olan ilişkisidir.

Akciğer dokusunda bulunan bir başka hücre de alveol epitelinin altındaki bağ dokuda bulunan alveoler makrofajlardır. Bunlar organizmada mononuklear fagositik sisteme dahil hücrelerin akciğer dokusundaki temsilcileridir. Kandaki monositlerden köken alan bu hücreler, zaman zaman alveol epitelileri arasından alveol lümenine çıkarak zararlı maddeleri fagosite ederler (Aytekin vd., 2008).

2.5. Timokinonun Akciğerler Üzerindeki Etkisi

Akciğerler ve timokinon üzerinde yapılmış olan çalışmalarda timokinonun akciğerler üzerinde koruyucu etkileri olduğu görülmüştür (El Gazzar, et al., 2006; Güzelsoy vd., 2018). Timokinon dispne ve astım dahil solunum yolu hastalıklarına karşı terapötik etkilere sahiptir (Isık, et al., 2005). Timokinonun, sıçanlarda antiapoptotik etki göstererek sıçanlarda kronik toluen maruziyeti kaynaklı akciğer hasarını azalttığı ve timokinonun siklofosfamid kaynaklı pulmoner hasara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Kanter, 2011; Suddek, et al., 2013).

Timokinonun; sıçanlarda pulmoner fibröz ilerleyişini azalttığı, bleomisinindüklediği, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, hava alveollerinde amfizemi, bronş etrafındaki lenfoid hiperplastik hücre aktivasyonunu ve bleomisin kaynaklı akciğer dokusunda NF- κ B'nin aktif form over-ekspresyonunu önlediği ve glutatyon S-transferaz ve SOD antioksidan enzim aktivitesini normal değerlere getirdiği bildirilmiştir (El-Khouly D, et al., 2012).

Akciğerlerde timokinon koruyucu özellik olarak alerjik yanıtta antiinflamatuvar etki göstermektedir. OVA duyarlı farelerde timokinonun IP enjeksiyonu alerjik havayolu inflamasyonunu azaltmıştır. Bronşial astım, kronik hava yolu inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Lökotrienler ise astım patolojisinde inflamatuvar mediyatörler olarak rol oynar. Yapılmış olan çalışmada, timokinonun, lökotrien biyosentezinde baş enzim olan 5-lipoksijenaz ekspresyonunu inhibe ederek LT-B4 ve LT-C4 seviyelerini düzenlediği gösterilmiştir (El Gazzar, et al., 2006; Hayat, et al., 2011).

2.5.1. Timokinonun Antioksidan Etkisi

Antioksidanlar, oluşan radikalleri ortamdan uzaklaştırma, hasar gören molekülleri onarma ve temizleme, radikal oluşumunu önleme gibi radikallere karşı meydana gelmiş mekanizmadır. Yapılmış olan birçok çalışmaya göre timokinonun farklı mekanizmalarla antioksidan etkileri olduğu bildirilmiştir. 2002 yılında El-Dakhakny ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada timokinonun 5-

hidroksieikosa-tetraenoik asit gibi 5-lipooksigenaz ürünlerinin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. İnhibe ettiği gösterilen bu moleküller kolon kanseri hücrelerinin yaşayabilmesi için gereklidir. Timokinonun hidroksil radikalleri ve süperoksit radikal anyonu da dahil olmak üzere çeşitli oksijen türleri üzerine radikal temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (Kruk, et al., 2000; Mansour, et al., 2001; Badary, et al., 2003). Bununla birlikte timokinon, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi hepatik antioksidan enzimlerde ciddi bir azalmaya neden olur (Badary, et al., 2000).

Yapılan in vitro çalışmalar *Nigella sativa* tohumu ekstratının akrep ve yılan zehirlerinin hemolitik aktivitelerini inhibe ettiği (Sallal, et al., 1996), eritrositleri hidrojen peroksitin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna, protein degradasyonuna, deformasyon kaybına ve osmotik fragilitenin artmasına karşı koruduğu (Suboh, et al., 2004), gırtlak kanseri hücrelerini kortisol veya lipopolisakkaritler tarafından indüklenen apoptoza (programlanmış hücre ölümü) karşı koruduğu (Corder, et al., 2003) gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları

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

Çalışma Planı

Ratlar, 1. grup (Deney 1)

2. grup (Deney 2)

3. grup (Deney 3)

4. grup (Deney 4)

5. grup (Deney 5) olmak üzere 7'şer rattan oluşan 5 gruba ayrılacak ve deney 42 gün sürdürülecektir.

3.2.Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması

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

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

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

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

5.Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı.

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

Çalışma sonunda ratlar canlı vücut ağırlıkları alındıktan sonra ketamin+ksilazin anestezisi altında uyutuldu. Sonrasında ratlara servikal dislokasyon yapılarak akciğerleri alınarak tespit edildi.

Tüm gruplara ait ratların akciğer dokuları 24 saat süre ile %10'luk Tamponlu Formaldehit tespit solüsyonuna tespit edildi. Rutin doku takibi prosedürleri uygulanarak, dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ'luk kesitler alındıktan sonra normal histolojik yapının incelenmesi için Crossmon'ın üçlü boyama tekniği uygulandı (Crossman, 1937). Ayrıca parafin bloklardan alınan 5 µ'luk doku kesitlerinde iNOS ve SOD'un varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi.

Elde edilen preparatlar Nikon E-50İ araştırma mikroskobu altında ve Nikon digital-sight DS-Fi1 görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı. İmmunohistokimyasal değerlendirmeler boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı.

3.4. İmmunohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan alınan 5 µ'luk akciğer kesitlerinde iNOS ve SOD'un varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi.

3.4.1. Gereçler

Antikor sulandırma solüsyonu

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

Protein Bloklama Solüsyonu

Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC kit (ab64264) içerisinde bulunan bloking solüsyonu kullanıldı.

Primer Antikor

Çalışmada, Biont firmasına ait iNOS (Abcam, ab3523) ve rabbit poliklonal SOD (Bioss, bs-10216R) rabbit poliklonal primer antikorları kullanıldı. iNOS antikoru 1:200, SOD antikoru 1:750 oranında antikor sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı.

Sekonder Antikor

Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC kit (ab64264) içerisinde bulunan sekonder antikor kullanıldı.

StreptavidinPeroksidaz

Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC kit (ab64264) içerisinde bulunan HRP-Streptavidin biotin peroksidazı kullanıldı.

Kromojen

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

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

İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Solüsyonlar

Poly-L-lysine Solüsyonu

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

Phosphate Buffered Saline (PBS) Solüsyonu

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

Hidrojen Peroksit Solüsyonu

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

Sitrat Buffer Solusyonu

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

İmmunohistokimyasal Boyama Prosedürü

Streptavidin- Biotin- Peroksidaz yöntemine göre yapılan boyamada;

- 1- Polilizinli lama çekilen dokular 37° C lik etüvde kurutuldu.
 - 2- Deparafinizasyon işlemi için, dokular ksilole alındı (2x10 dakika).
 - 3- Kesitler %100'lük alkol (2x5 dakika), %96'lık alkol (2x5 dakika), %80'lik ve %70'lik alkol (5 dakika) solüsyonlarından geçirildi.
 - 4- Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için sitratbuffer (pH:6) solüsyonu içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık devirde, 3 defa olmak üzere 5'er dakikalık ısıtma işlemine tabi tutuldu. Daha sonra sitrat buffer solüsyonu içersindeki kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı.
 - 5- Sitrat buffer solüsyonundan çıkarılan kesitler PBS ile yıkandı.
 - 6- Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için, dokular %3'lük hidrojen peroksit (6ml H₂O₂ + 64 ml distile su) solüsyonu içersinde 10 dakika inkübe edildi.
 - 7- Kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.
- Bundan sonraki aşamalarda kesitlerin kurumasını önlemek amacı ile kesitler chamber içersine konuldu.
- 8-PBS solüsyonundan çıkarılan dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra üzerlerine protein bloke edici solüsyon damlatıldı ve 20 dakika beklendi.
 - 9- Kesitler yıkanmadan üzerlerine 1/200 ve 1/750 oranında sulandırılmış primer antikorlar damlatılarak (30µl), 4°C de 1 gece bekletildi. Bu arada negatif kontrol grubu dokuları bloking solüsyonunda bekletildi.
 - 10- Daha sonra kesitler PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.

- 11- PBS'den çıkan kesitlerin üzerine Biotin damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi ve sonra dokular PBS içersinde 3 defa olmak üzere 5'er dakika yıkandı.
- 12- PBS'den çıkan dokular üzerine streptavidin-biotin-peroksidaz-kompleks damlatılarak oda sıcaklığında 15 dakikainkübe edildi.
- 13- DAB kromojen ve DAB substrat karışımından (1ml distile suya 1, 2 ve 3 numaralı substrattan 1'er damla eklenerek) kesitlerin üzerini kapatacak şekilde preparatlara damlatılarak 5 dakika beklendi.
- 14- Daha sonra kesitler distile su ile yıkandı.
- 15- Distile sudan çıkan kesitler çeşme suyunda yıkandı.
- 16- Daha sonra kesitler çekirdek boyaması için 10 sn. Harris hematoksilin solüsyonunda bekletildi.
- 17- Hematoksilin solüsyonundan çıkan dokular çeşme suyu ve distile suda yıkandı.
- 18- Yıkama işleminden sonra dokular dereceli alkollerden (%96, 100) geçirilerek ksilole alındı (3x10 dakika).
- 19- Kesitler üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Değerlendirme

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

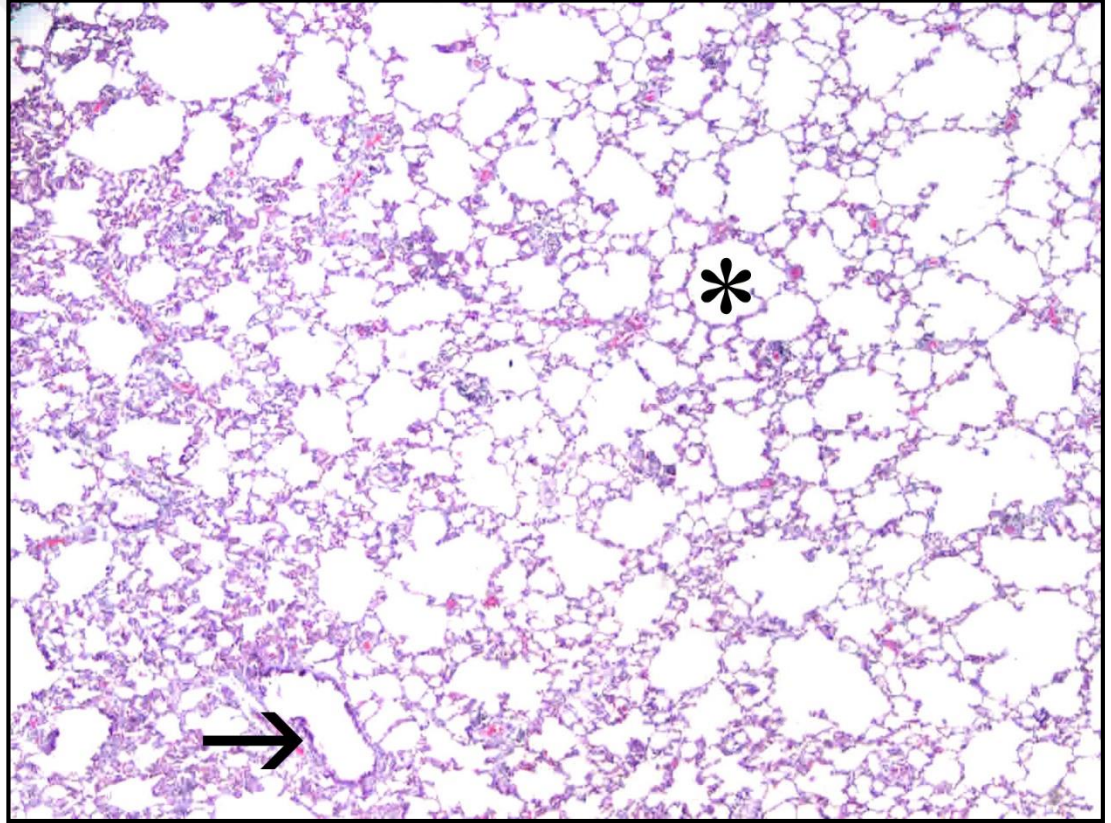
4. BULGULAR

4.1. Histokimyasal bulgular

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

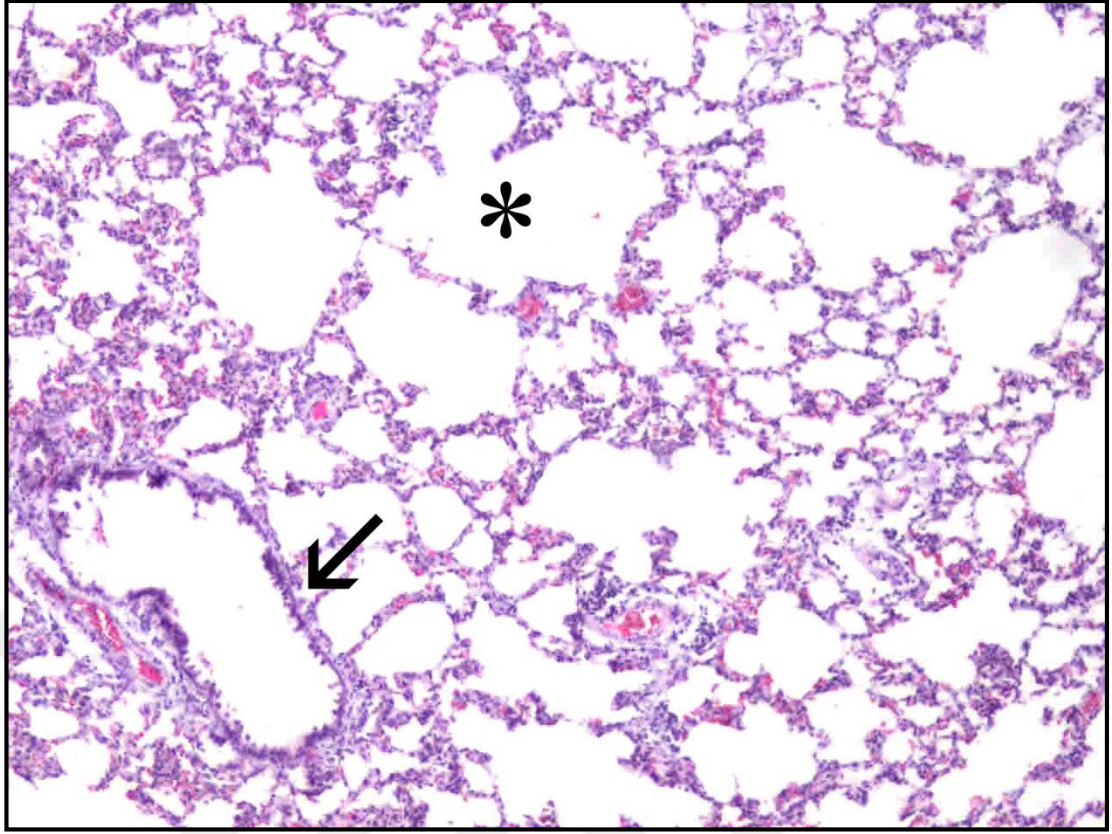
Organ; bronş, bronşçuk, alveoller yönünden incelendiğinde gruplar arasında bazı morfolojik farklılıklar tespit edildi.

1.Grup: Preparatlar değerlendirildiğinde; alveolar yapının, interalveolar septal dokunun kontrol grubuna göre normal olduğu belirlendi. Bronş ve bronşiyollerin yapısı genel olarak kontrol grubundaki yapıya benzerdi. Lenfosit infiltrasyonlarında belirgin azalma olduğu tespit edildi (Şekil 4.1, 4.2).



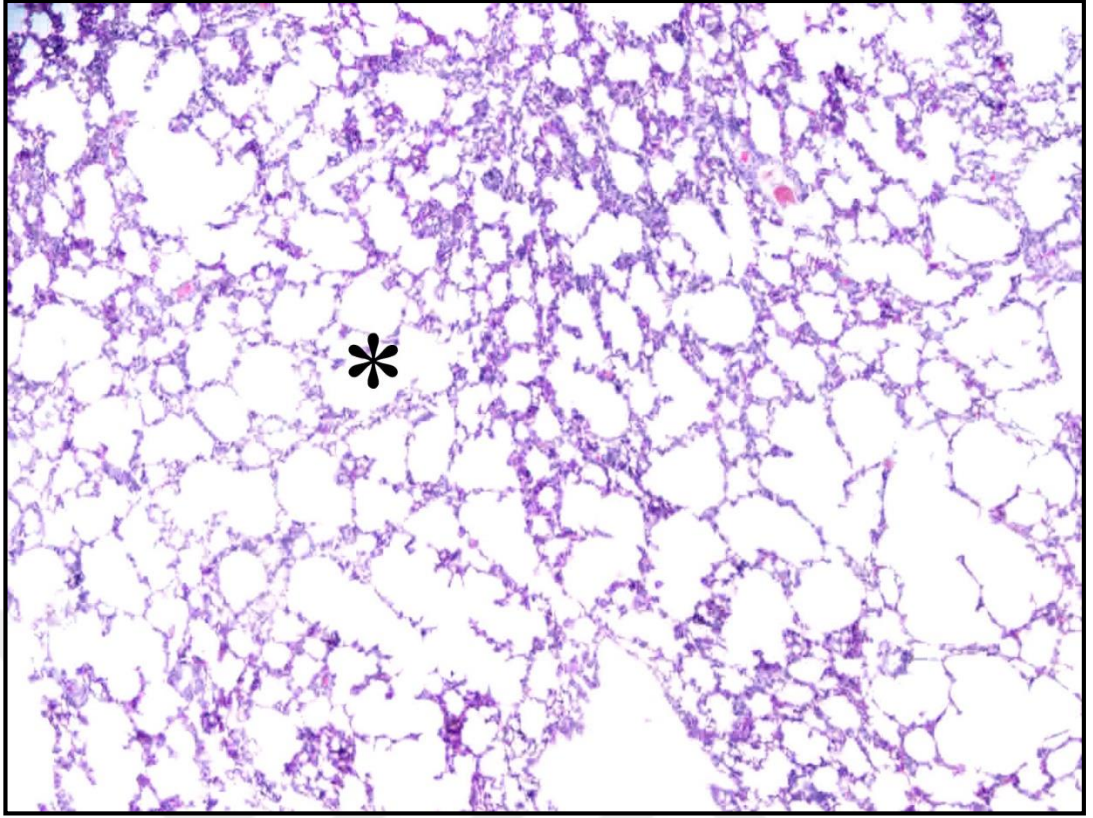
Şekil 4.1. 1ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif

Yıldız: alveol ok işareti: bronş ve bronşçuklar

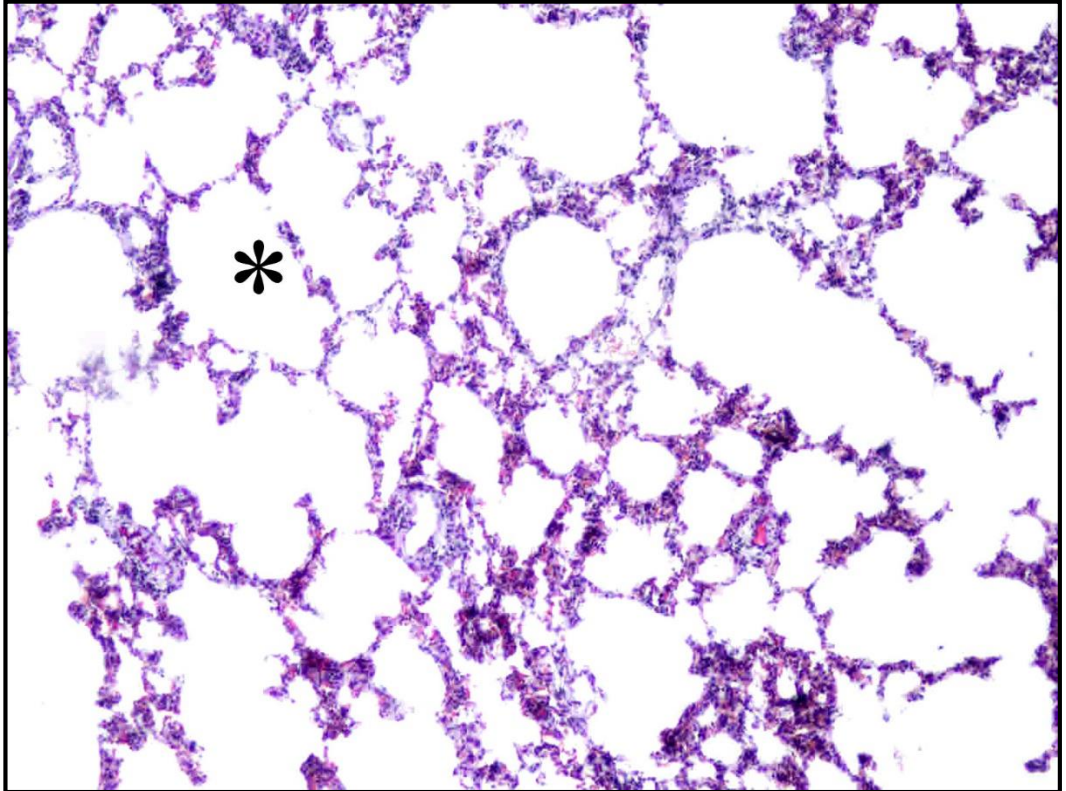


Şekil 4.2. 1ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'lik objektif
Yıldız: alveol ok işareti: bronş ve bronşçuklar

2. Grup: Doku incelendiğinde bronş ve bronşiyollerin epitellerinde yer yer dejenerasyonların varlığı tespit edildi. Lenfosit infiltrasyonlarının ve bronşiyol epitellerindeki dejenerasyonların kontrol grubuna göre oldukça azalmış olduğu belirlendi. (Şekil 4.3, 4.4).

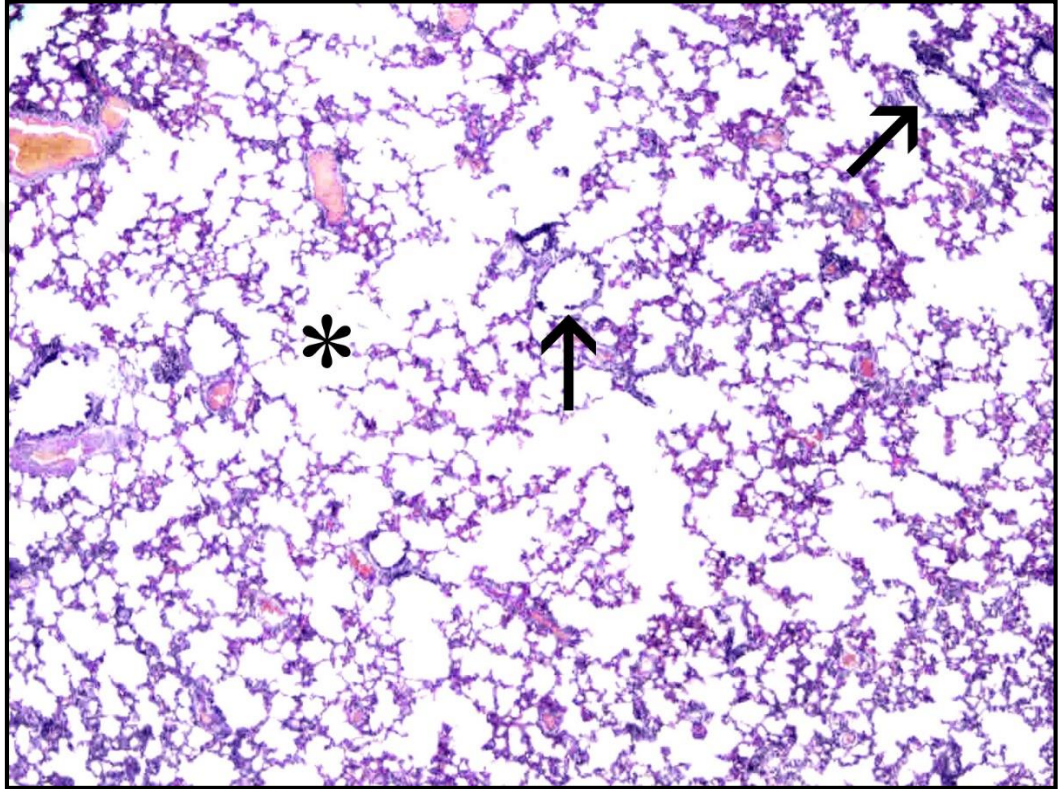


Şekil 4.3. 2 ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif

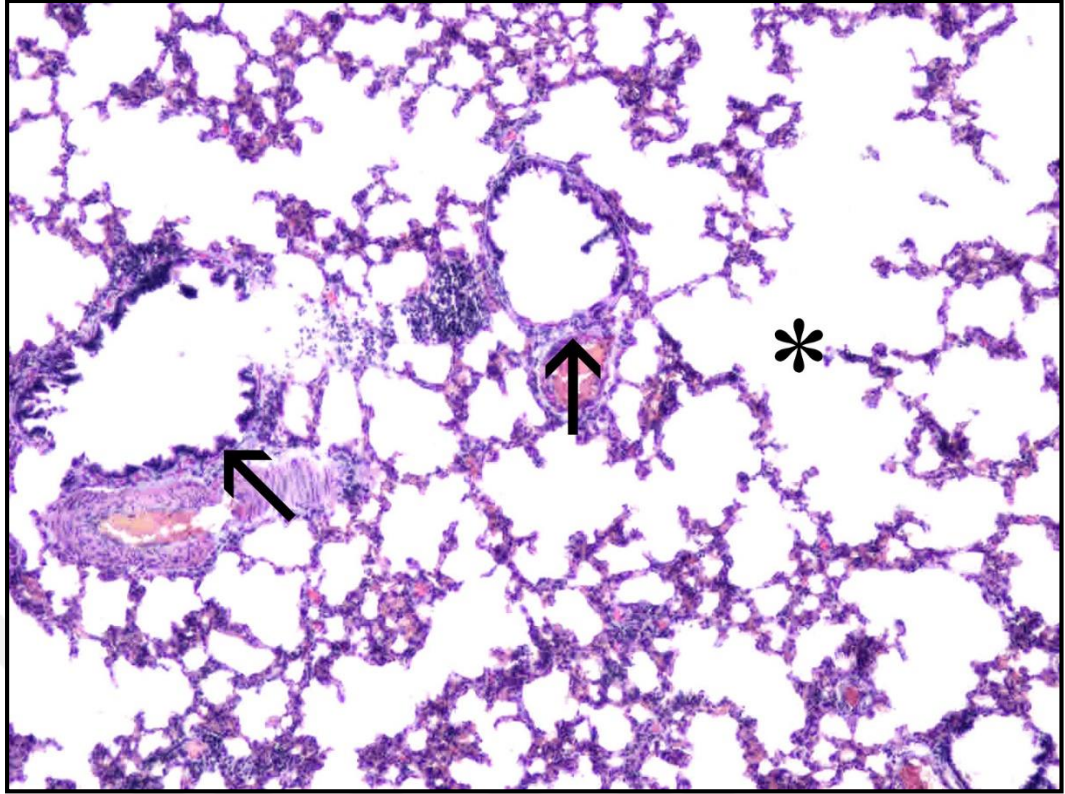


Şekil 4.4. 2ml/kg (ip) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif

3. Grup: Preparat genel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubunun bulgularına benzer bulgular gözlendi. İnteralveolar septal dokuda kalınlaşma ve alveol yapılarında yer yer çok hafif derecede dejenerasyonlara rastlanıldı. Bronşiyollerin duvarlarında ve interalveolar bölgede yoğun lenfosit infiltrasyonları ve bazı bölgelerde follikül tarzında lenfosit odakları saptandı. Ayrıca bronş ve bronşiyollerin epitel dokularında da doku bütünlüğünün hafif derecede bozulmuş olduğu belirlendi (şekil 4.5, 4.6).

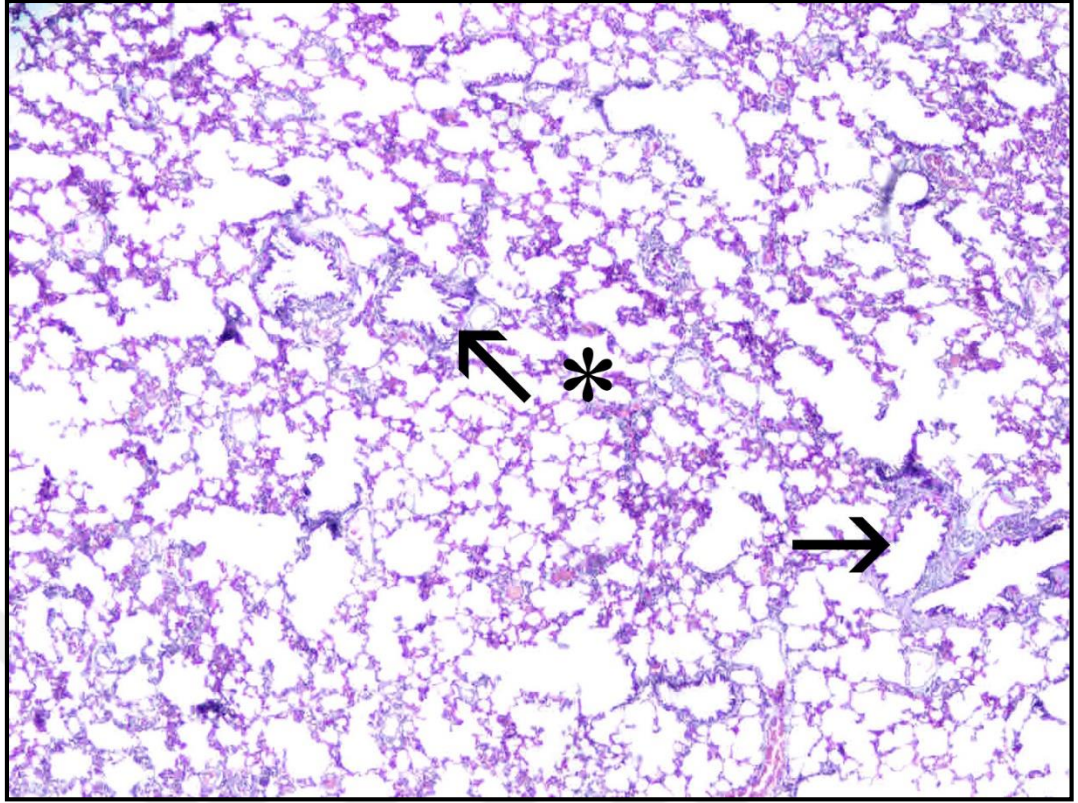


şekil 4.5. 10 mg/kg (gavaj) thymoquinonei akciğer genel görünüm,   l  boyama x 4'l k objektif Yildiz: alveol ok işareti: bronş ve bronşcuklar

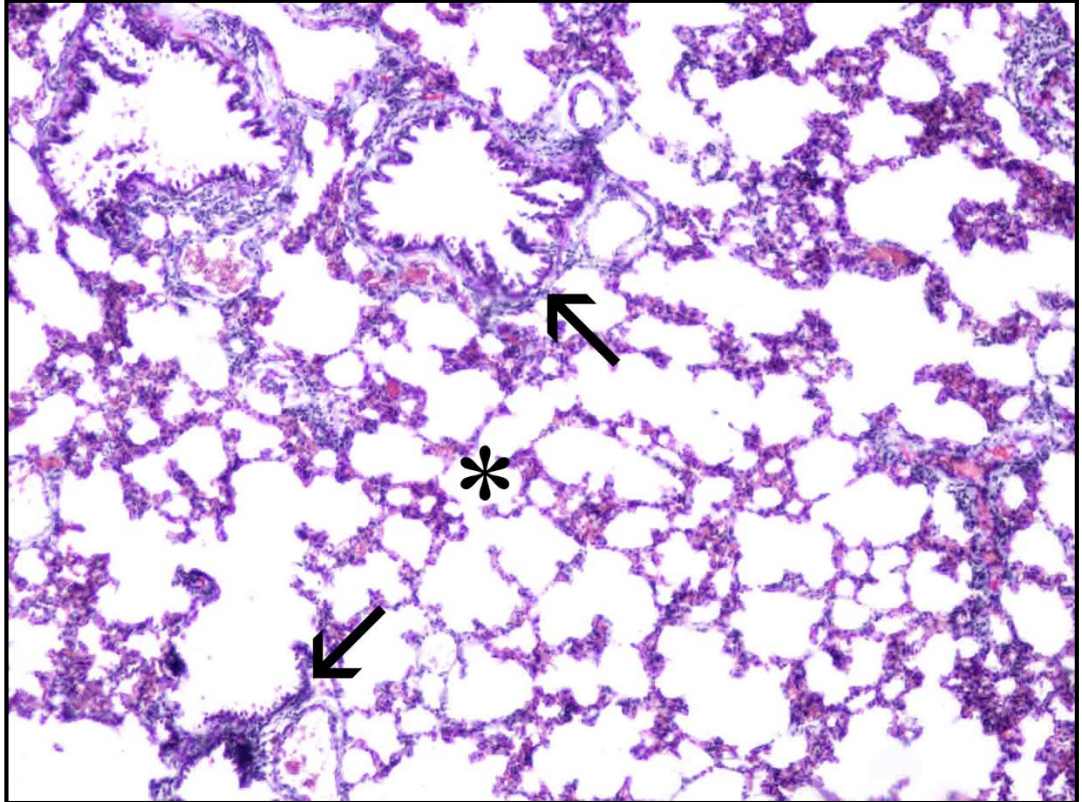


Şekil 4.6. 10 mg/kg (gavaj) thymoquinonei akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif Yıldız: alveol ok işareti: bronş ve bronşçuklar

4. Grup: Doku incelendiğinde bronş ve bronşiyollerin epitellerinde yer yer dejenerasyonların varlığı tespit edildi. Lenfosit infiltrasyonlarının ve bronşiyol epitellerindeki dejenerasyonların kontrol grubuna ve üçüncü gruba göre daha hafif olduğu belirlendi (Şekil 4.7, 4.8).

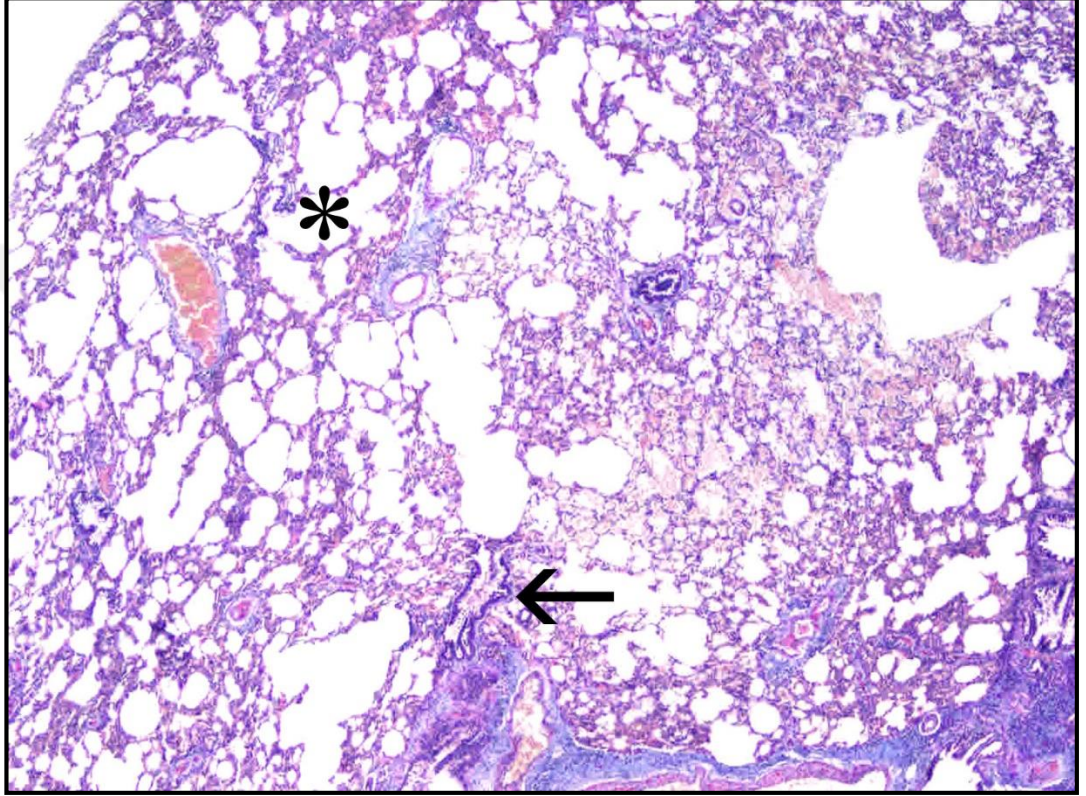


Şekil 4.7. 20 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 4'lük objektif

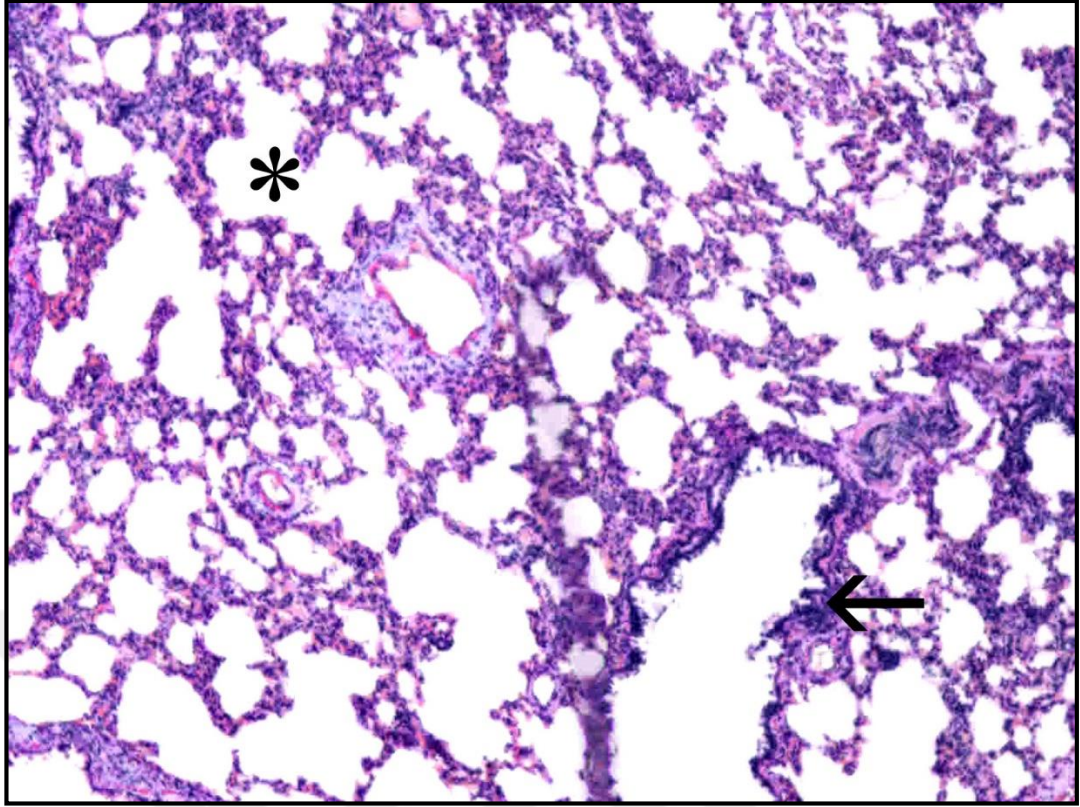


Şekil 4.8. 20 mg/kg (gavaj) thymoquinone akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'lu objektif

Kontrol Grubu: Genel olarak akciğerler incelendiğinde; interalveolar septal dokuda kalınlaşma, alveol yapılarında yer yer çok hafif derecede dejenerasyonlara rastlanıldı. Bronşiyollerin duvarlarında ve interalveolar bölgede yoğun lenfosit infiltrasyonları ve bazı bölgelerde follikül tarzında lenfosit odakları saptandı. Ayrıca bronş ve bronşiyollerin epitel dokularında da doku bütünlüğünün hafif derecede bozulmuş olduğu belirlendi (Şekil 4.9, 4.10).



Şekil 4.9. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 40'lük objektif
Yıldız: alveol ok işareti: bronş ve bronşçuklar

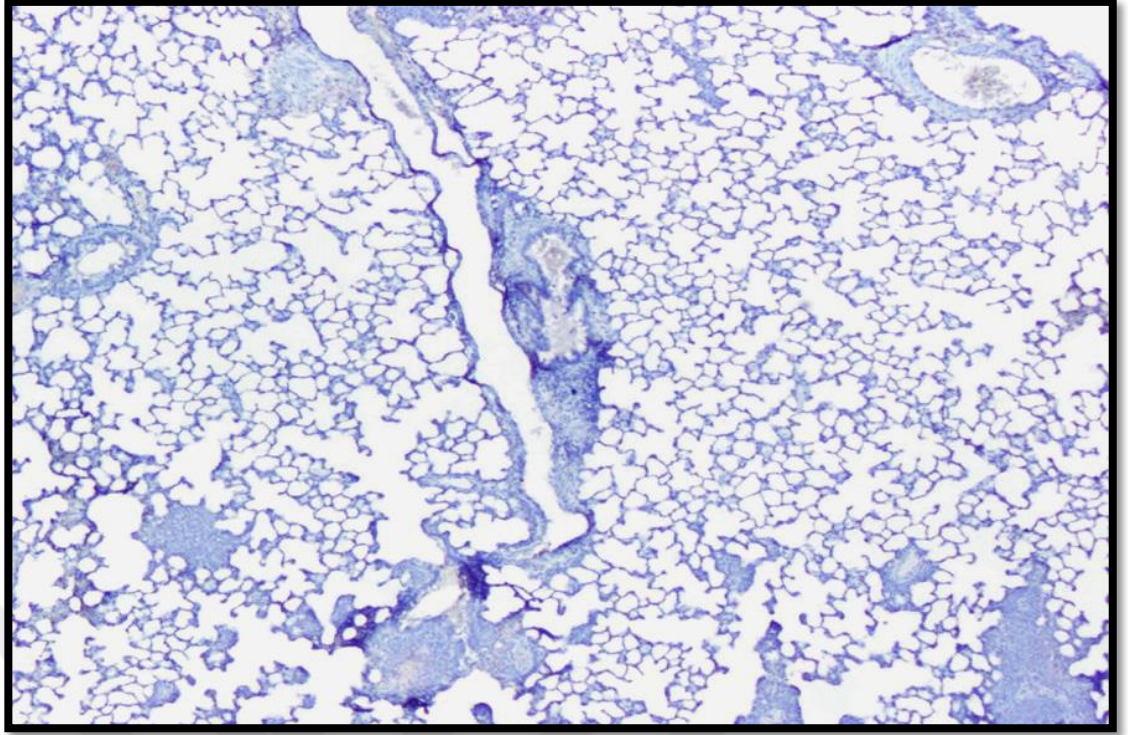


Şekil 4.10. Kontrol grubu akciğer genel görünüm, üçlü boyama x 10'luk objektif

Yıldız: alveol ok işareti: bronş ve bronşçuklar

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular:

İmmunohistokimyasal olarak iNOS ve SOD ekspresyonunu belirlenen tüm gruplara ait akciğer preparatlarının değerlendirilmeleri, bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinin, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerin ve alveol duvarında bulunan hücrelerin reaksiyon yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme bağımsız gözlemciler tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0 ile 3 puanları arasında değerler verilerek yapıldı. Tüm gruplarda bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında bulunan hücrelerde farklı şiddette boyanma reaksiyonları gözlemlendi. Negatif kontrol preparatlarında herhangi bir boyanma gözlenmedi (Şekil 4.11).

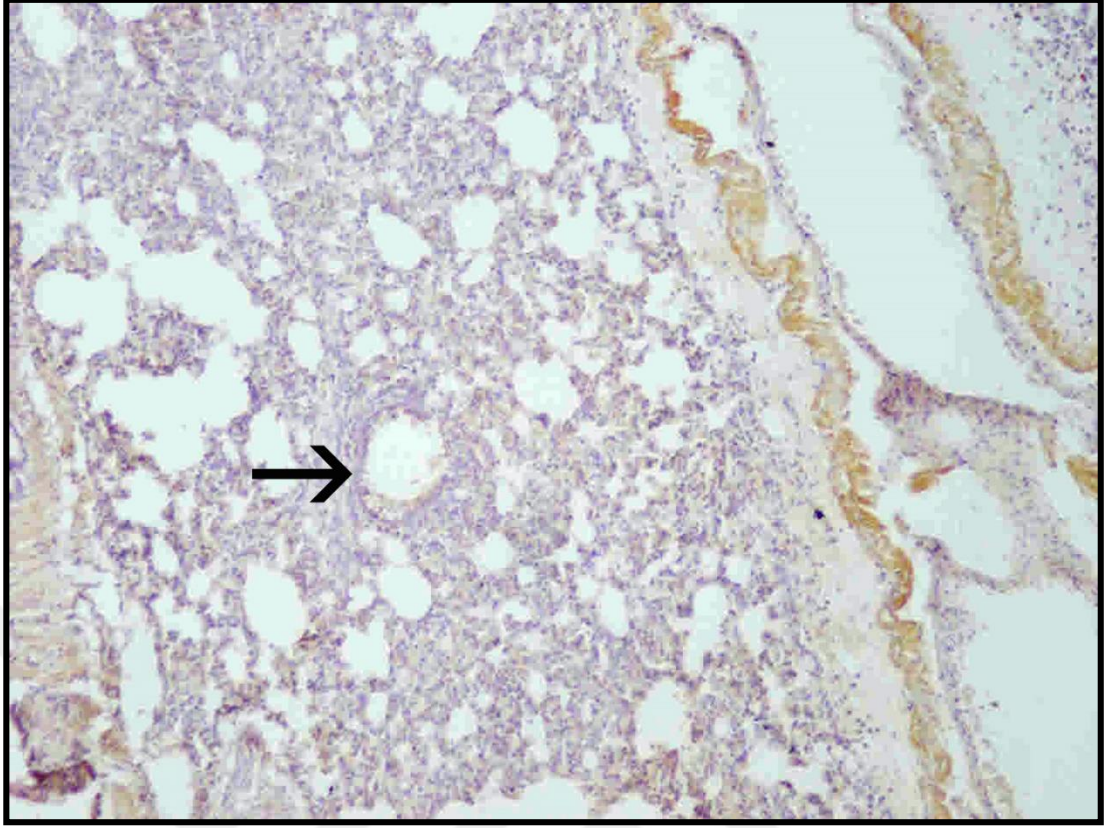


Şekil 4.11: Negatif kontrol x10

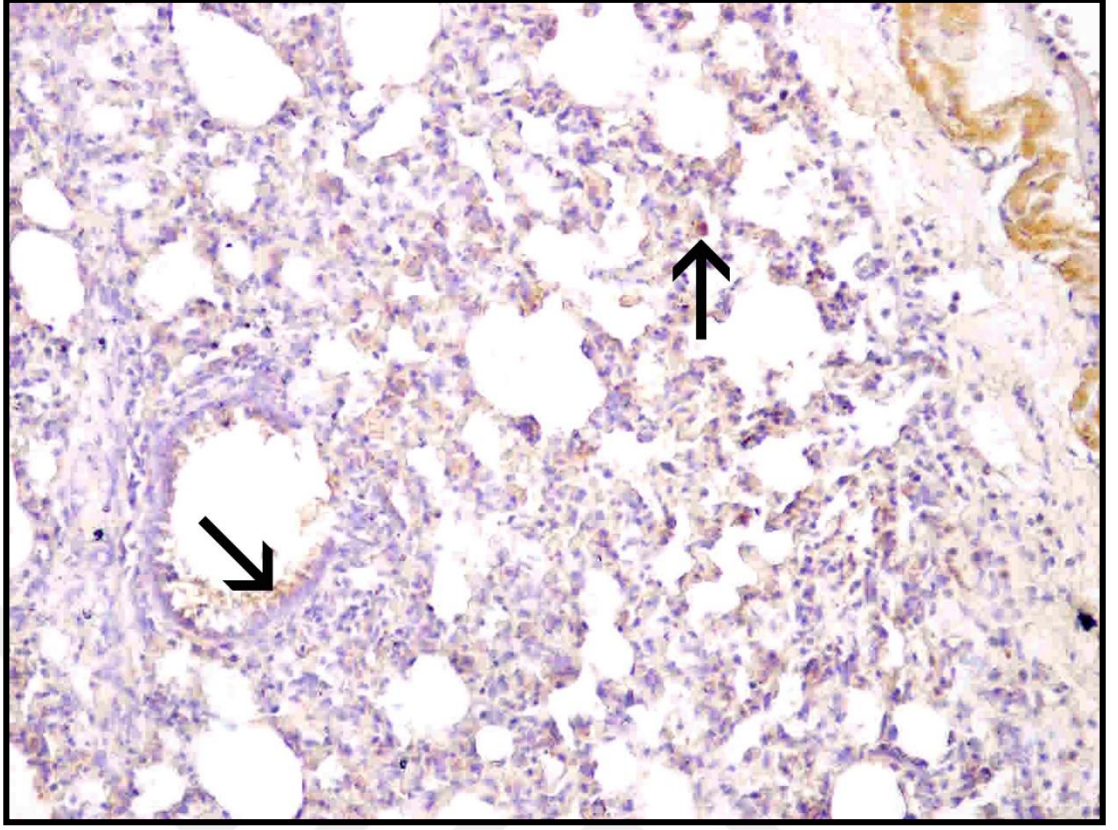
iNOS; Gruplara ait preparatlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde immun pozitif reaksiyonların genellikle bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında farklı şiddetlerde olduğu gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirildiğinde; en yoğun reaksiyonların kontrol grubunda olduğu, diğer gruplarda ise daha hafif immun reaksiyonlar olduğu belirlendi.

Grupları kendi içlerinde değerlendirdiğimizde ise;

1. Grup: Akciğer dokusu ayrıntılı olarak incelendiğinde; bronş ve bronşiyol epitellerinde birbirlerine benzer olarak zayıf şiddette immun reaksiyonlar gözlemlendi. Alveol duvarında da bronş ve bronşiyollere benzer şekilde zayıf şiddette immun pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 4.12, 4.13, Tablo 4.1)

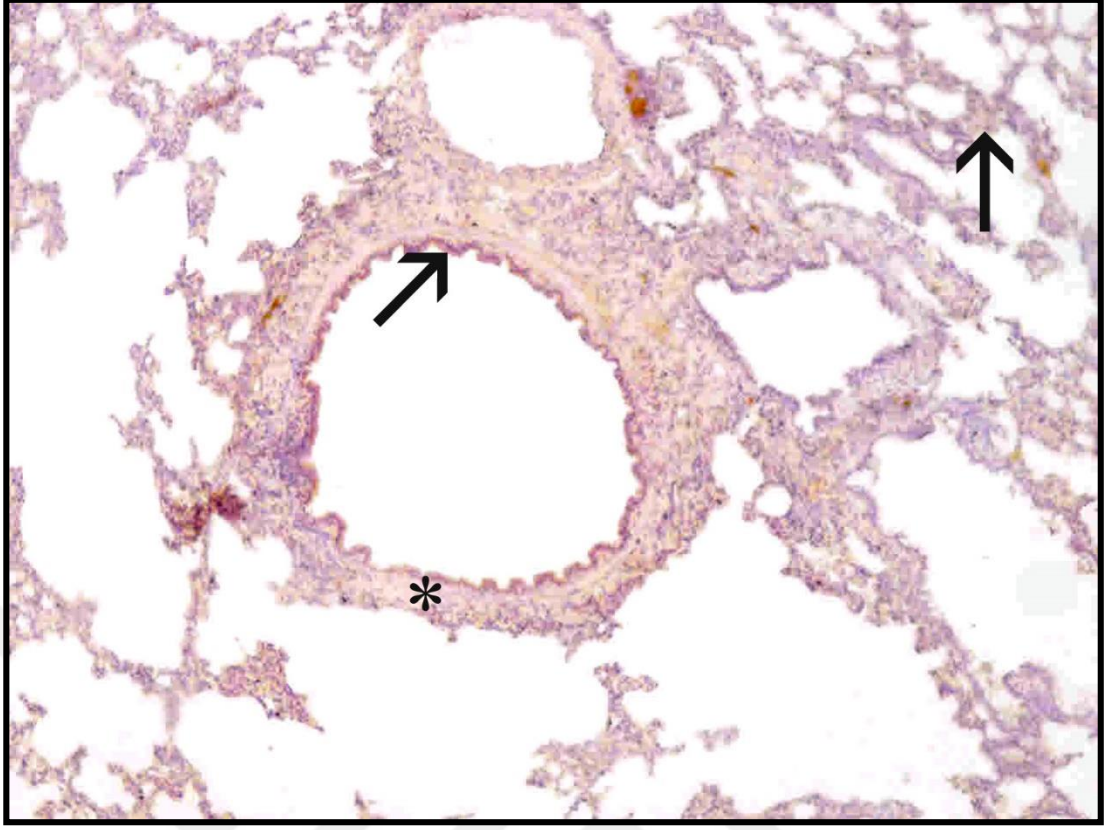


Şekil 4.12. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok:İmmun pozitif hücreler

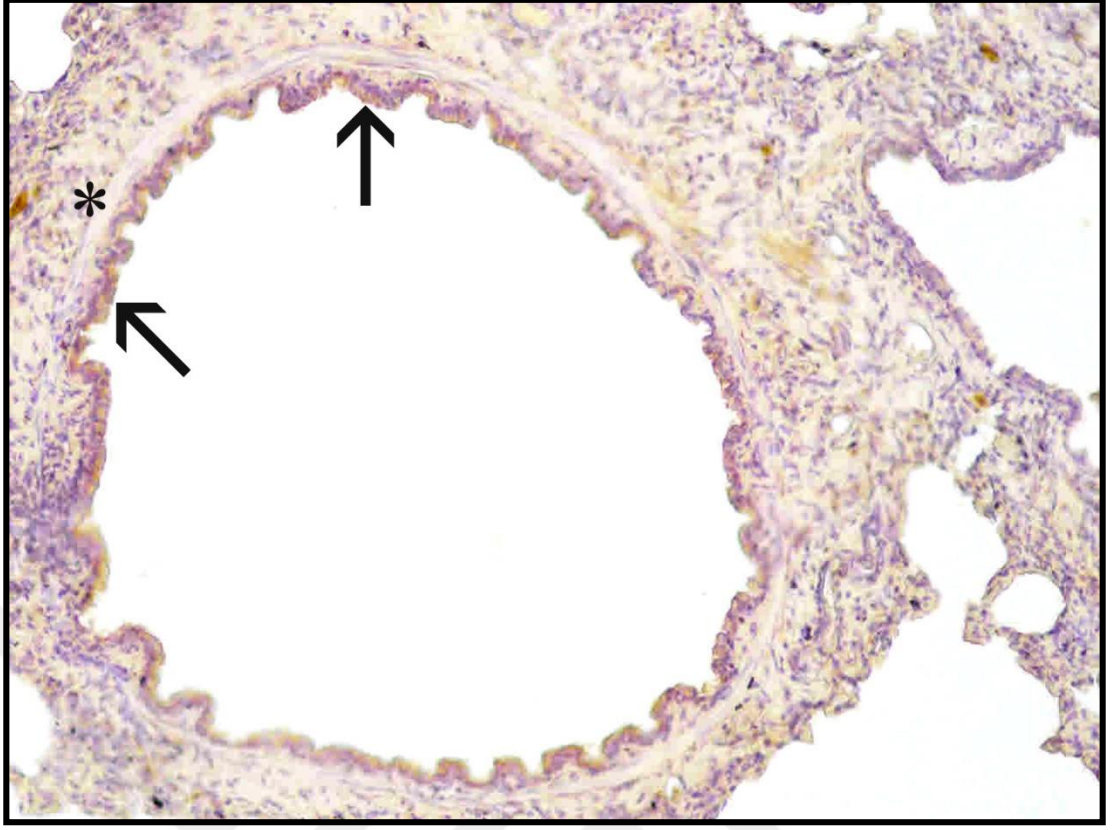


Şekil 4.13. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

2. Grup: Bronş ve bronşiyol epitellerinde orta şiddette immün reaksiyonlar gözlenirken, alveol duvarlarında zayıf şiddette immünpozitif reaksiyonlar tespit edildi. (Şekil 4.14, 4.15, Tablo 4.1)

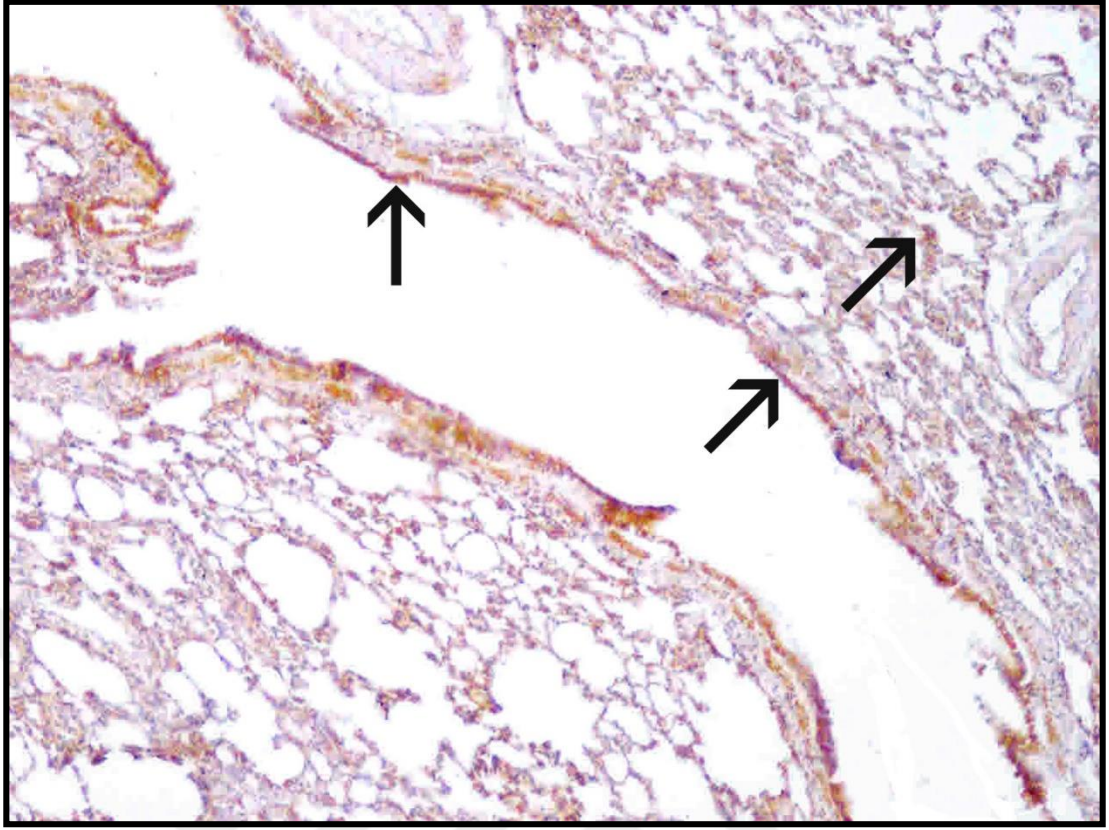


Şekil 4.14. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

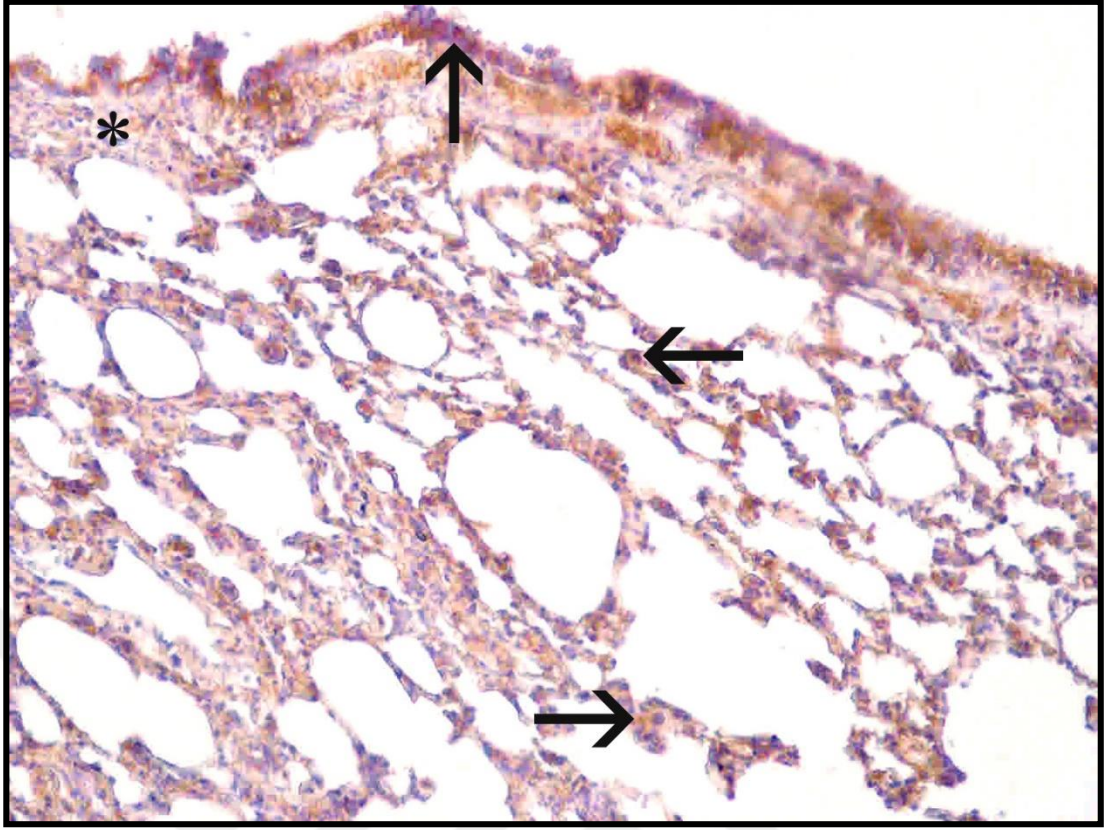


Şekil 4.15. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

3.Grup: Alveol duvarında orta şiddette immün reaksiyonların olduğu belirlendi. Bronş ve bronşiyollerde ise immün reaksiyonların şiddetli derecede olduğu tespit edildi. (Şekil 4.16, 4.17, Tablo 4.1)

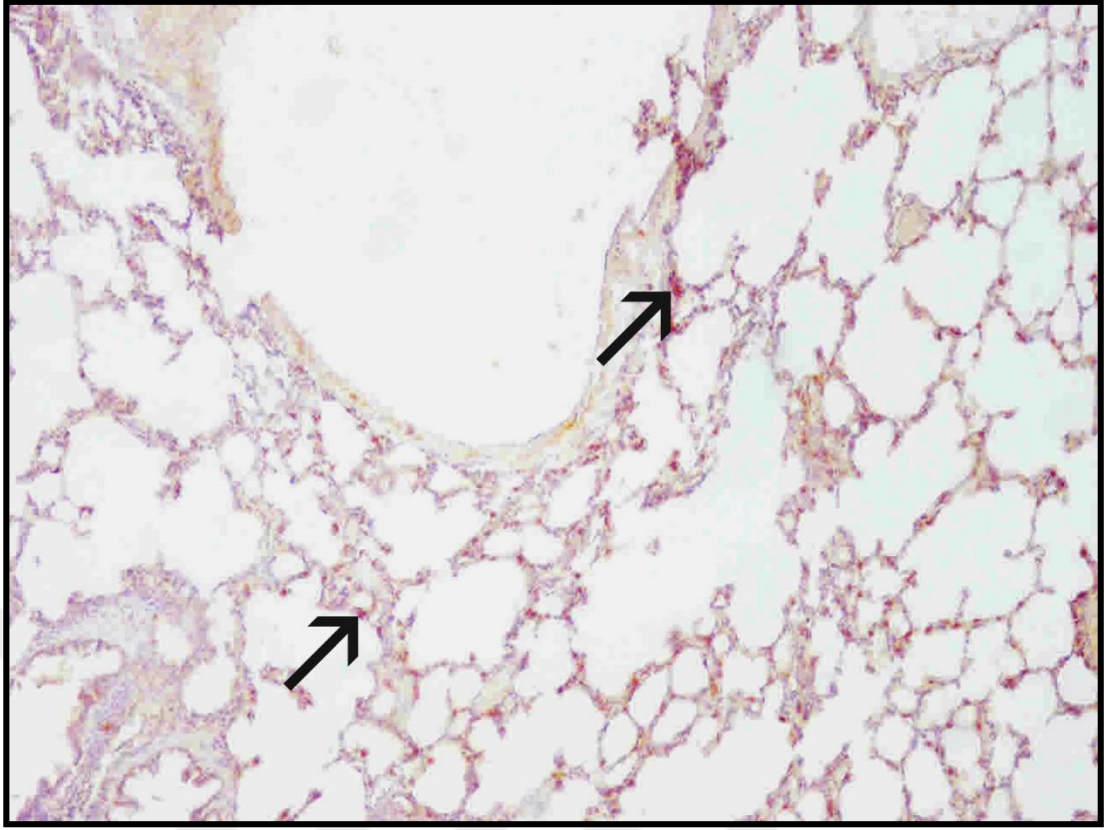


Şekil 4.16. 10 mg/kg timokinin (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 10'lik objektif, Ok: İmmün pozitif hücreler

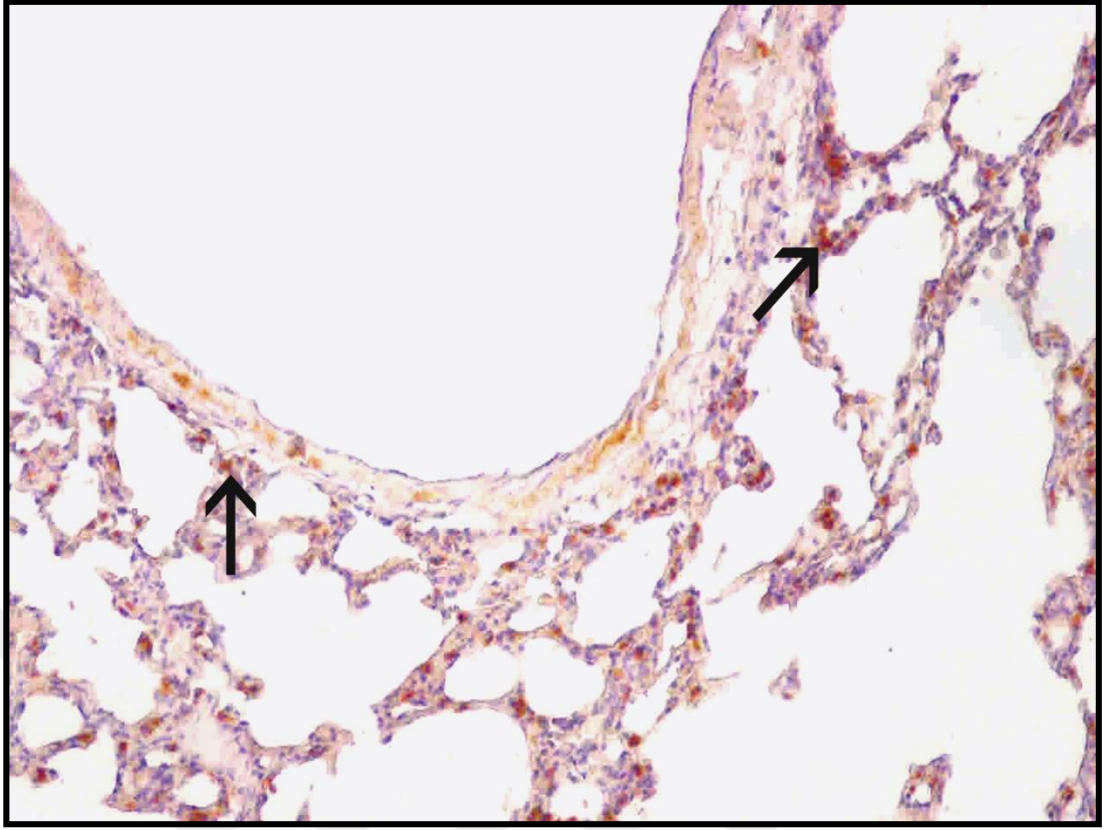


Şekil 4.17. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 20'lik objektif, Ok: İmmün pozitif hücreler

4. Grup: Preparatlar ayrıntılı olarak incelendiğinde; alveollerde, bronş ve bronşiyollerdeki immün reaksiyonların birbirine benzer olarak orta şiddette olduğu tespit edildi (Şekil 4.18, 4.19 , Tablo 4.1).

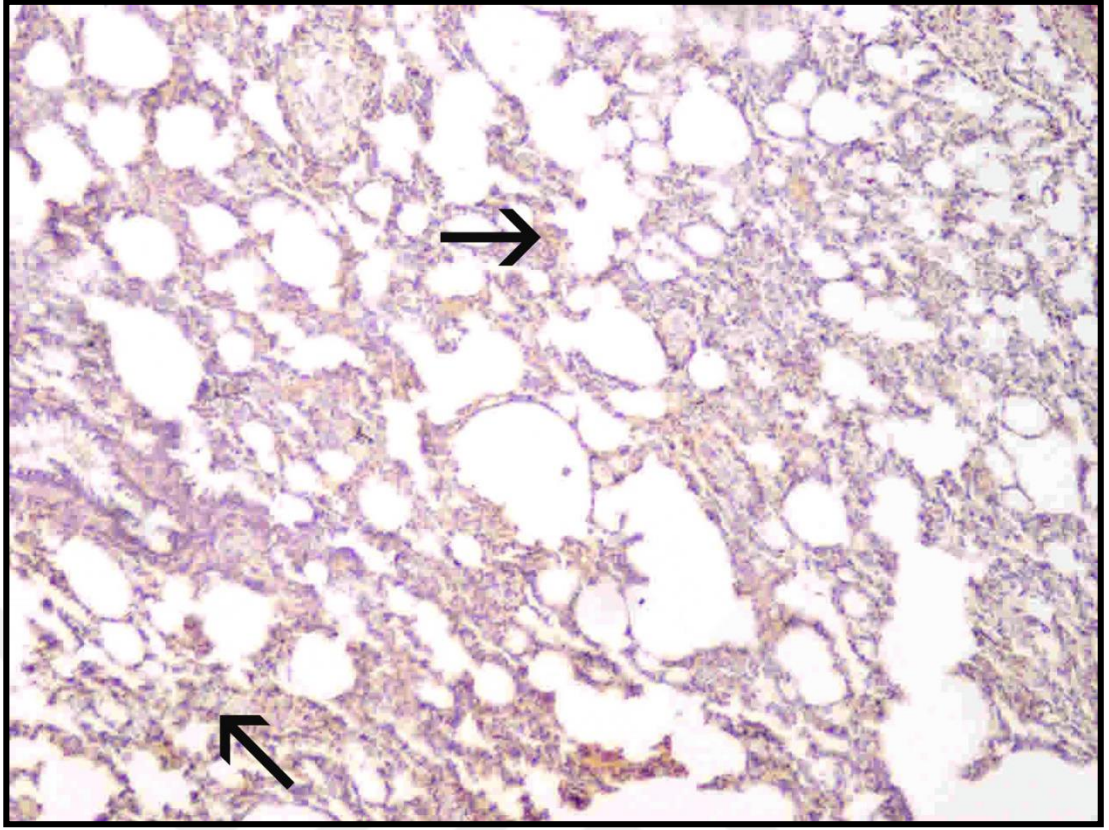


Şekil 4.18. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmün pozitif hücreler

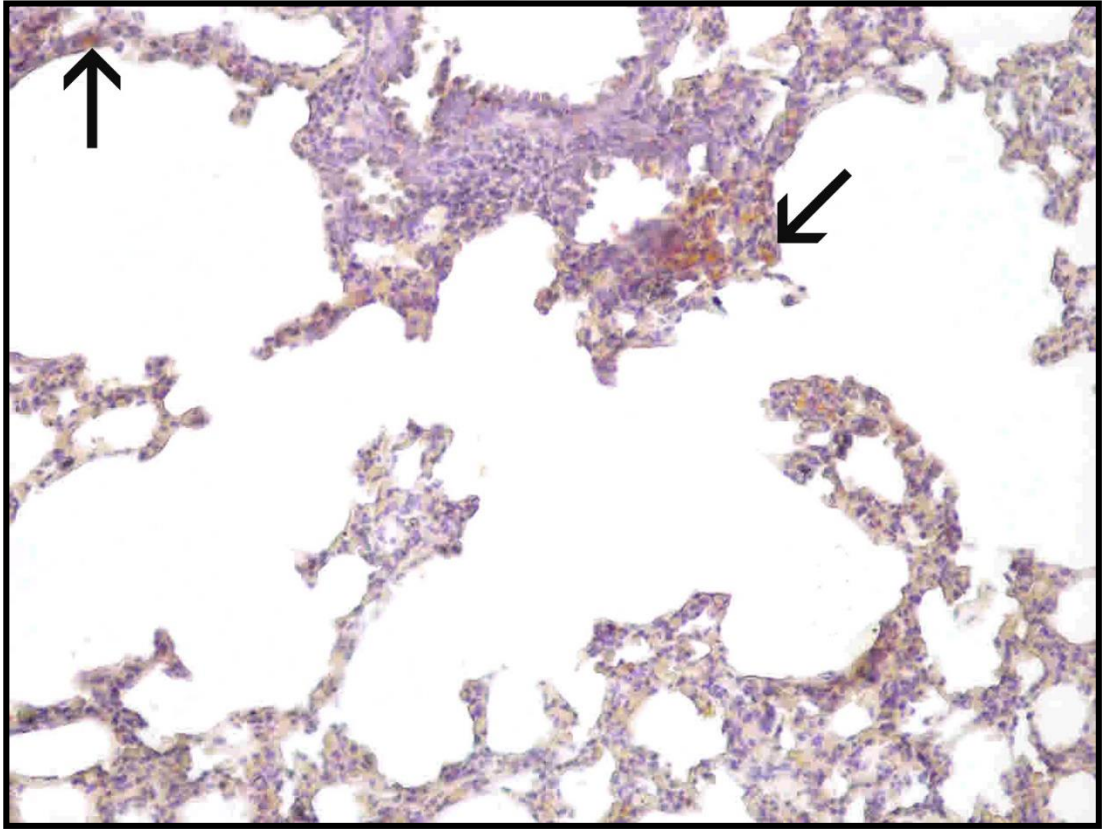


Şekil 4.19. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

Kontrol Grubu: Preparat değerlendirildiğinde; alveollerde, bronş ve bronşiyollerde birbirine benzer şekilde çok hafif derecede immün pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 4.20, 4.21, Tablo 4.1).



Şekil 4.20. Kontrol grubu iNOS ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler



Şekil 4.21. Kontrol grubu iNOS ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

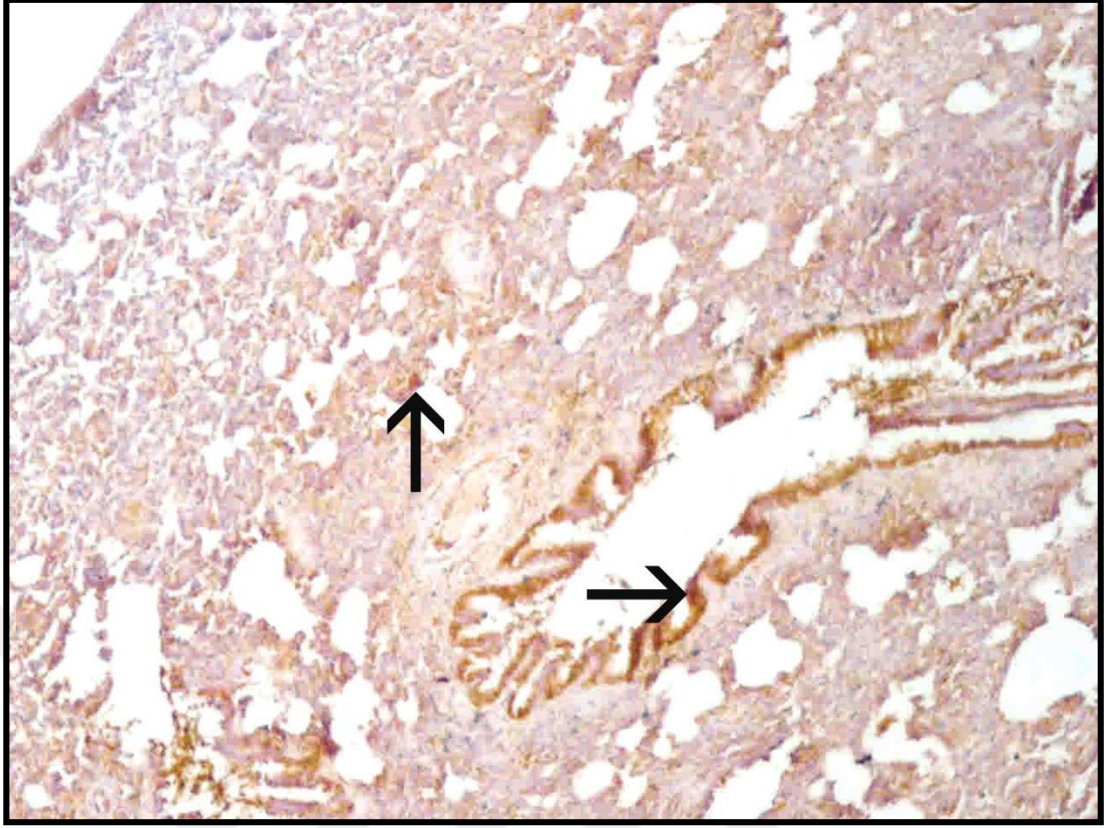
Tablo 4.1. iNOS'un ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri

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

Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

SOD; Gruplara ait preparatlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde immun pozitif reaksiyonların genellikle bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarlarında farklı şiddetlerde olduğu gözlemlendi. Grupları kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirdiğimizde ise bronş epitelinde en yoğun immun pozitif reaksiyonların 1 mg/kg ip timokinon uyguladığımız birinci grupta olduğu tespit edildi.

1.Grup: Preparatlar incelendiğinde, bronş ve bronşiyol epitelindeki reaksiyonların şiddetli olduğu ve kontrol grubuna göre reaksiyon şiddetinin arttığı belirlendi. Alveol duvarlarında ise zayıf şiddette immun pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 4.22, 4.23 , Tablo 4.2)

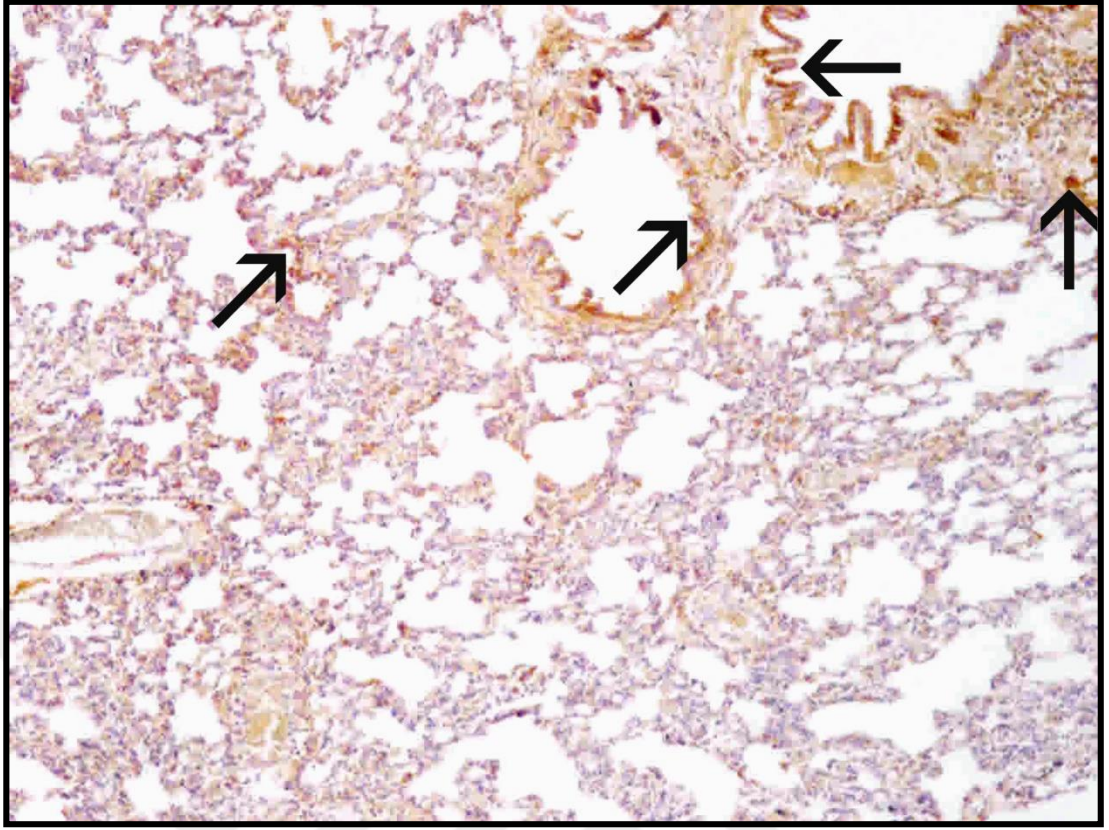


Şekil 4.22. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

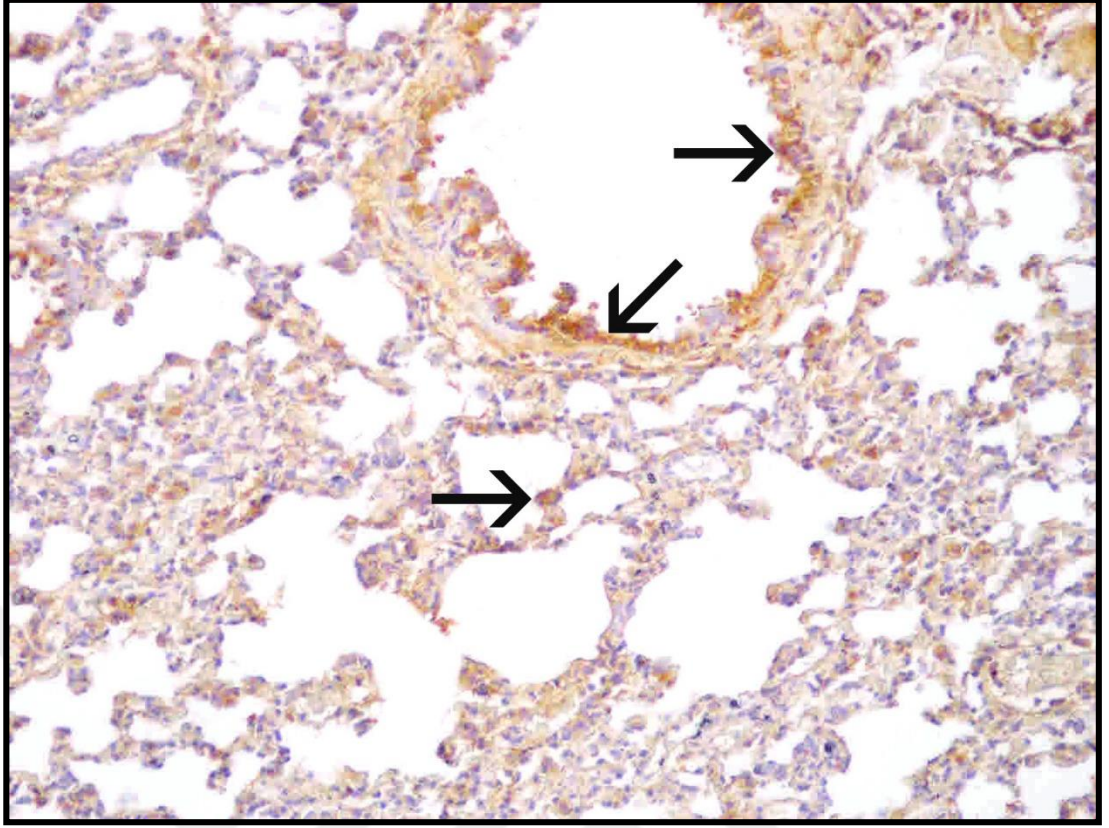


Şekil 4.23. 1 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

2. Grup: Alveollerde, bronş ve bronşiyol epitellerinde birbirine benzer olarak orta şiddette immün pozitif reaksiyonlar gözlemlendi (Şekil 4.24, 4.25, Tablo 4.2).

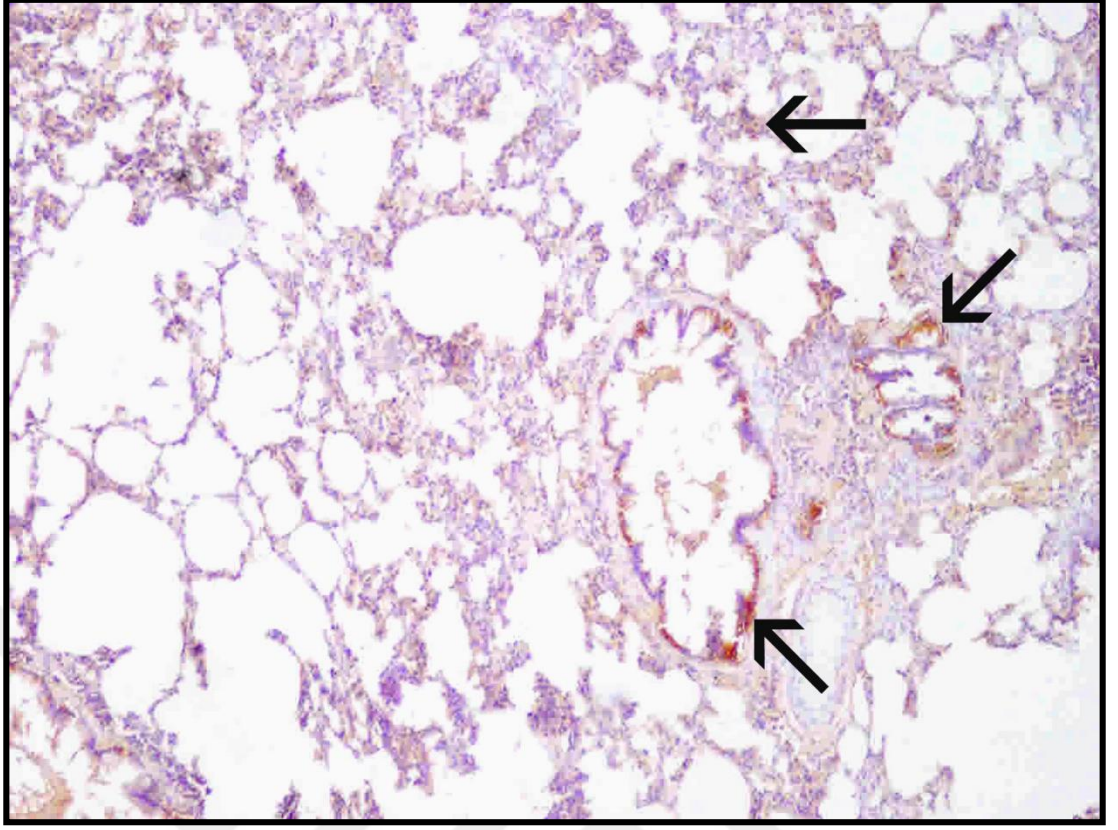


Şekil 4.24. 2 ml/mg timokinin (ip) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

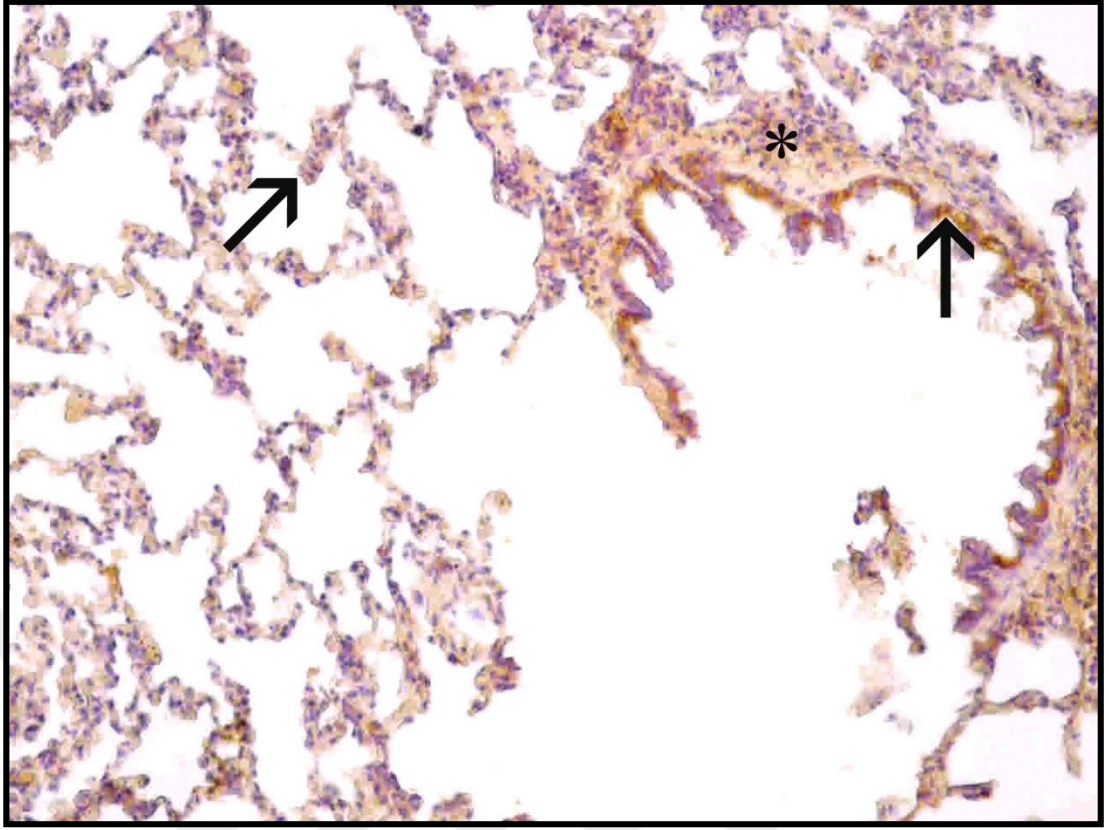


Şekil 4.25. 2 ml/mg timokinon (ip) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

3. Grup: Preapartlar değerlendirildiğinde, kontrol grubuna benzer olarak orta şiddette immün reaksiyonların bronş ve bronşiyol epitellerinde olduğu tespit edildi. Alveollerde ise zayıf şiddette immün pozitif reaksiyonların varlığı tespit edildi (Şekil 4.26, 4.27, Tablo 4.2).

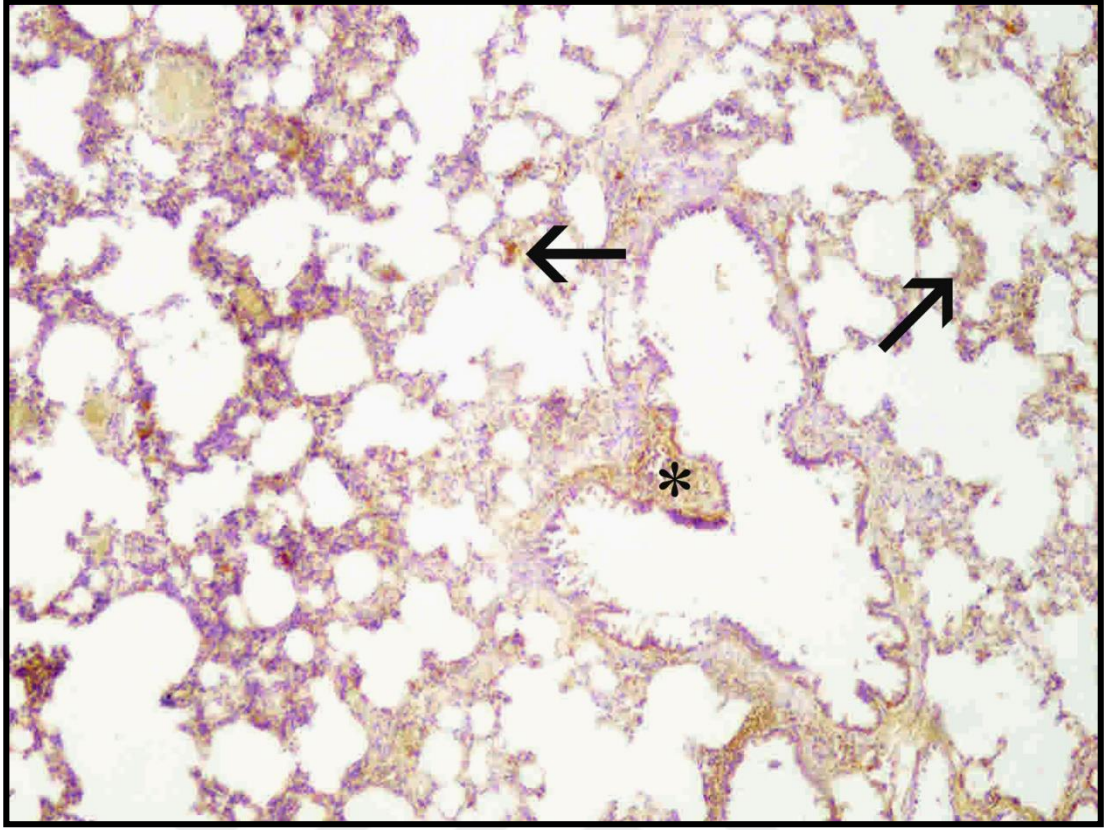


Şekil 4.26. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

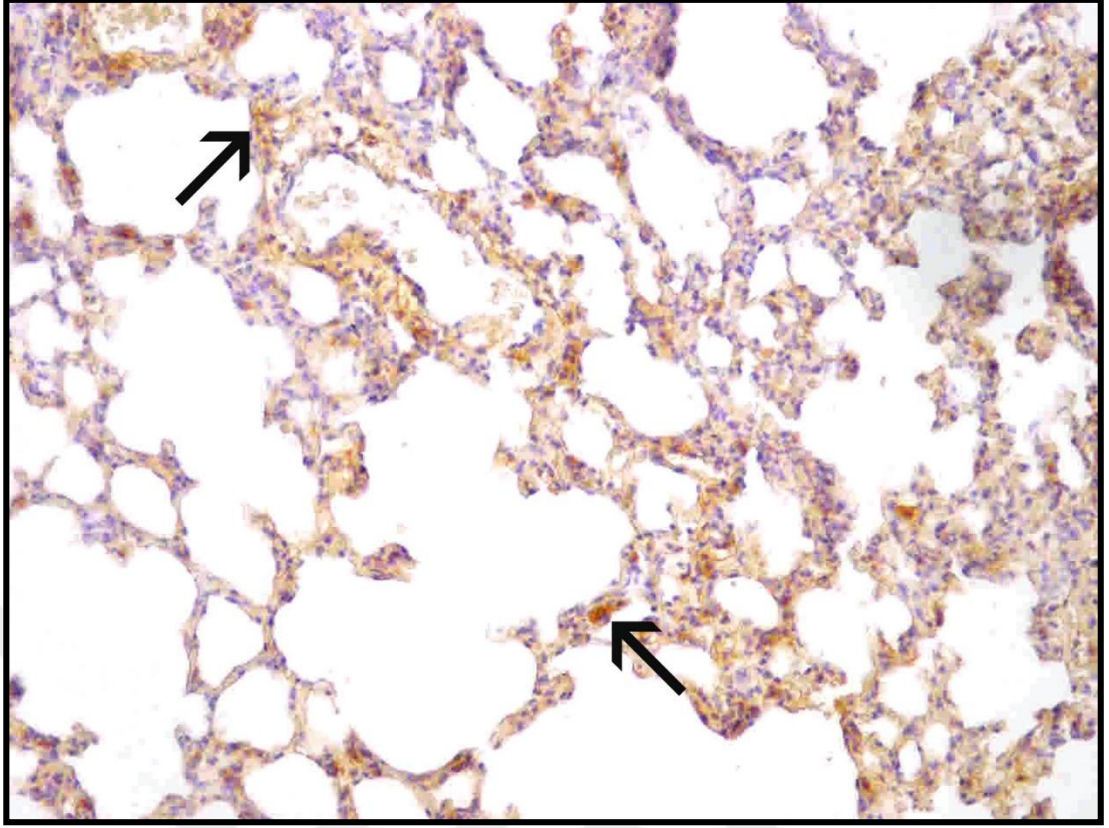


Şekil 4.27. 10 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

4.Grup: Dokular incelendiğinde, bronş ve bronşiyol epitellerindeki reaksiyonların zayıf şiddette olduğu gözlenirken, alveol duvarlarında orta şiddette immün pozitif reaksiyonlar tespit edildi (Şekil 4.28,4.29, Tablo 4.2).

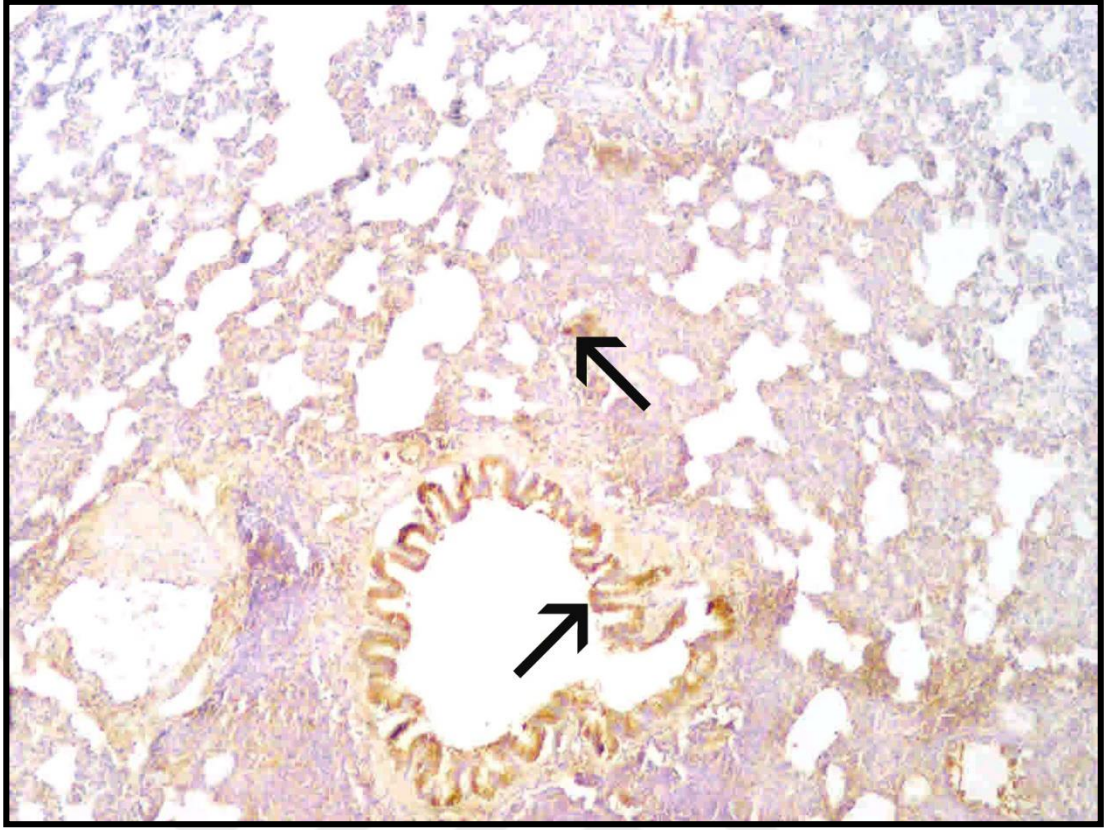


Şekil 4.28. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

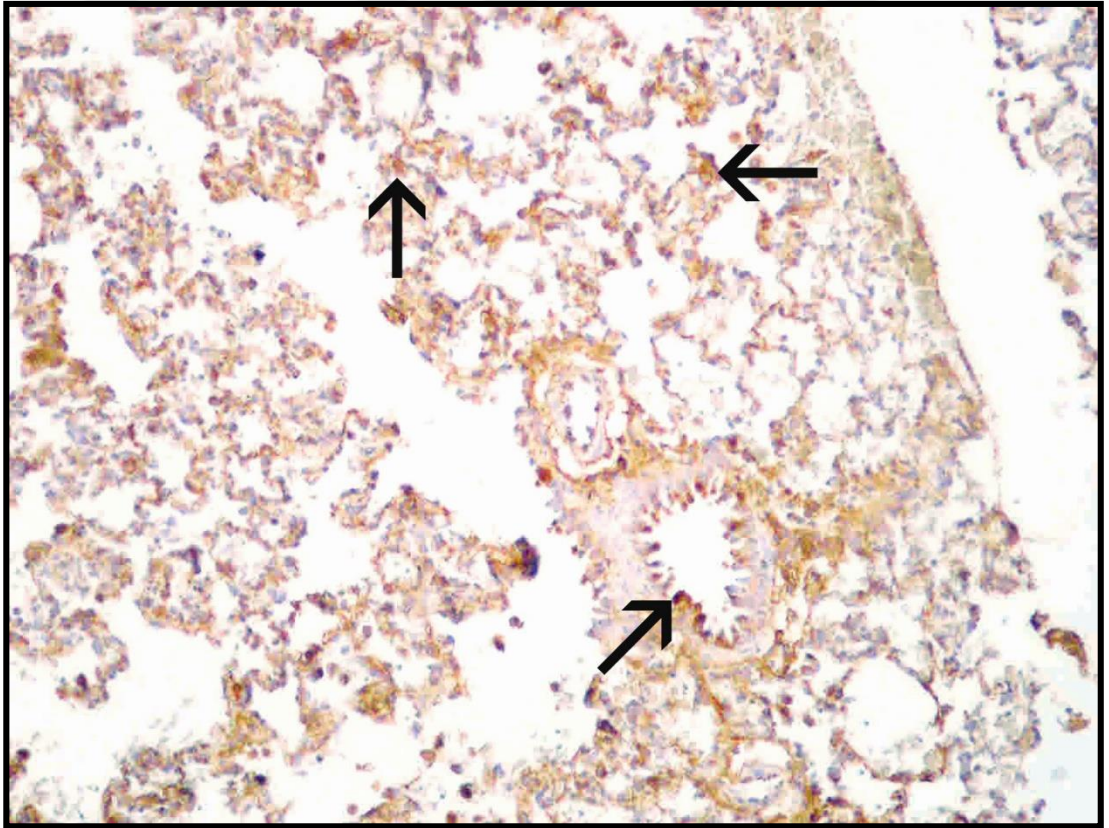


Şekil 4.29. 20 mg/kg timokinon (gavaj) grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

Kontrol Grubu: Alveollerde, bronş ve bronşiyol epitellerinde birbirine benzer olarak orta şiddette immün pozitif reaksiyonlar gözlemlendi (Şekil 4.30, 4.31, Tablo 4.2).



Şekil 4.30. Kontrol grubu SOD ekspresyonu x 10'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler



Şekil 4.31. Kontrol grubu SOD ekspresyonu x 20'luk objektif, Ok: İmmun pozitif hücreler

Tablo 4.2. SOD'un ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri

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

Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

5. TARTIŞMA

Nigella sativa L. tohumunun uçucu yağından elde edilen timokinonun içerdiği fenolik bileşiklerden ve faydalı farmakolojik etkileri nedeni ile geleneksel olarak ve tıpta tedaviye destek olarak yaygın kullanımı söz konusudur. Timokinon yüksek antioksidan özelliğe sahip ana aktif fenolik bir bileşik içermesinden dolayı birçok çalışmada antienflamatuar, antimikrobiyal ve antikanserojen gibi faydalı etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Timokinonun oksidatif hasara karşı böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve mide üzerinde koruyucu etkilere sahip olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (El-Sheikh, et al., 2015). Ancak literatür taramaları sonucunda antioksidan etkisinin karşılaştırmalı olarak farklı doz ve uygulama şekline göre değişiklik gösterip göstermediğini bildiren çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışma, antioksidan etkide doz ve uygulama yöntemlerinin karşılaştırılarak hangi uygulama yönteminin ve dozun daha etkili olduğunu değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

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

Çalışmamızda tüm akciğer dokuları ayrıntılı olarak değerlendirildi. Timokinon'un ip ve oral gavaj yolları ile farklı dozlarda uygulanmasının akciğerlerin histolojik yapısında belirgin bir farklılık tespit edilemedi. Çalışmamızın bulguları, Yüncü ve ark. nın yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir (Yüncü vd., 2013).

Çalışmamızda yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda, timokinon'un ip. ve oral gavaj uygulamaları sonucunda iNOS ekspresyonunun tüm gruplarda kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi. En fazla artışın ise 10mg/kg dozda oral gavaj uygulamasının yapıldığı grupta olduğu belirlendi. Beydilli ve ark. (2015) rat beyin dokusunda timokinon ile yaptıkları çalışmalarında, deney grubunda iNOS seviyesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğunu bildirmişler. Usta ve ark. (2018) karaciğer ve böbrek dokusu ile yaptıkları çalışmalarında timokinon uygulamasının kontrol gruplarına göre azalmış olduğunu tespit etmişler. Bu azalış ise timokinonun nitrik oksit ve nitrik oksit sentetaz inhibisyonu ile antioksidan etki oluşturduğunu söylemişlerdir. Çalışmamızın bulguları bahsedilen çalışmaların bulgularından farklılık göstermektedir (Beydilli vd., 2015; Usta vd., 2018). Yapılan literatür taramaları da

gözönüne alındığında, bu farklılığın uygulama şekli, doz ve organa göre değişiklik gösterdiği bulgularını desteklemektedir (Hojna, et al., 2010).

Sunulan çalışmada SOD'un immun ekspresyonun 1mg/kg ip uygulana grupta kontrol grubuna göre arttığı, diğer gruplarda ise kontrol grubuna benzer reaksiyonların olduğu gözlemlendi. Oksidatif stres durumu ve antioksidan mekanizma üzerine yaptıkları çalışmalarında SOD düzeylerinin artmış olduğunu bildirmişler (Aslankoç vd., 2019). Beydilli vd., (2015) yılında yaptıkları çalışmalarında timokinon uygulanan grupta SOD seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Desai, vd., (2015) tarafından yapılan farklı bir çalışmada Timokinon uygulamasının SOD seviyelerini arttırdığını, bunu da lipid peroksidasyonunu azaltarak yapmış olabileceğini söylemişler. Bizim çalışmamızın bulguları bahsedilen çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Parlar vd., (2015) akciğerlerde yaptıkları çalışmalarında antioksidan mekanizma üzerine çalışmışlar ve antioksidan belirteçlerin timokinon uygulana grupta arttığını söylemişler. Mevcut çalışmamız Parlar, vd., (2019)'un bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde, iNOS ve SOD ekspresyonlarının; akciğerlerde bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında bulunan hücrelerde farklı şiddette reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Mevcut çalışmamızda timokinon uygulanan grupların kontrol grupları ile karşılaştırıldığında hem iNOS hem de SOD ekspresyonlarında farklı şiddetlerde immun ekspresyonların artışının gözlenmesi, bize timokinon uygulamalarının antioksidan mekanizma üzerine olumlu etkisi olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca sunulan bu çalışma ile timokinon'un farklı dozlarının hem ağız yoluyla hem de intraperitoneal yolla uygulamaları sonrasında akciğerler üzerine olan olası antioksidan etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Antioksidan mekanizmada ve oksidasyonda etkili olan iNOS ve SOD'un akciğerlerdeki lokalizasyon ve ekspresyonları *in vivo* olarak gösterilmiş ve timokinonun sistemdeki antioksidan etkileri gösterilmiştir. iNOS ve SOD'un ekspresyonları tüm gruplarda alveollerde, bronş ve bronşiyollerde gösterilmiştir. Tüm gruplarda farklı immun reaksiyonların gözlenmesi, timokinonun farklı uygulama şekillerinin antioksidan mekanizmayı inaktive etmediğini göstermiştir. Ancak uygulama şekillerine ve doza göre değişiklik göstermektedir. iNOS için en etkili dozun 10 mg/kg oral gavaj uygulamasının; SOD için 1 mg/kg ip uygulamasının daha etkili olduğu sonucuna varılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Agarwal, A., Cocuzza, M., Abdelrazik, H., and Sharma, R. K. (2008). 10 Oxidative stress measurement in patients with male or female factor infertility.
- Aggarwal, B. B., Kunnumakkara, A. B., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Sung, B., and Anand, P. (2008). Potential of spice-derived phytochemicals for cancer prevention. *Planta medica*, 74(13), 1560-1569.
- Al-Saleh, I. A., Billedo, G., & El-Doush, I. I. (2006). Levels of selenium, dl- α -tocopherol, dl- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 167-175.
- Aydemir, B., ve Sarı, E. K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2), 56-60.
- Bannai, S., and Tateishi, N. (1986). Role of membrane transport in metabolism and function of glutathione in mammals. *The Journal of membrane biology*, 89(1), 1-8.
- Bast, A. A. L. T., Haenen, G. R., and Doelman, C. J. (1991). Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American journal of medicine*, 91(3), S2-S13.
- Baytop, T. (1984). *Türkiyede bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün)*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları
- Baytöre, F. (2011). *Bazı çörekotu (Nigella sativa L.) populasyonlarının verim ve verim kriterlerinin belirlenmesi* (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2), 3-8.
- Beydilli, H., Yilmaz, N., Cetin, E. S., Topal, Y., Topal, H., Sozen, H., Altuntas, İ., Suleyman Dem and Cigerci, I. H. (2015). The effects of thymoquinone on nitric oxide and superoxide dismutase levels in a rat model of diazinon-induced brain damage. *Studies on Ethno-Medicine*, 9(2), 191-195.
- Buechter, D. D. (1988). Free radicals and oxygen toxicity. *Pharmaceutical research*, 5(5), 253-260.
- Cadenas, E., and Sies, H. (1998). The lag phase. *Free radical research*, 28(6), 601-609.
- Carocho, M., and Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Carr, A. C., and Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 69(6), 1086-1107.
- Cendan, J. C., Topping, D. L., Pruitt, J., Snowdy, S., Copeland III, E. M., and Lind, D. S. (1996). Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer cell line. *Journal of Surgical Research*, 60(2), 284-288.
- Ceylan, A. (1983). Tıbbi Bitkiler (I. Genel Bölüm). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 312.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., and Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life sciences*, 75(21), 2539-2549.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., and Attia, H. (2007). *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food chemistry*, 101(2), 673-681.

- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., and Attia, H. (2007). *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food chemistry*, 101(2), 673-681.
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J., and van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental toxicology and pharmacology*, 10(4), 141-152.
- Commoner, B., Townsend, J., and Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174(4432), 689-691.
- Crane, F. L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(6), 591-598.
- Crossmon, G. (1937). A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *The Anatomical Record*, 69(1), 33-38.
- Darakhshan, S., Pour, A. B., Colagar, A. H., and Sisakhtnezhad, S. (2015). Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological research*, 95, 138-158.
- Davies, M. G., Fulton, G. J., and Hagen, P. O. (1995). Clinical biology of nitric oxide. *British Journal of Surgery*, 82(12), 1598-1610.
- Dawson, T. M., Dawson, V. L., and Snyder, S. H. (1992). A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 32(3), 297-311.
- Desai, S. D., Saheb, S. H., Das, K. K., and Haseena, S. (2015). Effect of thymoquinone on MDA and SOD levels in streptozotocine induced diabetic albino rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(8), 523.
- Diplock, A. (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.
- Ebaid, H., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Rady, A., and El-Shehry, S. (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition and metabolism*, 10(1), 1-10.
- El Gazzar, M., El Mezayen, R., Marecki, J. C., Nicolls, M. R., Canastar, A., and Dreskin, S. C. (2006). Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International immunopharmacology*, 6(7), 1135-1142.
- El Gazzar, M., El Mezayen, R., Nicolls, M. R., Marecki, J. C., and Dreskin, S. C. (2006). Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1760(7), 1088-1095.
- El-Khouly, D., El-Bakly, W. M., Awad, A. S., El-Mesallamy, H. O., and El-Demerdash, E. (2012). Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor Kappa-B in rats. *Toxicology*, 302(2-3), 106-113.
- El-Khouly, D., El-Bakly, W. M., Awad, A. S., El-Mesallamy, H. O., and El-Demerdash, E. (2012). Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor Kappa-B in rats. *Toxicology*, 302(2-3), 106-113.
- El-Khouly, D., El-Bakly, W. M., Awad, A. S., El-Mesallamy, H. O., and El-Demerdash, E. (2012). Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-

- induced oxidative stress and activation of nuclear factor Kappa-B in rats. *Toxicology*, 302(2-3), 106-113.
- El-Sheikh, A. A., Morsy, M. A., Abdalla, A. M., Hamouda, A. H., and Alhaider, I. A. (2015). Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Mediators of inflammation*, 2015.
- El-Tahir, K. E. D. H., and Bakeet, D. M. (2006). The black seed *Nigella sativa* Linnaeus-A mine for multi cures: a plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 1(1), 1-19.
- Farooqui, Z., Shahid, F., Khan, A. A., and Khan, F. (2017). Oral administration of *Nigella sativa* oil and thymoquinone attenuates long term cisplatin treatment induced toxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96, 912-923.
- Forouzanfar, F., Bazzaz, B. S. F., and Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17(12), 929.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem*, 64, 97-112.
- Galanti, L. M. (1997). Specificity of salivary thiocyanate as marker of cigarette smoking is not affected by alimentary sources. *Clinical chemistry*, 43(1), 184-185.
- Gali-Muhtasib, H., Roessner, A., and Schneider-Stock, R. (2006). Thymoquinone: a promising anti-cancer drug from natural sources. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 38(8), 1249-1253.
- Gao, F., Kinnula, V. L., Myllärniemi, M., and Oury, T. D. (2008). Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxidants and redox signaling*, 10(2), 343-354.
- Garewal, H. (1997). *Antioxidants and disease prevention*. CRC Press.
- Ghosheh, O. A., Houdi, A. A., and Crooks, P. A. (1999). High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 19(5), 757-762.
- Gruhlke, M. C., and Slusarenko, A. J. (2012). The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98-107.
- Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.
- Gün, M. (2012). Holly Seed: *Nigella Sativa*. *Some Knowledge Corresponding to Nigella Sativa's Therapy Ailment*. *Lokman Hekim Journal* 2 (1): 43, 46.
- Gürkan, A. S., and Bozdağ Dünder, O. (2005). Coenzyme Q10.
- Güzelsoy, P., Aydın, S., & Başaran, N. (2018). Çörek otunun (*Nigella sativa* L.) aktif bileşeni timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkileri. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 7(2), 118-135.
- Güzelsoy, P., Aydın, S., and Başaran, N. (2018). Çörek otunun (*Nigella sativa* L.) aktif bileşeni timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkileri. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 7(2), 118-135.
- Güzelsoy, P., Aydın, S., and Başaran, N. (2018). Çörek otunun (*Nigella sativa* L.) aktif bileşeni timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkileri. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 7(2), 118-135.
- Halliwell, B. (1996). Commentary: vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo?. *Free radical research*, 25(5), 439-454.

- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312-322.
- Hayat, K., Asim, M. R., Nawaz, M., Li, M., Zhang, L., and Sun, N. (2011). Ameliorative effect of thymoquinone on ovalbumin-induced allergic conjunctivitis in Balb/c mice. *Current eye research*, 36(7), 591-598.
- Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., and Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *Plos one*, 9(10), e109257.
- Hojná, S., Kunes, J., and Zicha, J. (2010). Alterations of NO synthase isoforms in brain and kidney of rats with genetic and salt hypertension. *Physiological research*, 59(6), 997.
- Hussein, H. K., Elnaggar, M. H., and Al-Zahrani, N. K. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol*, 1(4), 066-071.
- Iannitti, T. (2009). Iannitti T, Palmieri B. Antioxidant therapy effectiveness: an up to date. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2009 Jul-A. *European review for medical and pharmacological sciences*, 13.
- Ignarro, L. J. (1990). Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension*, 16(5), 477-483.
- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., and Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9265-9269.
- Iliesiu, A., Campeanu, A., and Dusceac, D. (2010). Serum uric acid and cardiovascular disease. *Maedica*, 5(3), 186.
- Isik, A. F., Kati, I., Bayram, I., and Ozbek, H. (2005). A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 28(2), 301-305.
- Izzo, A. A., Di Carlo, G., Borrelli, F., and Ernst, E. (2005). Cardiovascular pharmacotherapy and herbal medicines: the risk of drug interaction. *International journal of cardiology*, 98(1), 1-14.
- Jewell, C., and O'Brien, N. M. (1999). Effect of dietary supplementation with carotenoids on xenobiotic metabolizing enzymes in the liver, lung, kidney and small intestine of the rat. *British Journal of Nutrition*, 81(3), 235-242.
- Kalff, J. C., Carlos, T. M., Schraut, W. H., Billiar, T. R., Simmons, R. L., and Bauer, A. J. (1999). Surgically induced leukocytic infiltrates within the rat intestinal muscularis mediate postoperative ileus. *Gastroenterology*, 117(2), 378-387.
- Kalinina, E. V., Chernov, N. N., and Novichkova, M. D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562-1583.
- Kanter, M. (2011). Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicology and industrial health*, 27(5), 387-395.
- Karabulut, H., and Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Kasnak, C., and Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 3(5), 226-234.
- Kavas, G., Çelikel, N., and Kınık, Ö. (2006). Önemli bir antioksidan: koenzim Q 10 (KoQ10). *Dünya Gıda*, 11(6).

- Kayapınar, D. (2002). Akut Koroner Sendromlu Olgularda Koenzim Q10 Düzeyleri. *Biyokimya (Eczacılık) Programı Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 61s.*
- Khader, M., and Eckl, P. M. (2014). Thymoquinone: an emerging natural drug with a wide range of medical applications. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17(12), 950.
- Kinnula, V. L., and Crapo, J. D. (2004). Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(6), 718-744.
- Kirkman, H. N., Galiano, S., and Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH. *Journal of Biological Chemistry*, 262(2), 660-666.
- Knowles, R. G., and Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*, 298(2), 249-258.
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., and Srivastava, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv kaynak tarama dergisi*, 24(1), 19-40.
- Lagman, M., Ly, J., Saing, T., Kaur Singh, M., Vera Tudela, E., Morris, D., and Venketaraman, V. (2015). Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PLoS one*, 10(3), e0118436.
- Laitonjam, W. S. (2012). Natural antioxidants (NAO) of plants acting as scavengers of free radicals. In *Studies in natural products chemistry* (Vol. 37, pp. 259-275). Elsevier.
- Li, P., Yin, Y. L., Li, D., Kim, S. W., and Wu, G. (2007). Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98(2), 237-252.
- Li, Y., and Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of nutrition*, 137(10), 2171-2184.
- Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L., and Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger. *Annals of internal medicine*, 120(3), 227-237.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J. J., Parry, J., Gao, J. M., and Yu, L. L. (2010). Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1409-1413.
- Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., and Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(4), 840-860.
- M. Green, R., Graham, M., RO'Donovan, M., Chipman, J. K., and J. Hodges, N. (2006). Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. *Mutagenesis*, 21(6), 383-390.
- MacMicking, J., Xie, Q. W., and Nathan, C. (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annual review of immunology*, 15(1), 323-350.
- Mansour, M. A., Ginawi, O. T., El-Hadiyah, T., El-Khatib, A. S., Al-Shabanah, O. A., and Al-Sawaf, H. A. (2001). Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Research communications in molecular pathology and pharmacology*, 110(3-4), 239-252.
- Marletta, M. A. (1994). Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase. *Journal of medicinal chemistry*, 37(13), 1899-1907.
- Massey, V., and Williams, C. H. (1965). On the reaction mechanism of yeast glutathione reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 240(11), 4470-4480.

- Meister, A. (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *Journal of Biological Chemistry*, 269(13), 9397-9400.
- Mollazadeh, H., and Hosseinzadeh, H. (2014). The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17(12), 958.
- Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y., and Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase-a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305-311.
- Nejdet, Ş. E. N., Tekeli, Y., and Yakup, K. A. R. Samsun yöresinde ve mısır ülkesinde yetiştirilen çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 2(2), 197-203.
- Nordberg, J., and Arnér, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Nussler, A. K., and Billiar, T. R. (1993). Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *Journal of leukocyte biology*, 54(2), 171-178.
- Odeh, F., Ismail, S. I., Abu-Dahab, R., Mahmoud, I. S., and Al Bawab, A. (2012). Thymoquinone in liposomes: a study of loading efficiency and biological activity towards breast cancer. *Drug delivery*, 19(8), 371-377.
- Orbea, A., Fahimi, H. D., and Cajaraville, M. P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and Cell Biology*, 114(5), 393-404.
- Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hølmer, G., Mortensen, S. A., and Stender, S. (1999). Coenzyme Q 10 in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53(10), 764-770.
- Alabay, B., Aslan, Ş., Erdost, H., Girgin, A., Gülmez, N., Özer, A., Liman, N., Özcan, Z., Özfiliz, N., Yörük, M., Ergün, L., Zık, B. (2008) *Veteriner özel histoloji*. İstanbul: Nobel Yayıncılık
- Packer, L., Kraemer, K., and Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), 888-895.
- Palmer, R. M., Ashton, D. S., and Moncada, S. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333(6174), 664-666.
- Parkhideh, D. (2008). *U.S. Patent No. 7,438,903*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Parlar, A., and Arslan, S. O. (2019). Thymoquinone exhibits anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects on allergic airway inflammation. *Archives of Clinical and Experimental Medicine*, 4(2), 60-65.
- Pei, S., Minhajuddin, M., Callahan, K. P., Balys, M., Ashton, J. M., Neering, S. J., and Jordan, C. T. (2013). Targeting aberrant glutathione metabolism to eradicate human acute myelogenous leukemia cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288(47), 33542-33558.
- Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Raha, S., and Robinson, B. H. (2000). Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in biochemical sciences*, 25(10), 502-508.
- Reiter, R. J., Acuña- castroviejo, D. A. R. I. O., Tan, D. X., and Burkhardt, S. (2001). Free radical- mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939(1), 200-215.

- Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow- Walden, L., Chuang, J., and AcuñaCastroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 18(1), 1-11.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., and Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters*, 582(13), 1783-1787.
- Sajjad, Maureen Leonard, M. Doyle, Y. (2000). Antioxidant levels in the cord blood of term fetus. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 20(5), 468-471.
- Salomi, M. J., Nair, S. C., and Panikkar, K. R. (1991). Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice.
- Sen, S., and Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1-37). American Chemical Society.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 3(1), 91-100.
- Shinde, A., Ganu, J., and Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Singh, A., Ahmad, I., Akhter, S., Jain, G. K., Iqbal, Z., Talegaonkar, S., and Ahmad, F. J. (2013). Nanocarrier based formulation of Thymoquinone improves oral delivery: stability assessment, in vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 822-832.
- Singh, B. K., Sharma, S. R., and Singh, B. (2009). Combining ability for superoxide dismutase, peroxidase and catalase enzymes in cabbage head (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *Scientia Horticulturae*, 122(2), 195-199.
- Singh, R. P., Sharad, S., and Kapur, S. (2004). Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *J Indian Acad Clin Med*, 5(3), 218-225.
- Stocker, R. (2007). Coenzyme Q10. Reviewed, *Linus Pauling Institute Micronutrient Research for Optimum Health*, <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/coq10/>, (Erişim tarihi: 5 Eylül 2009)
- Suddek, G. M., Ashry, N. A., and Gameil, N. M. (2013). Thymoquinone attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury in rats. *Inflammopharmacology*, 21(6), 427-435.
- Surekha, R., and Sumathi, T. (2016). An efficient encapsulation of thymoquinone using solid lipid nanoparticle for brain targeted drug delivery: physicochemical characterization, pharmacokinetics and bio-distribution studies. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(12), 1616-1624.
- Takruri, H. R., and Dameh, M. A. (1998). Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa*L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 404-410.
- Thomas, M. J. (2000). The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 16(7-8), 716-718.
- Tkaczyk, J., and Vizek, M. (2007). Oxidative stress in the lung tissue—sources of reactive oxygen species and antioxidant defence. *Prague Med Rep*, 108(2), 105-14.
- Tojo, K., and Lee, A. C. (1989). Skin penetration of vitamins C and E. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 40(2), 119-125.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., and Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.

- Traber, M. G., and Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 43(1), 4-15.
- Usta, A., Dede, S., and Çetin, S. (2018). Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Doku Total Oksidan ve Antioksidan Düzeyine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1), 84-91.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Vinson, J. A. (2006). Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, 13(3), 151-162.
- Waring, W. S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Qjm*, 95(10), 691-693.
- White, K. A., and Marletta, M. A. (1992). Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type hemoprotein. *Biochemistry*, 31(29), 6627-6631.
- Whittington, K. (1999). Relative contribution of leukocytes and of spermatozoa to reactive oxygen species production in human sperm suspensions. *International journal of andrology*, 22(4), 229-235.
- Yazıcı, C., and Kader, K. Ö. S. E. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-66.
- Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74(1), 139-162.
- Yuncu, M., Sahin, M., Bayat, N., and Sari, I. (2013). Effects of Nigella sativa oil on rat liver development. *European journal of therapeutics*, 19(3), 180-184.
- Zámocký, M., and Koller, F. (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in biophysics and molecular biology*, 72(1), 19-66.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 68489742-604.01.03-E.10671
Konu : Dilekçeniz hk.

13/05/2019

DOÇ. DR. ŞERİFE TÜTÜNCÜ
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

01/04/2019 tarihli dilekçenizde “**Deneyssel olarak periton içi ve ağız yolu ile uygulanan Timokinonun gastrointestinal sistem ve böbrekler üzerine etkisinin karşılaştırılması**” başlıklı 2015/51 nolu projeden elde edilen akciğer, deri ve ovaryum dokularını başka bir projede kullanma talebiniz kurulumuzca uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Kübra TAŞKAN, Samsun Recep Tanrıverdi Lisesi’ni bitirdikten sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi’nden 2016 yılında mezun oldu. 2019 yılında OMÜ Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Yüksek Lisans programını girdi. Mezuniyetinden bu yana hemşire olarak görev yapan Kübra TAŞKAN, orta derecede İngilizce bilmektedir. Temel ilgi alanları, biyoloji, matematik.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-8603-0697



