



**RATLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN
GASTRİK HASARA KARŞI TİMOKİNON'UN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cemile TURAN

**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı
Doç. Dr. Yasin BAYIR
Yüksek Lisans Tezi – 2016**

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN
GASTRİK HASARA KARŞI TİMOKİNON'UN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cemile TURAN

**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Yasin BAYIR**

**ERZURUM
2016**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RATLARDA İNDOMETAZİN İLE İNDÜKLENEN GASTRİK
HASARA KARŞI TİMOKİNON'UN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Cemile TURAN

Tez Savunma Tarihi : 02.06.2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Yasin BAYIR (Atatürk Üniversitesi)

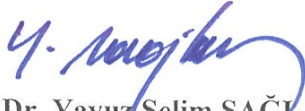
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Beyzagül POLAT (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Murat KOÇ (Bozok Üniversitesi)



Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM -2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVI
TABLolar DİZİNİ	XVII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Mide Anatomisi	4
2.2. Mide Fizyolojisi.....	5
2.3. Peptik Ülser.....	6
2.3.1. Tanımı	6
2.3.2. Tarihçesi.....	6
2.3.3. Epidemiyolojisi.....	7
2.3.4. Etiyolojisi.....	8
2.3.4.1. <i>Helicobacter pylori</i>	8
2.3.4.2. Nonsteroid Anti-enflamatuar İlaçlar (NSAID)	8
2.3.4.3. Sigara İçimi.....	9
2.3.4.4. Yaş	9
2.3.4.5. Stres ve Yaşam Tarzı	9
2.3.4.6. DiyetSEL Faktörler	10
2.3.4.7. Alkol	10
2.3.4.8. Genetik.....	10
2.3.4.9. Ek Hastalıklar	10
2.3.5. Patogenezi.....	11
2.3.6. Klinik Belirti ve Bulguları	12
2.3.7. Tanı Yöntemleri.....	12
2.3.8. Tedavi ve Bakım.....	12
2.3.8.1. Histamin 2 (H ₂) Reseptör Antagonistleri.....	13
2.3.8.2. Proton Pompası İnhibitörleri (PPI)	13
2.3.8.3. Antiasitler.....	13
2.3.8.4. Sukralfat (SUKRoz-ALüminyum-sülFAT)	14
2.3.8.5. Prostaglandin Analogları	14
2.3.8.6. <i>Helicebacter pylori</i> Tedavisi	14
2.3.8.7. Diğer Alternatif Tedaviler	15
2.3.9. IND gibi NSAID İlaçların Peptik Ülser Oluşum Mekanizması	16

2.4. <i>Nigella sativa</i> L. (Çörek Otu)	17
2.4.1. Özellikleri	17
2.4.2. Kimyasal Bileşimi.....	18
2.5. Timokinon (TQ).....	20
2.5.1. Kimyasal Yapısı.....	20
2.5.2. Bulunuşu ve Doğal Kaynakları.....	21
2.5.3. Metabolizması ve Görevleri.....	22
2.5.4. Farmakolojik ve Biyolojik Etkileri	23
2.5.4.1. Antioksidan Etkisi.....	23
2.5.4.2. Antitümoral ve Antikanserojenik Etkisi	24
2.5.4.3. Analjezik ve Antienflamatuvar Etkisi.....	26
2.5.4.4. Diğer Etkileri	26
2.5.4.5. Toksik Özelliği	28
2.6. Oksidan ve Antioksidan Sistem.....	29
2.7. Serbest Radikaller	30
2.7.1. Serbest Radikal Çeşitleri.....	33
2.7.1.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$)	33
2.7.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	34
2.7.1.3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	36
2.7.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)	37
2.7.1.5. Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$).....	37
2.7.1.6. Diğer Serbest Radikaller	39
2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları	40
2.7.2.1. Eksojen Radikal Kaynakları	40
2.7.2.2. Endojen Radikal Kaynakları.....	40
2.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri.....	42
2.7.3.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri	43
2.7.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	44
2.7.3.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri.....	45
2.7.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	45
2.7.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	46
2.7.4.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar	47
2.7.4.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar	52
3. MATERYAL VE METOT	56
3.1. Deney Hayvanları	56
3.2. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması.....	56
3.3. Ratlarda IND Ülser Modelinin Oluşturulması ve TQ'nun Uygulanması	57

3.4. Deneylerde Kullanılan Alet ve Cihazlar	58
3.5. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar.....	59
3.6. Mide Dokularının Makroskopik İncelenmesi	60
3.7. Mide Dokularının Biyokimyasal Analizi.....	61
3.7.1. Doku Numunelerinin Hazırlanması	61
3.7.2. Protein Tayini	62
3.7.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	63
3.7.4. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini.....	65
3.7.5. Lipit Peroksidasyon Aktivite Tayini.....	67
3.8. İstatistiksel Analiz.....	69
4. BULGULAR.....	69
4.1. Makroskopik Bulgular	69
4.2. Biyokimyasal Bulgular	73
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	92
KAYNAKLAR	94
EKLER	125
EK-1. Özgeçmiş.....	125
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	127

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince hem mesleğine hem de hayata yaklaşımı açısından bizlere örnek olan, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca bilgisinden ve tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı saygıdeğer hocam Doç. Dr. Yasin Bayır'a, eğitimim sürecinde bilgileriyle ve tecrübesiyle bizlere yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve ilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarımnda destek olan değerli hocalarım, Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU, Doç. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK, Doç. Dr. Elif ÇADIRCI ve Doç. Dr. Beyzagül POLAT'a, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı ve Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalındaki değerli asistan arkadaşlarım, Arş. Gör. Özlem AYDIN BERKTAŞ, Arş. Gör. Zerrin KUTLU, Arş. Gör. Lale DUYSAK, Arş. Gör. Büşra BAŞOĞLU, Büşra DİYARBAKIR ve Şeyma Gözde BAKIŞ' a birlikte paylaştığımız sıcak çalışma ortamı ve dostlukları için en içten teşekkürlerimi sunarım. Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve bütün eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve kardeşime teşekkürlerimi sunarım.

Cemile TURAN

ÖZET

Ratlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Hasara Karşı Timokinon'un Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Akut mide mukoza hasarlarının görülme sıklığının ve tedavi masraflarının fazla olması onu çekici bir araştırma konusu yapmaktadır. Bu doğrultuda çalışmamızda, halk arasında sıklıkla kullanılan çörek otu (*Nigella sativa*) tohumlarının önemli etken maddelerinden biri olan Timokinon'un (TQ) farklı dozlarının ratlarda indometazin (IND) ile oluşturulan ülser modeli üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 6 gruptan oluşan 36 adet albino *Wistar* cinsi erkek rat kullanıldı. Çalışma grupları sağlıklı grup, IND kontrol grup, famotidin (FAM, 40 mg/kg) grubu ve TQ'un 3 farklı (0.5, 1 ve 2 mg/kg) grubundan oluşmaktadır. Sağlıklı gruba hiçbir muamele yapılmazken, IND kontrol, FAM ve TQ gruplarına oral yoldan gavaj yardımıyla sırasıyla su, FAM ve TQ verildikten 5 dk sonra, aynı şekilde 25 mg/kg IND verilerek ülser modeli oluşturuldu. Hayvanlar 6 saat sonra sakrifiye edilerek, tüm gruplardaki mide örnekleri makroskopik olarak incelendi. Mide dokusunda SOD enzim aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: IND kontrol grubuna göre ülser alanlarının TQ'un düşük dozlarında daha etkili olmak üzere azaldığı belirlendi. IND kontrol grubunda sağlıklı grubuna göre kıyaslandığında MDA seviyesinde artış, GSH seviyesinde ve SOD aktivitesinde düşüş tespit edilmiştir. TQ'nun özellikle düşük doz gruplarında ve FAM grubunda MDA seviyesi anlamlı olarak azalırken GSH seviyesi ve SOD aktivitesi doza bağlı bir şekilde anlamlı olarak artmıştır.

Sonuç: İndometazinle oluşturulan gastrik hasarda serbest radikallerin üretildiği ve ülser oluşumuna neden olduğunu gösterilmiştir. TQ'un (0.5, 1 ve 2 mg/kg) dozlarında IND ile oluşturulan ülserler üzerine koruyucu etki belirlenmiştir. TQ yapısındaki kinonun kuvvetli redoks özelliğiyle IND tarafından oluşturulan serbest radikallerini temizlediği, oksidatif stresi azalttığı ve böylece ülserle karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, indometazin, oksidatif stres, ülser, timokinon.

ABSTRACT

Investigation of The effects of Thymoquinone Against Indomethacine Induced Gastric Damage in Rats

Aim: Incidence and high cost of acute stomach mucosa damages make it a very interesting study issue. For this reason, it is aimed to investigate the effects of different doses of thymoquinone (TQ) against indomethacine induced gastric damage in rats.

Material and Method: In our study, 36 Wistar male rats (6 rats per group) were used. Groups are named as healthy, IND control, famotidine (FAM, 40 mg/kg) and three different doses of TQ (0.5, 1 and 2 mg/kg). While any treatment or drug administration wasn't done on healthy group, model was generated to other groups by giving FAM or TQ with tap water via oral gavage. 5 min later, 25 mg/kg IND was administrated to each rat. Animals were sacrificed about 6 hour later and stomach samples of each groups were collected for macroscopic study and SOD enzyme activity and MDA, GSH levels measurements.

Results: Lower doses of TQ was more effective and all TQ groups exhibited reduced ulcer region with respect to the IND control group. While MDA level increased, GSH level and SOD activity of IND control group was lower than healthy group. The MDA levels of TQ were significantly reduced in FAM groups and especially in lower doses, in contrast, the GSH levels and the SOD activity were significantly increased depending on the dosaging.

Conclusion: It was observed that IND induced gastric damage caused ulcer and made an increase in free radical. It was determined that lower doses of TQ (0.5, 1 and 2 mg/kg) also exhibited a protective effect on IND induced model. It was thought that quinone in TQ structure had a strong redox feature and this feature cleaned up the free radicals caused by IND, it reduced the oxidative stress and protected the stomach from ulcer.

Key Words: Antioxidant, indomethacin, oxidative stress, ulcer, thymoquinone.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD Amerika Birleşik Devletleri

:

ABH Aktive B hücreli

:

ABTS 2,2/Azinobis

:

ADP Adenozin di fosfat

:

ALT Alanin amino transferaz

:

ATP Adenozin tri fosfat

:

BSA Bovine serum albumin

:

cAMP Siklik adenozin mono fosfat

:

CAT Katalaz

:

CCl₄ Karbon tetra klorür

:

cGMP Siklik guanozin mono fosfat

:

Cl Klor

:

ClO⁻ Hipoklorit

:

COX Siklooksijenaz

:

COX-1 Siklooksijenaz-1

:

COX-2	Siklooksijenaz-2
:	
COX-3	Siklooksijenaz-3
:	
CPK	Kreatin fosfokinaz
:	
Cu	Bakır
:	
Cu-Zn SOD	Bakır-çinko içeren süperoksit dismutaz
:	
C₂H₂O₂	Glyoxal
:	
C₈H₆N₄O₅	Nitrofurantion
:	
C₁₁H₈O₂	Menadion
:	
C₁₂H₁₂Br₂N₂	Dikuat dibiromit
:	
C₁₂H₁₄Cl₂N₂	Parakuat
:	
DG	Deney grubu ülser alanı
:	
dk	Dakika
:	
DNA	Deoksiribo nükleik asit
:	
DOX	Doksorubisin
:	
DPPH	2,2-difenil-1-pikril hidrozil
:	
DTNB	5,5'-Dithiobis (2-Nitrobenzoic asid)
:	
DTQ	Dihydrothymoquinone (Ditimokinon)

:	
EC-SOD	Ekstrasellüler süperoksit dismutaz
:	
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit (Ethylenediaminetetraacetic acid)
:	
EGD	: Özofagogastroduodenoskopi
ETS	Elektron taşıma sistemi
:	
FAD	Flavin adenin di nükleotid
:	
FAM	Famotidin
:	
Fe	Demir
:	
Fe⁺²	Ferro demir
:	
Fe⁺³	Ferri demir
:	
Fe-SOD	Demir içeren süperoksit dismutaz
:	
g	Gram
:	
GK	Gaz kromatografisi
:	
GSH	Glutasyon
:	
GSH-Px, GPx	Glutasyon peroksidaz
:	
GSH-Rd	Glutasyon redüktaz
:	
GSSG	Okside glutasyon
:	
GST	Glutasyon S-transferaz

:		
HCl		Hidroklorik asit
:		
HCO₃⁻		Bikarbonat
:		
HDL	:	Yüksek dansiteli lipoprotein
HETE		Hidroksieikozatetraenoik asit
:		
HgA1c		Hemoglobin A1c
:		
HgCl₂		Civa klorür
:		
H-K	ATPaz	Proton pompası
:		
HLA		Human Lökosit Antijen
:		
HMG-CoAR		3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A redüktaz
:		
HO₂⁻		Hidroperoksil
:		
H₂O₂		Hidrojen peroksit
:		
HOCl		Hipoklorik asit
:		
IgG		Immunoglobulin G
:		
IL-1		İnterlökin 1
:		
IND		İndometazin
:		
IND	+	FAM İndometazin + famotidin grubu
:		
IND	+	0.5 TQ İndometazin + timokinonun 0.5 mg/kg dozu

:				
IND	+	1	TQ	İndometazin + timokinonun 1 mg/kg dozu
:				
IND	+	2	TQ	İndometazin + timokinonun 2 mg/kg dozu
:				
I/R				İskemi-Reperfüzyon
:				
İG				IND grubu ülser alanı
:				
İNOS				Nitrik oksit sentaz
:				
i.p				İntraperitoneal yol
:				
kg				Kilogram
:				
L [•]				Lipit serbest radikal
:				
LDH				Laktat dehidrogenaz
:				
LDL				Düşük dansiteli lipoprotein
:				
LD ₅₀				Ortalama öldürücü doz
:				
L-NAME				N-nitro-L-arjinin metil ester
:				
LO				Lipooksijenaz
:				
LOO [•]				Lipit peroksidaz radikalleri
:				
LOOH				Lipit peroksit
:				
LPO				Lipit peroksidasyon
:				

LPS	Lipopolisakkarit
:	
LT	Lökotrienler
:	
MDA	Malondialdehit (1,1,3,3-Tetraethoxypropane)
:	
mg	Miligram
:	
µl	Mikrolitre
:	
mm²	Milimetre kare
:	
Mn-SOD	Mangan içeren süperoksit dismutaz
:	
MPO	Miyeloperoksidaz
:	
mRNA	Mesajcı RNA
:	
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
:	
NADH	Nikotinamid adenin di nükleotid
:	
NADPH	Nikotinamid adenin di nükleotid fosfat
:	
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
:	
nm	Nanometre
:	
nmol	Nanomol
:	
NO[·]	Nitrit oksit
:	
NO₂[·]	Azot dioksit

:	
NO_2^-	Nitrit
:	
N_2O	Nitro oksit
:	
ns	Nanosaniye
:	
NSAID	Nonsteroid antienflamatuar drug
:	
NTB	Nitrotetrazolium
:	
O_2	Oksijen molekülü
:	
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
:	
O_2^-	Süperoksit radikali
:	
$\text{OH}^\cdot$	Hidroksil radikali
:	
ONOO^-	Peroksinitrit:
:	
PBS	Fosfat tamponlu salin (Phosphate buffered saline)
:	
PGD2	Prostaglandin D2
:	
PGE	Prostaglandin E
:	
PGE2	Prostaglandin E2
:	
PGG2	Prostaglandin G2
:	
PGH2	Prostaglandin H2
:	

PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
:	
PPI	Proton pompa inhibitörü
:	
RNA	Ribonükleik asit
:	
RNS,	RNT Reaktif nitrojen türleri (Reactive nitrogen species)
:	
RO[•]	Alkoksil radikalleri
:	
ROO[•]	Peroksil radikalleri
:	
ROS,	ROT Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species)
:	
rpm	Revolution per minute (Dakikada devir sayısı)
:	
RS[•]	Tiyol radikalleri
:	
RSO[•]	Sülfenil radikali
:	
RSO₂[•]	Tiyol peroksil radikali
:	
Se	Selenyum
:	
SLS	Sodium lauryl sulphate (Sodyum lauril sülfat)
:	
SOD	Süperoksit dismutaz
:	
STZ	Streptozotosin
:	
TBA	2-Thiobarbituric acid (2-Tiyobarbitürik asit)
:	
TBHQ	Tertbutilhidrokinon

:	
TG	Trigliserid
:	
THQ	Thymohydroquinone (Timohidrokinon)
:	
THY	Thymol (Timol)
:	
TK	Plazma total kolesterol
:	
TNF-α	Tümör nekroz faktör α
:	
TQ	Thymoquinone (Timokinon)
:	
TXB2	Tromboksan B2
:	
UV	Ultraviyole
:	
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
:	
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
:	
YBSK	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
:	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
<u>No</u>	
Şekil 2.1. Midenin yapısı ve bölgeleri ³⁵	4
Şekil 2.2. Rat mide ve duodenum anatomisi ³⁸	5
Şekil 2.3. NSAID'lerin ülser oluşum mekanizması ⁸⁵	17
Şekil 2.4. a) Nigella sativa bitkisi b) çiçeği c) tohumu d) TQ kimyasal yapısı ⁹⁴	18
Şekil 2.5. Nigella sativa tohumunun aktif bileşenlerinin kimyasal yapısı ¹⁰⁴	19
Şekil 2.6. TQ'nun enflamatuar hastalıklarda ve kanserde hedeflediği yerler ¹⁶⁴	23
Şekil 2.7. TQ redoks mekanizmaları ⁹⁴	24
Şekil 2.8. Serbest radikal aracılı oksidatif hasar ¹⁹⁸	32
Şekil 2.9. L-Arjininden nitrik oksitin üretilmesi	38
Şekil 2.10. GSH ve GSSG' nin yapısı	52
Şekil 3.1. Deneyde Kullanılan Doku Homojenizatörü ve Bilyeli Öğütücü.....	61
Şekil 3.2. Protein miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri.....	63
Şekil 3.3. SOD enzim miktarının ölçümü sırasında kullanılan standart eğri	65
Şekil 3.4. GSH miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri	67

Şekil 3.5. MDA miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri	68
Şekil 4.1. Sağlıklı grubu ratlarda mide mukozası (A), IND grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (B), FAM grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (C), 0.5 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (D), 1 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (E) ve 2 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (F).....	71
Şekil 4.2. Tüm gruplarda saptanan ülser alanlarının grafiksel gösterimi	72
Şekil 4.3. Rat midelerinde ölçülen SOD enzim aktivitesinin grafiksel gösterimi	74
Şekil 4.4. Rat midelerinde ölçülen GSH seviyesinin grafiksel gösterimi	75
Şekil 4.5. Rat midelerinde ölçülen MDA seviyesinin grafiksel gösterimi	76

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa</u>
<u>No</u>	
Tablo 2.1. Peptik ülser patogenezi ⁵⁹	11
Tablo 2.2. Helicobacter pylori enfeksiyonunun eradikasyonu için önerilen rejimler ⁷⁶	15
Tablo 2.3. TQ'nun genel özellikleri ⁹⁴	20
Tablo 4.1. Tüm gruplarda saptanan ülser alanı ve antiülser etkinin toplu sonuçları	71
Tablo 4.2. Rat midelerinde ölçülen SOD enzim aktivitesi ile GSH ve MDA sonuçları	73



1. GİRİŞ

Ülser veya peptik ülser; çeşitli biyolojik ve psikososyal durumlarda oluşabilen mide mukozasında harabiyete sebep veren bir hastalıktır.¹ Günümüzde ülser, görülme sıklığının ve komplikasyonlarının sebep olduğu morbiditeler sebebiyle önemli bir sağlık sorunudur. Peptik ülser hastalığı dünya nüfusunun yaklaşık % 5 ile % 10'unu etkilemektedir² ve yaşam boyu görülme sıklığı ise erkeklerde % 11-14 iken, kadınlarda % 8-11'dir.³

Peptik ülser, gastrointestinal kanal boyunca ortaya çıkan, mide asiti ve sindirim enzimlerinin zararlı etkisi ile ilişkili olarak mide ve duodenum mukozasında oluşan kronik bir hastalıktır. Duodenum ve mide ülserleri, peptik ülser hastalığının en sık görülen çeşitleridir. Ülser oluşumunda genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Bunlar arasında, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, indometazin (IND) ve aspirin gibi nonsteroid anti-enflamatuar ilaçların (NSAID) kullanımı, alkol ve sigara kullanımı, stres ve diğer ilaçların kullanımı olarak belirlenmiştir. Bunlara ilaveten gastrointestinal sistemdeki ülser yaralarına etanol, hidroklorik asit (HCl) gibi kimyasallarla etkileşim, oksidatif stress, safra asitleri, proteazlar gibi iç kaynaklı faktörlerin etkisinde de meydana gelebilir.⁴ Genetik yatkınlık ise ülser oluşumuna sebep olan en önemli etkenler arasındadır.^{5, 6} Bu ve benzeri faktörlerin etkisiyle, mide özsuyu ve içeriğindeki asidik maddelerin artışı muskularis mukoza katmanını da içine alacak şekilde mukoza katmanında derin yaralara sebep olarak mide duvarına zarar verir. Bunun yanı sıra bu etkenlere karşı mideyi koruyan mukus bileşimlerin azalması da mide duvarını asitin etkisine karşı savunmasız bırakarak da ülsere yol açabilir.⁶

NSAID'ler tarafından uyarılan gastrik mukozal ülserasyon temel olarak sitoprotektif prostaglandinlerin eksikliğine bağlanır.⁷ Prostaglandinler mide mukozasında kan akımını, mukus ve fosfolipid yapımını ve bikarbonat (HCO_3^-)

sekresyonunu artırarak mide mukoza bariyerinin korunmasında önemli rol oynamaktadırlar.⁸ Aspirin ve IND'nin, siklooksijenaz (COX) enzim sistemini inhibe ederek antienflamatuar aktivite ederek gösterdikleri düşünülmektedir. Aspirin ve IND gibi antienflamatuar ilaçların COX enzim sistemini bloke etmesi ile prostaglandin biyosentezinin baskılanması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sonucu gastrik hasarın oluşumuna neden olur.^{7, 9} Aspirin ve diğer NSAID'lerin kullanımını kısıtlayan esas faktörler ise, gastrointestinal olaylar ve özellikle gastrointestinal kanamadır.¹⁰ Serbest oksijen türleri (ROS)'nin doğrudan ve dolaylı detoksifikasyonu organizmanın, organların sağlığı ve gastrointestinal sistem için önemlidir.¹¹ ROS'nin aşırı artışı veya antioksidan sistemlerin yetersiz kalması durumunda ateroskleroz, kardiyoserebral hastalıklar, kanser, yaşlanma, otoimmün hastalıklar, enfeksiyon ve ülser gibi pek çok hastalığın meydana geldiği düşünülmektedir.^{12, 13} ROS'nin sebep olduğu büyük gastrik mukozal hasarların mekanizması günümüzde tam olarak aydınlatılamamıştır. ROS'nin başlattığı membran hasarına bağlı lipid peroksidasyonu (LPO) sonucu hücre membran bütünlüğünde önemli bozulmaların meydana geldiği bilinmektedir.^{14, 15} LPO, membranın özelliklerini değiştirerek epitelin ve endotelin bariyer özelliklerini bozabilir. LPO sonucu membran sıvı akışkanlığı ve geçirgenliğinde değişiklikler olabilmekte, membranın protein oranı değişmekte ve sonunda hücre ölümü gerçekleşmektedir.^{11, 14} NSAID'lerden IND'nin neden olduğu gastrik mukozal hasarda ROS ve LPO'nun rolünü belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda Superoksit Dismutaz (SOD) enziminin aktivitesinin, Glutasyon (GSH) seviyesinin gastrik mukozal lezyonlarda azaldığı gösterilmiştir.^{14, 15}

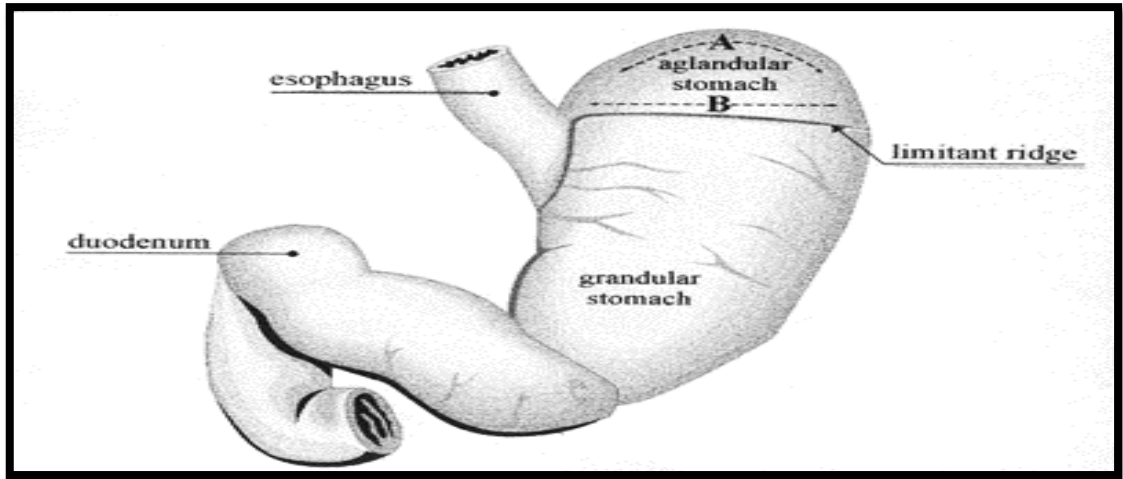
Akut mide mukoza hasarlarının görülme sıklığının ve tedavi masraflarının fazla olması sebebiyle; bu hastalığın tedavisi için birçok araştırma yapılmakta ve yeni tedavi yöntemleri aranmaktadır. Bazı araştırmacılar bu hastalığın tedavisinde ilaçla tedavi ve

ileri safhalarında cerrahi işlemler üzerinde dururken bazıları da yüksek antioksidan içerikli bitkilerin ekstrelerini deneyerek, hastalığa neden olan oksidatif stresi baskılamaya çalışmışlardır. Bitkilerin birçok ilacın hammadde kaynağı olduğunu düşünecek olursak, peptik ülser hastalığının tedavisinde de bitkilerle yapılan çalışmaların ileride çok olumlu sonuçlar verebileceğini düşünebiliriz.¹⁶ Günümüzde çeşitli bitkiler, destekleyici ve tıbbi yardım olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya devam etmekte ve “Alternatif Tıp” gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tahminlerine göre dünya üzerinde 20.000'den fazla bitki türü tıbbi maksatlı kullanılmaktadır.¹⁷

Son yıllarda birçok hastalık modeli üzerinde çalışma yapılan tıbbi bitkiler arasında bulunan Ranunculaceae familyasına ait bir tür olan *Nigella sativa* L. (Çörek otu) bitkisi önemli bir tarihsel geçmişe sahip olup,¹⁸ Orta Doğu ve Uzak Doğu ülkelerinde 2000 yılı aşkın süredir birçok hastalığın tedavisinde kullanılan şifalı bir bitkidir.¹⁹ Çörek otu (*Nigella sativa*) tohumlarının uçucu yağında bulunan aktif bileşiklerden biri olan Timokinon (TQ) birçok biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahip bir monoterpen kinondur.^{20, 21} TQ'nun insan sağlığı üzerinde antioksidan, antikanserojen, antibakteriyel, antifungal, antitümör, antialerjik özelliklerinin üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir.²²⁻²⁵ Literatürde hem çörek otunun hem de TQ'nun etanol ve iskemi reperfüzyon ile oluşturulmuş deneysel hayvan modelleri üzerine ülser koruyucu etkilerini ortaya koyan deneysel çalışmalar yapılmıştır.^{22, 26-32} Pek çok hastalığın tedavisi ve önlenmesinde yaygın olarak kullanılan TQ'nun, IND ile oluşturulan ülser modeliyle in vivo koşullarda yapılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, IND ile oluşturulan ülser modelinde TQ'nun farklı dozları ratlara uygulanarak antioksidan (SOD enzim aktivitesi, GSH ve LPO seviyeleri) ve antiülserojenik etkilerinin belirlenmesidir.

gastricus, corpus gastricus, pars pylorica ve pylorus olmak üzere 5 bölümden oluşur (Şekil 2.1.).³⁶

Ratlarda mide, glandüler ve nonglandüler olmak üzere iki kısımdan oluşur. Nonglandüler bölüm ince duvarlıdır ve keratinize çok katlı squamöz epitel ile döşelidir. Besinlerin depolanması ve sindirilmesinde görevlidir. Glandüler bölüm ise kalın duvarlıdır ve kolumnar epitelden oluşmaktadır. Glandüler bölümün lamina propriasında mukus, pepsin ve HCl salgılayan hücreler bulunmaktadır. Bu insandaki gibi duodenum ve ince bağırsakla devam eder (Şekil 2.2.).³⁷



Şekil 2.2. Rat mide ve duodenum anatomisi³⁸

2.2. Mide Fizyolojisi

Mide, besinlerin duodenuma gelmeden önce öğütüldükleri bir yerdir. Bu mekanik göreve ilaveten, HCl ve pepsinojen salgılayarak protein sindirim işlemini başlatır. HCl paryetal hücrelerden salgılanırken, pepsinojen ana (esas) hücrelerden salgılanır. Her iki hücre de mide mukozasında, özellikle midenin korpus ve fundusunda bulunurlar. Gastrin, histamin ve asetilkolin gibi endojen kimyasal maddeler asit salınımını uyarır.³⁹ Asetilkolin, midedeki gerilme refleksleri ile uyarılarak kolinerjik sinir uçlarından salgılanır. Histamin ise ana hücrelere yakın olan mast hücrelerinden salgılanır. Mide mukozası mide öz suyu içerisindeki asit-pepsin karışımından korunmak için birçok savunma mekanizması geliştirmiştir. Mide ve duodenum, mukozayı mide

özsuyundaki asit-pepsin karışımının etkilerinden koruma amacı ile birçok savunma mekanizması geliştirmiştir.³⁹ Yüzeydeki apikal hücreler bikarbonat salgılayarak savunma oluştururken hasarlı hücrelerin dökülmesi ve yerine rejenerasyon ile yeni epitel hücrelerinin gelmesi de bir diğer savunma mekanizmasıdır.⁴⁰

2.3. Peptik Ülser

2.3.1. Tanımı

Ülser oluşumunun temeli, gastroduodenal mukoza bütünlüğünün, zararlı ve koruyucu/onarıcı faktörler arasındaki dengenin değişmesine bağlı olarak bozulmasına dayanır. En önemli olumsuz faktörler olan asit ve pepsin, gastroduodenal mukozanın koruyucu/onarıcı mekanizmalarını; genetik, çevresel ve enfeksiyöz kökenli faktörlerin yardımıyla bozmakta ve ülser oluşmaktadır. Mide ülserinin oluşmasında koruyucu faktörlerin azalması, duodenal ülser oluşumunda ise zararlı faktörlerin artması daha önemlidir. *Helicobacter pylori* ve NSAID gibi yaygın faktörlerin işlevi, diğer olumsuz faktörleri (asit-pepsin) arttırmaktan çok, koruyucu ve onarıcı mekanizmaları bozmak yoluyla olmaktadır.⁴¹

Ülser, histopatolojik olarak yüzeysel defekt erozyonu olarak tanımlanmakta, defektin muskularis mukozayı aşarak submukoza veya muskularis propria tabakasını da içerecek şekilde ilerlemesiyle oluşmaktadır.^{41, 42} Bir peptik ülser midede gelişirse “gastrik ülser”; duodenumda gelişirse “duodenal ülser” ve özofagusta gelişirse “özofegal ülser” olarak adlandırılır.⁴³ Peptik ülser en sık duodenum ve midede görülmektedir.⁴¹

2.3.2. Tarihçesi

20. yüzyıl başlarında peptik ülser tedavisi için en önemli faktörlerin stres ve yanlış beslenme olduğu düşünülerek, hastalar hastanelere yatırılarak dinlendirilmekte ve yumuşak diyetler verilerek hastaların mideleri de “dinlenmeye” bırakılmaktaydı. Bu

nedenle de 1880’li yıllarda Theodor Billroth’un kendi adını taşıyan ameliyat yöntemlerini geliştirmesi ile peptik ülser tedavisinde önemli bir adım atıldığı göz ardı edilmemelidir. 20. yüzyılın başlarına kadar anlatılan tedavi yöntemlerinin uygulandığı anlarda, Dr. Karl Schwarz’ ın “Asit yoksa, ülser de yok” sözünün tedavide önemli bir prensip haline gelmeye başladığını görmekteyiz.⁴² Amerikalı bir hekim olan Bertram Welton Sippy ilk kez 1910’lu yılların başından itibaren antiasit özelliği olduğu düşünülen diyeti uygulayan kişi olarak tıp tarihine geçmiştir. Süt alkali maddelerden zengin olan bu diyet maalesef içerdiği yüksek miktardaki kalsiyumun asit sekresyonunu belli bir süre sonra uyardığı gösterilene kadar kullanımda kalmıştır.⁴² Fakat bu tedavilerin tamamıyla asit sekresyonunu engellediğini söyleyemeyiz. Daha etkin ve güvenli bir antiasit tedavisi 1966 yılında H₂-reseptörünün keşfi ile ortaya çıkmıştır. 1972 yılında James Black, H₂-reseptörünün detaylarını tanımlamış ve ilk antagonist “Burimamid” üretmiştir. 1974 yılında metimamidin üretilmesi ardından da 1976 yılında da simetidin üretilmesi ile tedaviye katkı sağlanmıştır. Ancak aynı dönemlerde pariyetal hücrelerdeki proton pompasının da varlığı keşfedildi ve bu pompayı inhibe edecek bir ilaç üretimi için çalışmalar başladı. 1974 yılında timoprazolün üretilmesinin ardından 1981 yılında yapılan çalışmalarla ülser tedavisinde çığır açacak olan ilk proton pompa inhibitörü (PPI) olan omeprazol kullanılmaya başlandı.⁴² Hemen ardından 1982 yılında *Helicobacter pylori*’nin keşfi gerçekleşmiştir. Sonraki yıllarda ülser tedavisine bakış tamamen yön değiştirmiş ve tedavisi daha kolay bir hale gelmiştir.⁴²

2.3.3. Epidemiyolojisi

Hastalığın mortalitesi düşük olmasına rağmen nüks oranlarının yüksek olması, uzun süreli bir kronik hastalık olması ve bazen ömür boyu sürebilecek ilaç desteği gerektirmesi bu hastalığa olan bakış açısını hep güncel tutmuştur. Bu sebeplerden dolayı ekonomik yükü de yüksek olmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerin (ABD)’de her yıl

500.000 yeni olgu saptanırken, nüks 4-4.5 milyon civarındadır. Türkiye’de ise her yıl 120.000 yeni hasta ve 1 milyona yakın nüks olabileceği düşünülebilir.⁴⁴ Ülser yoğunluğu yaş, cins ve lokalizasyona göre değişmektedir. Bir yıl içinde ülser yakalanma riski % 1.8 iken,⁴⁵ bir ömür boyu yakalanma riski erkekler için % 11-14, kadınlar için ise % 8-11 oranındadır.⁴⁶

2.3.4. Etiyolojisi

2.3.4.1. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori asit hipersekresyonu artırırken, duodenumda bikarbonat üretimini azaltır. Böylece duodenal ülserasyona sebep olurken, gastrik atrofi, intestinal metaplazi veya kansere yol açarak karmaşık bir durum yaratır. *Helicobacter pylori* ile kronik enfekte, bireylerin % 20’den azında peptik ülser gelişir. Ayrıca dokuları invaze etmediği halde, şiddetli bir enflamatuvar ve immün yanıtı neden olur.

2.3.4.2. Nonsteroid Anti-enflamatuvar İlaçlar (NSAID)

NSAID’ler gastroduodenal mukozaya yüzeysel ya da sistemik etkileyerek hasar verebilirler.⁴⁷ Asidik gastrik sıvıda, zayıf asit olan aspirin gibi NSAID’ler iyonize olmayan formdadırlar ve gastrik hücrelere serbestçe girebilirler. Hücre içi pH nötr durumda olduğu için H^+ iyonları ayrılır ve negatif yüklü NSAID’ler hücre membranından geçemezler. Bu durumda zararlı NSAID’ler mide mukoza hücrelerinde yoğun olarak yer alırlar. Bundan dolayı, yüzeysel hasarlar NSAID’lerin alınmasından birkaç dakika sonra bile ortaya çıkabilir.⁴⁸

Yapılan çalışmalar, ülserlerin NSAID’lerin yüzeysel etkilerinden çok sistemik etkilerine bağlı olduğunu göstermektedir.⁴⁹ Ülserin NSAID’lerin indüklediği siklooksijenazın inhibe edilmesinin ardından mukozal prostoglandin sentezinin azalması sonucu olmaktadır. Prostoglandin sentezinin inhibisyonu, mukus ve bikarbonatın

epitelyal sekresyonunun azalmasıyla, azalmış mukozal kan akımıyla, azalmış mukozal proliferasyonla ve direncin bozulması sonucu peptik hasar oluştuğu görülmektedir.⁴⁹

2.3.4.3. Sigara İçimi

Sigara içenlerde sigara miktarı ve içme süresiyle orantılı olarak gastrik ülser riski artmaktadır. Sigara içenlerde ülser boyutu daha büyük, iyileşme hızı daha yavaş ve yeniden oluşması daha olasıdır. Gündüz mide pH'sı içmeyenlerden daha düşüktür.⁵⁰ Nikotin duodenumda mukozal kan akımını azaltmaktadır ve prostaglandin E (PGE) sentezini inhibe etmektedir. Sigara, pankreatik bikarbonat sekresyonunu azaltır, duodenogastrik reflüyü artırır, duodenal ülserli hastalarda antisekretuar ilaçların etkisi baskılar ve bulbusta asidite süresini uzatır. Nikotin ile pepsin sekresyonu sonunda mide motilitesi, duodenogastrik reflü, serbest radikaller, trombosit aktive edici faktör, endotelin, vasopressin düzeyi artar. Tam tersi olarak prostaglandin sentezi, mide mukozal kan akımı, mukus ve endotel büyüme faktörü azalır.⁵⁰

2.3.4.4. Yaş

Türkiye'de duodenal ülser için maksimal insidans 20-50 yaşlarında, mide ülseri için ise 30-60 yaşlarındadır. İleri yaş mide ülseri için, genç yaşlar duodenal ülser için daha sık görülme yaşlarıdır.⁵¹

2.3.4.5. Stres ve Yaşam Tarzı

Peptik ülser, kişilik bozukluğu, hipokondriyak özellikler, pessimist ve aşırı bağımlılık gibi birçok psikolojik rahatsızlıkta karşımıza çıkar. Emosyonel faktörler mide sekresyonu ve mide motor fonksiyonlarını etkileyerek, mide asit salgısını artırmaktadır. Serum, gastrin ve pepsinojen düzeylerinde de belirgin artış görülmektedir.⁵⁰

2.3.4.6. Diyetel Faktörler

Günlük bazı diyetel faktörlerin de ülserle sebep olduğu belirtilmiştir. Devamlı olarak kahve içimi dispepsiye neden olmaktadır. Kahve, kafein içeriğinden bağımsız mide asit sekresyonu ve gastrin salgısını arttırmaktadır. Bu direk olarak ülserle neden olmasa da ülser semptomlarını arttırmaktadır. Kepekli gıdaların gastrik ülserli kişilerde mide asit ve pepsin konsantrasyonunu düşürdüğü saptanmıştır. Kırmızıbiberde bulunan capsaicin ise ince afferent nöronları uyararak gastrik mukozal kan akımını artırarak ülser oluşumunu engellediğı bildirilmiştir.⁵⁰

2.3.4.7. Alkol

Alkol kullanımının peptik ülser hastalığı için büyük bir risk olduğuna dair bulgular mevcuttur. Şarap ve bira gastrik asit salgılatma potansiyeli olan içkilerdendir. Ancak peptik ülser oluşturmadaki rolleri hala tartışılmaktadır.⁵² Bununla birlikte saf etanolün deney hayvanlarında gastrointestinal mukozaya hasar verdiği gösterilmiştir.⁵³ Genelde alkollü içkilerde bulunan etanol konsantrasyonunun insanlarda sadece yüzeysel mukozal hasara neden olduğu savunulmaktadır.⁵⁴

2.3.4.8. Genetik

Genetik faktörlerin ülser hastalığına zemin hazırladığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca ülser hastalarının birinci derece yakınlarının ülser hastalığı gelişimi için daha yüksek risk altında oldukları bildirilmiştir.⁵⁵ Ülserin ailesel kümelenmesinin genetik faktörlerden ziyade aile üyeleri arasında *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun yüksek oranda bulunmasına bağılı olabileceğı görülmektedir. Fakat ülserle yatkınlık sağlayan bu genlerin tespiti henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.⁵⁶

2.3.4.9. Ek Hastalıklar

Zolinger Ellison Sendromu, diyarenin eşlik ettiğı, obstrüksiyon, perforasyon ve kanama gibi komplikasyonlar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sirozlu hastalar,

kronik böbrek yetmezliği ya da renal transplantasyonlu hastalarda da ülser riski fazladır.^{57, 58}

2.3.5. Patogenezi

Ülser oluşumunda temel patogenezi, gastroduodenal mukozanın bütünlüğünün bozulmasıdır. En önemli faktörler olan asit ve pepsin, gastroduodenal mukozanın koruyucu/onarıcı mekanizmalarını; genetik, çevresel ve enfeksiyöz kökenli agresif faktörlerin yardımıyla bozmakta ve sonuçta ülser oluşmaktadır. Mide ülserinin oluşmasında koruyucu faktörlerin azalması, duodenal ülser oluşumunda ise agresif faktörlerin artması daha önemlidir. *Helicobacter pylori* ve NSAID gibi yaygın faktörlerin işlevi, diğer agresif faktörlerin (asit-pepsin) arttırmaktan çok, koruyucu ve onarıcı mekanizmaları bozmak yoluyla olmaktadır (Tablo 2.1.).⁵⁹

Yapılan çalışmalarda peptik ülserlerin % 89-95'inin *Helicobacter pylori* ve NSAID kullanımı ile ilişkili olduğu gösterilmiş olup diğer etkenlerin peptik ülser oluşumunda çok az rolü olduğu belirtilmiştir.⁶⁰

Tablo 2.1. Peptik ülser patogenezi⁵⁹

Agresif Faktörler	Koruyucu Faktörler
Asit	Vasküler endotel ve bazal membran bütünlüğü
Pepsin	Pepsin mukozal kan akımı
NSAID	Yüzeysel epitel rejenerasyonu
Steroid	Bikarbonat sekresyonu
Alkol	Mukus sekresyonu
Sigara	Lokal prostaglandin sekresyonu
<i>Helicobacter pylori</i>	Fosfolipidler

2.3.6. Klinik Belirti ve Bulguları

Peptik ülserde en sık karşılaşılan semptom abdominal ağrı olarak ortaya çıkar. Fakat bu ağrılar özofagus, kalp, safra yolları, pankreas veya intestinal sisteme de ait olabilir.⁶¹ Abdominal ağrı ülseri olanlarda % 94 iken, ülseri olmayan hastalarda da % 82 oranında görülür.⁶² Gastrik ülserli hastalar; epigastriumda yanma ve kemirme şeklinde bir ağrı tarif ederler. Bu ağrı yemeklerden sonra ortaya çıkma eğilimindedir.⁶³ Mide ülseri duodenum ülserinden daha az ağrı meydana getirir ve ağrı şiddeti ülser derinliği, serozanın olaya katılıp katılmadığına bağlı olarak değişir. Ağrı şikayeti olan hastaların endoskopilerinin % 90'ında gastroduodenit veya ülser bulunur.⁶⁴

2.3.7. Tanı Yöntemleri

Peptik ülserin tanınması ya baryumlu üst gastrointestinal kanal radyografisi ya da özofagogastroduodenoskopi olarak adlandırılan (EGD-esophagogastroduodenoscopy) bir endoskopi yöntemiyle yapılır.⁶⁵

2.3.8. Tedavi ve Bakım

Peptik ülserli hastalarda tedavide amaca ulaşabilmek için istirahat, diyet ve ilaç tedavisi gibi faktörlere dikkat edilmelidir.^{43, 66, 67} Temel amaç, ağrının giderilmesi, ülserin iyileşmesinin sağlanması, hastalığın tekrarının önlenmesi, hastalığın yan etkilerinin en alt düzeyde olması ve hastanın hastalığa ve tedaviye uyumunu sağlamaktır. Mide ülserinde kullanılan ilaçlar genellikle; neden olan faktörün etkisini azaltmak, koruyucu faktörleri güçlendirmek ve *Helicobacter pylori*'yi temizlemek gibi amaca hizmet eder. Tüm peptik ülserlerin tedavisinde kullanılan ilaçların yanı sıra, iyileşmeye katkıda bulunan ve hem duodenum hem de mide lezyonlarının nüksetmesini engelleyen birçok önlem vardır. Diyet, alkol, sigara; ülserde diyet konusunda eski katı kuralların uygulanması önerilmemekte kişiye dokunan yiyeceklerin diyetten çıkarılması uygun görülmektedir.^{43, 66}

Peptik ülser tedavisinde antiasitler, H₂ reseptör antagonistleri, antikolinerjik ve antimuskarinik ilaçlar, proton pompa inhibitörleri, prostaglandin analogları, antibiyotikler ve bizmut tuzları kullanılmaktadır.^{43, 67-69}

2.3.8.1. Histamin 2 (H₂) Reseptör Antagonistleri

Günümüzde antisekretuar ajan olarak cimetidine, ranitidine, famotidine, nizatidine ve roksatidin asetat gibi beş farklı H₂ reseptör antagonisti kullanılmaktadır. Bu ilaçlar H₂ reseptörlerini gastrik paryetal hücrelerde bloke ederek etki gösterirler.⁷⁰ Tüm H₂ reseptör antagonistleri renal ekskresyon ve hepatik metabolizmayla elimine edilirler. H₂ reseptör antagonistleri histamin tarafından uyarılan asit sekresyonunun yarışmalı inhibitörleridir. Famotidinin bazı durumlarda yarışmasız inhibisyon özelliği de gösterebilmektedir.⁷¹ H₂ reseptör antagonistlerinin yan etki insidansı % 4'tür ve ciddi yan etkilerinin görülme sıklığı azdır. Randomize klinik örneklerle yapılan çalışma da; H₂ reseptör antagonistlerinin tüm yan etki oranının plasebodan farklı olmadığı bildirilmiştir.⁷²

2.3.8.2. Proton Pompası İnhibitörleri (PPI)

PPI' lar paryetal hücrenin proton pompası olan H-K ATPaz'ı inhibe ederek gastrik asit sekresyonunu azaltan bir diğer grup ilaçtır. Günümüzde omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol ve rabeprazol gibi sıklıkla kullanılan PPI vardır. PPI'lar benzimidazol türevi ve H-K ATPaz'ı etkilemek için asitle aktive olması gereken öncül ilaçlardır.⁷³

2.3.8.3. Antiasitler

Antisekretuar tedaviyle kıyaslandığında antiasit tedavisi için daha az uygun olup, gastrik asiditenin uzun süreli kontrolünde daha az etkilidirler. Ayrıca, antisekretuar ajanlarla kıyaslandığında diyare ve kabızlık gibi hoş olmayan yan etkileri daha fazladır. Renal yetmezlikli hastalarda dikkatle kullanılmalıdır.⁷⁴

2.3.8.4. Sukralfat (SUKRoz-ALüminyum-sülFAT)

Sukralfat, sülfatlanmış sukrozun kompleks metal (alüminyum) tuzudur. Mide asiditesi ile karşılaştığı zaman alüminyum hidroksit maddeden yavaşça çözünerek yüksek polaritede sülfat iyonları oluşturur. Bu negatif yüklü moleküller de pozitif yüklü tüm dokulara kuvvetle bağlanır. İnflamasyon neticesinde ortama salınan sitokinler ve oluşan hücre nekrozuna bağlı dokular genelde pozitif yüklendiği için özellikle zarar görmüş dokuya daha fazla afinite ile bağlanır ve en önemli özelliğini kazandırır.⁴² Bu etkisinin yanı sıra ayrıca mukozada prostaglandin düzeylerini artırır, mukus ve bikarbonat salınımını uyarır, epidermal büyüme faktörlerini bağlar ve anjiyogenezisi uyarıcı etkileri de vardır.⁴²

2.3.8.5. Prostaglandin Analogları

Günümüzde peptik ülser tedavisi endikasyonu ile kullanılan tek prostaglandin analogu “mizoprostol”dür. Normal mukozada prostaglandinler mukozayı koruyucu etkilerini; gastrik asit sekresyon inhibisyonu yaparak, bikarbonat sentez ve salınımını arttırarak ve mukozal kan akımını arttırarak sağlarlar.⁴² Oral yolla alındığı zaman 30 dakika içerisinde maksimum plazma düzeyine ulaşır ve yarı ömrü de yaklaşık 1.5 saattir. Pahalı olması nedeniyle tedavi maliyetini oldukça arttıran bu ilaç günümüzde yaşlı ve NSAİ ilaç kullanan hastalarda hem tedavi hem de profilaktik amaçla kullanılmaktadır. Bu durum dışında kullanımları ruhsatlandırılmamıştır.⁴²

2.3.8.6. *Helicobacter pylori* Tedavisi

Günümüzde *Helicobacter pylori* ile peptik ülser arasındaki patofizyolojik ilişki tartışmasız bir şekilde bilinmektedir. Peptik ülser tedavisinde günümüzde esas rolü eradikasyon tedavisi oynamaktadır. 2000 yılında yayınlanmış olan Maastricht 2-2000 kişinin ortak raporuna göre 45 yaşın altında olan ve alarm bulgusu olmayan hastalara noninvaziv (kansız) yöntemlerle *Helicobacter pylori* testi yapılarak, sonuca göre tedavi

verilmesi önerilmektedir.⁷⁵ Eradikasyonda kullanılmaya onay verilmiş olan antibiyotikler amoksisilin, tetrasiklin, metronidazol ve klaritromisindir. Sırasıyla bu antibiyotikler ve günümüzde kullanılan eradikasyon rejimleri aşağıda özetlenmiştir.⁴² Günümüzde tekli veya ikili rejimlerle eradikasyon oranları üçlü rejimlere göre oldukça zayıftır.⁴² Bu nedenle klasik üçlü eradikasyon rejimleri uygulanmalıdır. Bu rejimler Tablo 2.2.'de özetlenmiştir.⁷⁶

Tablo 2.2. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun eradikasyonu için önerilen rejimler⁷⁶

Birinci basamak eradikasyon tedavisi-Süre: 7 gün

PPI 2 x 1 doz/gün (veya ranitidin bizmut sitrat 2 x 1/gün)

+ klaritromisin 2 x 500 mg/gün

+ amoksisilin 2 x 1000 mg/gün veya

+ metronidazol 2 x 500 mg/gün (tercih edilirse, klaritromisin 2 x 250 mg/gün dozunda verilmesi yeterlidir)

İkinci basamak eradikasyon tedavisi-Süre: En az 7 gün

BİZMUT-PPI rejimi uygulanmalıdır

Bizmut (2 x 120 mg/gün)

+ metronidazol (2 x 500 mg/gün veya 3 x 500 mg/gün)

+ tetrasiklin (4 x 500 mg/gün)

+ PPI (2 x 1/gün)

2.3.8.7. Diğer Alternatif Tedaviler

Azitromisin, spiromisin, furazolidon (ülkemizde mevcuttur), levofloksasin, rifabutin ve *Lactobacillus* spp. kullanılarak yüksek derecede eradikasyon oranlarının elde edildiğine dair çalışmalar mevcuttur. Özellikle tedaviye yanıt vermeyen enfeksiyon durumlarında etkinliği ispatlanmış olan antibiyotik rifabutindir. Ancak ülkemiz gibi *Mycobacterium* spp.'nin yaygın olduğu bölgelerde mikobakterilerin direnç kazanması riskine karşı dikkatli kullanılmalı ve hastalar özenle seçilmelidir. Çoklu direnç veya

inatçı reenfeksiyon (Aynı etken tarafından oluşturulan ikinci enfeksiyon) yaşayan ve eradikasyon endikasyonu bulunan hastalarda kullanılabilirler.⁴²

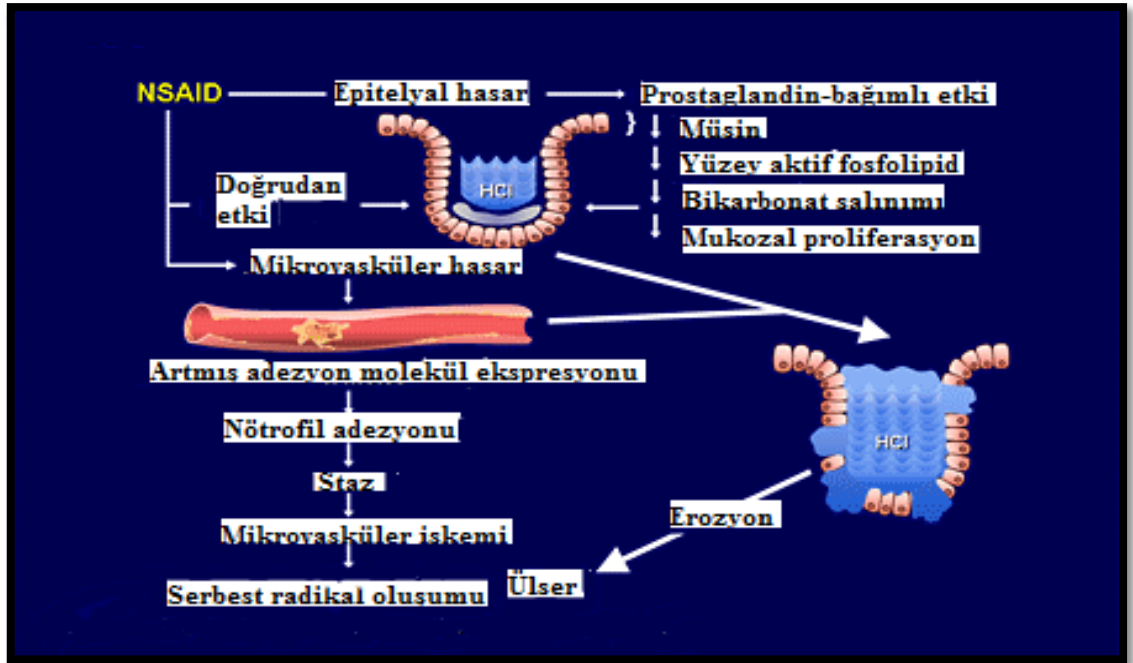
2.3.9. IND gibi NSAID İlaçların Peptik Ülser Oluşum Mekanizması

Narkotik analjezikler ve glukokortikoidler dışında çoğu, romatizmal ve enfeksiyon hastalıklarda ortaya çıkan ağrı, ateş, enflamasyon gibi semptomları gidermede kullanılan ilaçlara NSAID adı verilir. Analjezik etkileri narkotik analjeziklerden, antienflamatuar etkileri ise glukokortikoidlerden daha zayıftır. Ayrıca bu gruptaki ilaçların belirgin antipiretik etkileri vardır. Ağrı kesici etkileri periferik kaynaklıdır. Genel olarak NSAID, COX-1, siklooksijenaz-2 (COX-2) veya siklooksijenaz-3 (COX-3) enziminin siklooksijenaz aktivitesini bloke ederek prostaglandin oluşumunu önler. Antienflamatuar etkilerini de yine prostaglandin sentezini inhibe ederek gösterirler. Bu etkileri glukokortikoidlerden daha zayıftır. Prostaglandin E2 (PGE2), sinovyal sıvıda supresör T lenfositleri baskılar. Antienflamatuar ilaçlar bu lenfositler üzerindeki inhibisyonu ortadan kaldırır. B lenfositler, otoantikorlar inhibe olur ve sonuç olarakta enflamasyon azalır.⁷⁷

IND, oldukça güçlü bir COX-1 ve COX-2 inhibitörüdür. Analjezik, antipiretik ve antienflamatuar etkinliği salisilatlarla benzemesine rağmen her iki COX enzimini aspirinden daha güçlü olarak inhibe eder. Dokularda birikme özelliği olduğu için etki süresi daha uzun olur. Aspirin ile eşit miktarları daha güçlü analjezik ve antipiretik etki gösterir. Analjezik özelliği antienflamatuar özelliğinden farklıdır. Periferik ve santral etkisi vardır. Fosfodiesterazı inhibe ederek siklik adenosin monofosfat (c-AMP)'ın artmasına neden olur ve bu durum onun antienflamatuar etkisine katkıda bulunur.⁷⁷

NSAID hasarı her üç epitel koruma mekanizmasını da etkiler. Siklooksijenazın inhibisyonu ile mukus fonksiyonunda nitelik ve niceliksel olarak azalmaya yol açarlar. IND, aspirin gibi diğer NSAID mideden ve duodenumdan bazal bikarbonat

sekresyonunu belirgin şekilde inhibe ederler. Bu inhibisyonu özellikle PGE2 ile olmaktadır. Prostaglandinler, gastrik epitel için trofiktir; dolayısıyla NSAID, ülser iyileşmesi için çok önemli olan mukozal proliferasyonu inhibe ederler.⁷⁸⁻⁸⁰ Sonuçta erozyonlar, hem NSAID'in direkt mukozal toksisite ile hem de bozulmuş rejeneratif cevap nedeniyle çabuk gelişir. (Şekil 2.3.)⁸¹⁻⁸³ Prostaglandinler asit sekresyonunun fizyolojik regülasyonunu da inhibe ederler. Mide asit sekresyonunun kısır döngüsü ile inhibisyonu da endojen prostaglandine bağımlıdır. Bu nedenle NSAID asit sekresyonunu arttırıp, savunma mekanizmasını inhibe edebilirler.⁸²⁻⁸⁴



Şekil 2.3. NSAID'lerin ülser oluşum mekanizması⁸⁵

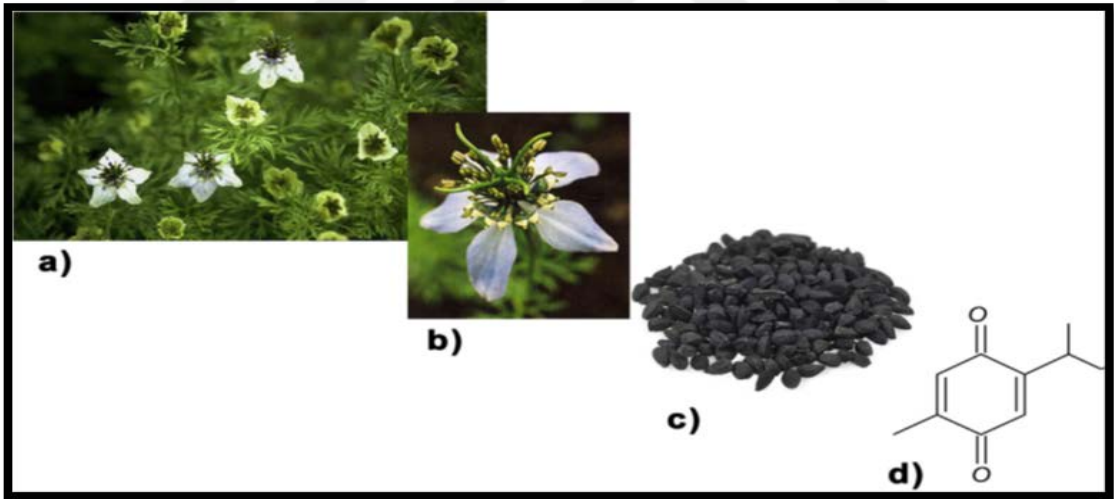
2.4. *Nigella sativa* L. (Çörek Otu)

2.4.1. Özellikleri

Nigella sativa L. (Çörek otu) Ranunculaceae (Düğün Çiçeğigiller) familyasından olup, 20-30 cm yükseklikte, az çok tüylü, bir yıllık otsu bir bitkidir. Çiçek 5 parçalı, mavimtrak renkli olup involukrum taşımaz. Meyvede karpeller uç kısımda birleşmiştir. Tohumları, üç yüzlü, siyah renkli 1.5-2 mm uzunlukta acımsı lezzetli ve özel kokulu taneler olup, ezildiğinde koku kolaylıkla hissedilir (Şekil 2.4.). Çörek otunun anavatanı

Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa'dır. Tohum elde etme amaçlı yurdumuzda Afyon, Burdur, Isparta'da ekilmektedir.⁸⁶ Dünya'da çok yaygın biçimde Güney Avrupa, Suriye, Mısır, İran, Suudi Arabistan, Pakistan ve Hindistan'da kültürü yapılmaktadır.

Türkiye'de 12-14 arasında *Nigella* türü yetişmekte olup bunlardan *Nigella sativa*, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis* tohumları halk hekimliğinde ve baharat olarak kullanılmaktadır.⁸⁷ *Nigella sativa* geçmişten günümüze, Orta Doğu ve Uzak Doğu'da doğal bir ilaç olarak kullanılmıştır. *Nigella sativa* uzun yıllardır halk hekimliğinde hipertansiyon, romatizma, gastrointestinal hastalıklar, yanıklar, cilt hastalıkları, karaciğer ve böbrek hastalıklarında, diyabet, konstipasyon, astım, bronşit, diyare, dispepsi, baş ağrısı, baş dönmesi, sarılık, ateş, grip gibi birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır.^{18, 29, 88-93}

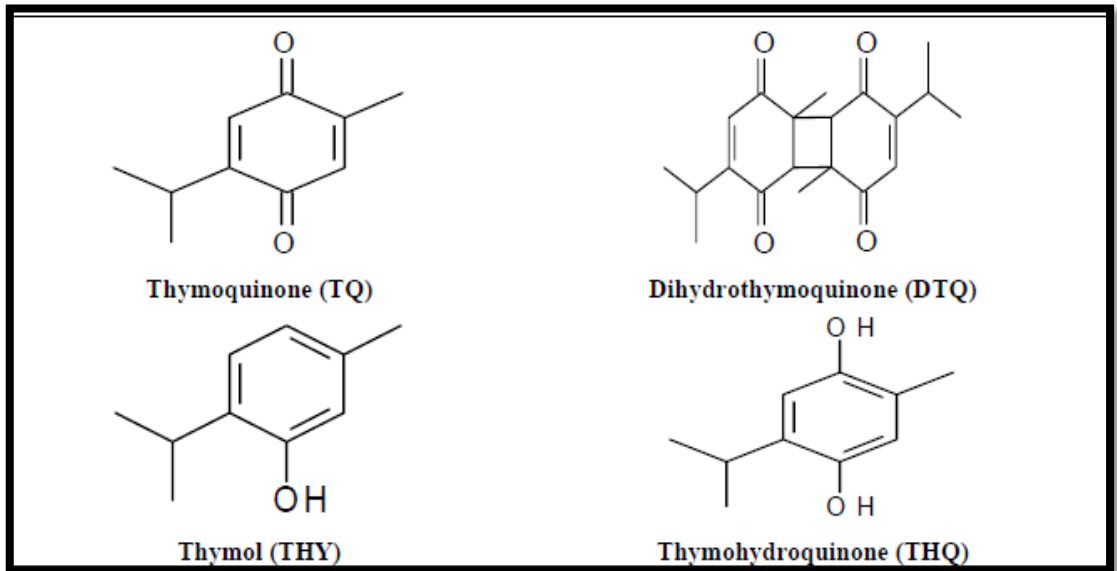


Şekil 2.4. a) *Nigella sativa* bitkisi b) çiçeği c) tohumu d) TQ kimyasal yapısı⁹⁴

2.4.2. Kimyasal Bileşimi

Nigella sativa tohumlarının kimyasal içerikleri bitkisinin yetiştiği coğrafi bölgeye, iklime, çeşidine ve bitkinin hasat mevsimine göre küçük değişiklikler gösterir.^{88, 95} Çörek otu ile ilgili ilk araştırmalar 1880'de Greenish tarafından yapılmış ve tohum içeriğinde % 37 yağ ve % 4.1 kül miktarı bildirilmiştir.⁹⁶ Çörek otunun

bileşiminde; sabit yağ (doymamış yağ asitlerince zengin), uçucu yağ, aminoasitler, proteinler, karbonhidratlar, saponinler, alkaloitler ve terpenoitler bulunmuştur.⁹⁵ Çörekotu tohumlarında yaklaşık % 32 sabit yağ bulunduğu ve yağ bileşiminin % 55-60 linoleik asit, % 21-23 oleik asit, % 11-13 palmitik asit, % 1.2 miristik, % 2.9 stearik, az miktarda araşidik ve % 1.7 eikosadienoik asitten oluştuğu bildirilmiştir.⁹⁷⁻⁹⁹ Çörekotunun ana bileşenlerini p-simen, TQ, ditimokinon (DTQ), dihidrotimokinon (THQ), β -pinen ve timol (THY) oluşturmaktadır.^{91, 100, 101} Çörek otunun ayrıca dört tane alkaloid; iki nigellisin, nigellidin ve nigellimin içerdiği bildirilmiştir.^{88, 102} Çörek otunda bulunan başlıca steroller β -sitosterol, stigmasterol ve kampestrol'dür.⁹⁷ *Nigella sativa* tohumlarında TQ, DTQ, THQ ve THY bileşikleri majör bileşikler olarak kabul edilmiştir.¹⁰² *Nigella sativa* tohum yağları ve ekstraktlarında farmakolojik olarak aktif olan TQ, DTQ, THQ ve THY ölçümlerinde iyi kalite kontrol yöntemleri kullanılmıştır (Şekil 2.5.).¹⁰³ Yapılan fitokimyasal araştırmalarda uçucu yağda bulunan TQ birçok biyolojik etkiden sorumludur.^{88, 92} TQ, *Nigella sativa*'nın farmakolojik olarak bilinen en aktif içeriğidir.¹⁰²



Şekil 2.5. *Nigella sativa* tohumunun aktif bileşenlerinin kimyasal yapısı¹⁰⁴

2.5. Timokinon (TQ)

2.5.1. Kimyasal Yapısı

Timokinon ($C_{10}H_{12}O_2$; 2–izopropil-5-metil-1, 4–benzokinon) 164.201 g/mol molekül ağırlığında birçok biyolojik ve farmakolojik yararı olan koyu sarı renkli kristallere sahip uçucu bir monoterpen kinondur.^{22, 105} TQ, çörek otu (*Nigella sativa*) uçucu yağının temel biyoaktif bileşenlerinden biri olup; çörek otundaki uçucu yağ oranı % 0.4-2.5 oranı arasında bulunur.^{88, 95, 102, 106} Bu uçucu yağın içinde ise timokinon % 18.4-24 bulunur (Şekil 2.5., Tablo 2.3.).^{22, 105} Bu oranlardan TQ’nun ortalama miktarına baktığımızda ise çörek otunda bulunan miktarı % 0.01-0.1 arasında değişebilmektedir.^{91, 100, 101}

TQ, C-2, C-5 metil ve izopropil ve 2, 5-di-substitued sahip benzokinon gruplarından oluşur.¹⁰⁷ TQ’nun, sadece zayıf van der Waals bağlarının kristal bileşik yapısı katı haldedir. Bu kristal yapının varoluşu çeşitli ligant proteinlerinde moleküler modelleme için kullanma ihtimalini ortaya çıkarır.²⁰

Tablo 2.3. TQ’nun genel özellikleri⁹⁴

Sistematik adı	2–izopropil-5-metil-1, 4–benzokinon
Moleküler formül	$C_{10}H_{12}O_2$
Kütle ağırlık	164.201 g/mol
Görünüm	Kristal ve koyu sarı
CAS numarası	490-91-5
PubChem CID numarası	10281

2.5.2. Bulunuşu ve Doğal Kaynakları

TQ, ilk defa 1963 yılında El-Dakhakhny tarafından yapılan bir çalışma ile izole edilmiştir.^{21, 89, 108} El-Fatratry, 1975 yılında çörek otu tohum uçucu yağından THQ'yu izole etmiştir.¹⁰⁹ El-Alfy ve arkadaşları 1975 yapılan çalışmalarda TQ'dan sentez ile THQ isimli kristal yapıda olan maddeyi elde etmiştir.⁹⁵ Çörek otu uçucu yağ çalışmalarında yapılan araştırmalar sonucunda TQ'nun X-ışınları difraksiyon metodu ile kristal kimyasal yapısı aydınlatılmıştır.²⁰ TQ miktarı çörek otu uçucu yağından gaz kromatografisi (GK) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) gibi metotlar kullanılarak tespit edilmiştir.^{99, 101} Çörek otu tohumunda bulunan diğer önemli biyoaktif bileşenlerden DTQ, THQ ve THY, YBSK ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri ile teşhis edilmiştir.^{21, 95, 101}

TQ, çörekotu (*Nigella sativa* L.) ve *Monarda fistulosa* L. (Yabani bergamot veya arı melisa) bitkilerinde temel bileşik olarak bulunur. Ayrıca *Callitris quadrivalvis* Vent. (syn. *Thuja articulata* Vahl., Sandarak, Sakız ardıç), *Juniperus cedrus* Webb ve Berth. (Kanarya adaları ardıcı), *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters (Sandarak, Sakız ardıç), ve *Nepeta leucophylla* Benth (Nane ailesi türü) bitkilerinin bileşiminde de bulunur.^{20, 110, 111} TQ'nun bu bitkilerde bulunma oranı % 0.09-45 arasında değişmektedir.¹¹²

TQ, terapötik özelliklere sahip *Eupatorium ayapana* (Su keneviri),¹¹³ birkaç *Origanum* L. (Mercanköşk) türün yaprakları,¹¹⁴ *Calocedrus decurrens* (Su sediri) ve öz odun uçucu yağları,¹¹⁵ farklı *Satureja* (Kekikotu, Zater, Geyik Otu) türleri,¹¹⁶ *Thymus vulgaris* L. (Kekik)¹¹⁷ ve *Nepeta distans* Raul (Nane türü)¹¹⁸ gibi bitkilerden izole edilmiştir.

2.5.3. Metabolizması ve Görevleri

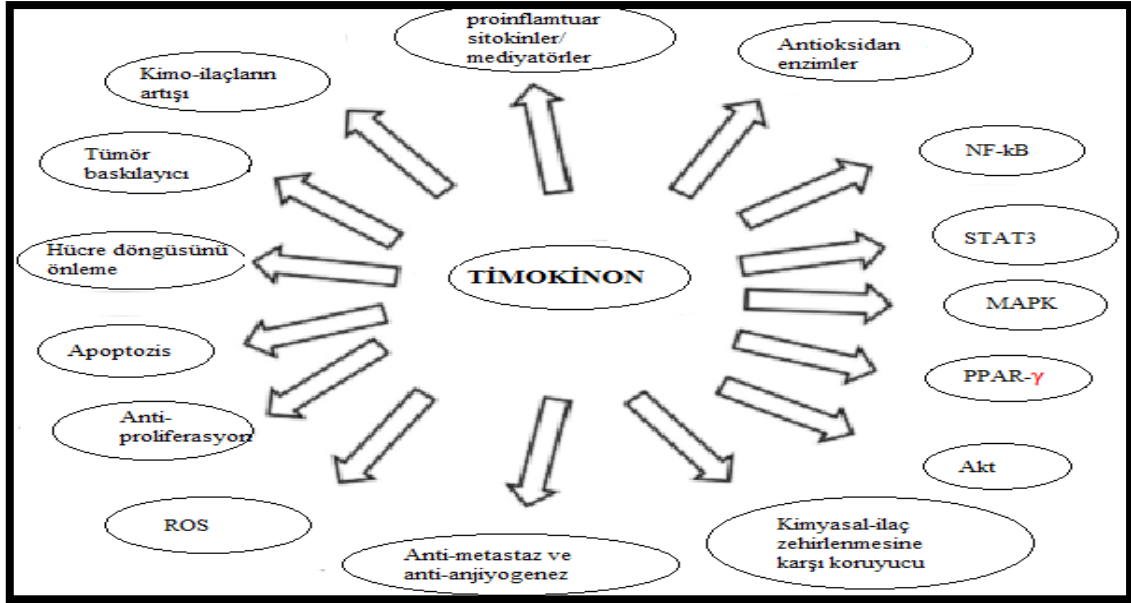
Monoterpenler küçük ve basit moleküller olmalarına rağmen çok eski zamanlardan bu yana birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Bu kullanımlar arasında; antiseptik (THY, sineol) antibakteriyal, antifungal, antiviral, rubefiyon (terementi yağı), kaşıntıya karşı (mentol), acı tonik, iştah açıcı, gastrointestinal rahatsızlıklarda, ekspektoran, sedatif, anestezi (öjenol), analjezik, antioksidan, antitüsif, antiakne, antienflamatuar vb. etkileri bilinmektedir. Monoterpenlerin hücre düzeyinde enerji metabolizmalarına etki ettikleri gösterilmiş olup, son zamanlarda in vitro ve in vivo deneylerle de desteklenen sonuçlara göre, bazı kanser türlerinin (meme, karaciğer, akciğer, pankreas, prostat vb.) önlenmesinde ve tedavisinde etkin oldukları ispatlanmıştır.¹¹⁹

Çörek otunun farklı kısımlarının ekstraktları ve izole edilen fitokimyasal bileşenlerinin (özellikle TQ, THQ) antiülser,²⁹ antioksidan,^{107, 120, 121} antihepatotoksik,^{122, 123} antienflamatuar, analjezik,¹²⁴⁻¹²⁸ antitümöral, antikanserojenik,^{18,} 129-133 antimikrobiyal,^{25, 134-136} antidiyabetik,^{105, 137, 138} antialerjik,^{88, 104, 123, 139} antihiperlipidemik, antihiperkolesterolemik¹⁴⁰⁻¹⁴³ gibi farklı birçok biyolojik, toksikolojik ve farmakolojik özellikleri kaydedilmiştir. Bu özelliklerin yanı sıra sindirim,^{22, 27, 32, 144} sinir,^{102, 145-147} solunum,¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ boşaltım,¹⁵¹⁻¹⁵³ immün^{18, 154, 155} ve dolaşım sistemine,^{156, 157} karaciğere,¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ kemiklere¹⁶¹⁻¹⁶³ olumlu birçok etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

TQ'nun ilk izole edildiği zamandan beri gerek in vivo gerekse in vitro modellerde antioksidan, antienflamatuar ve antikanser aktiviteleri belirlenmeye çalışılmıştır. TQ'nun son zamanlarda in vitro ve in vivo deneylerle desteklenen sonuçlara göre, bazı kanser türlerinin (meme, karaciğer, akciğer, pankreas, prostat vb.) önlenmesinde ve tedavisinde de etkin olduğu ispatlanmıştır (Şekil 2.6.).¹¹⁹

Antioksidan/antiinflamatuvar etkileri ensefalomyelitis, diyabet, astım ve karsinogenesis de dahil olmak üzere araştırılmıştır (Şekil 2.6.).¹⁶⁴

Bu olumlu etkilerinin yanı sıra yapılan bazı araştırmalarda ise TQ'nun akut toksisitesinin çok düşük olduğu saptanmıştır. Sürekli verilmesi sonucu görülen tek olumsuz etki hipoglisemidir.¹⁰²



Şekil 2.6. TQ'nun enflamatuar hastalıklarda ve kanserde hedeflediği yerler¹⁶⁴

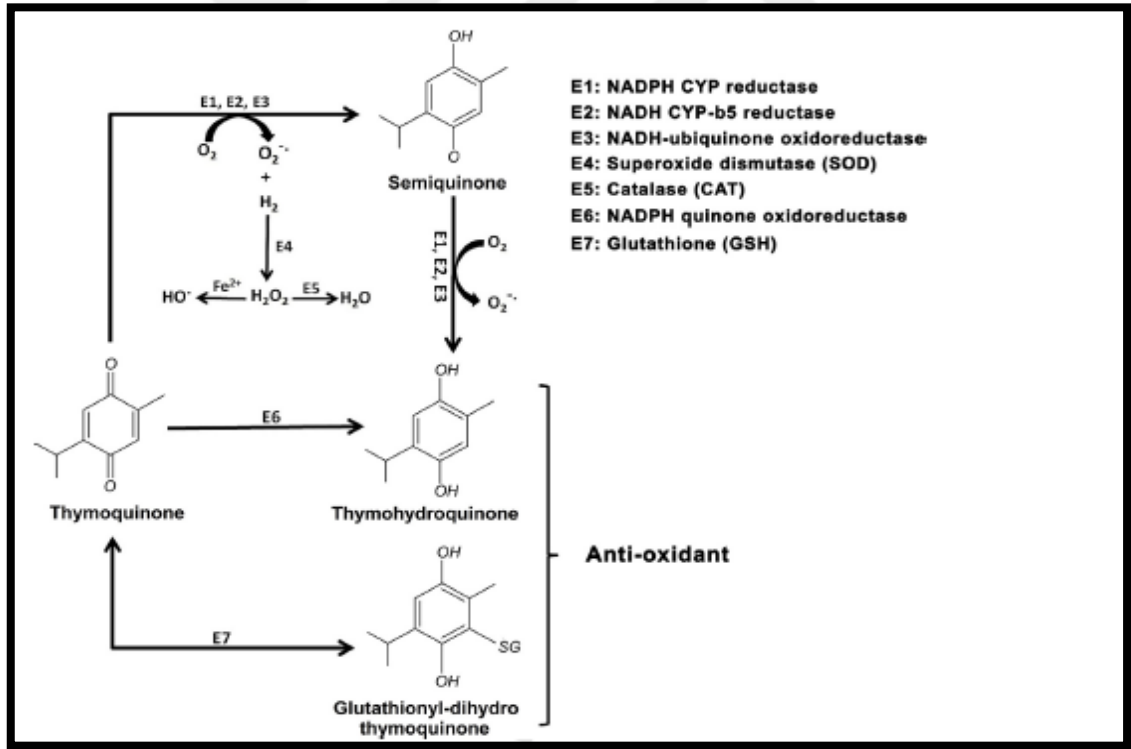
2.5.4. Farmakolojik ve Biyolojik Etkileri

2.5.4.1. Antioksidan Etkisi

Serbest radikaller ortaklanmamış elektronları nedeniyle oldukça kararsız bir yapı gösterirler. Serbest radikallerin biyolojik yapılarda meydana getirdiği oksitleyici hasarlar, özellikle kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Serbest radikaller elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranı içinden geçerek vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girer ve yıkım oluştururlar.¹⁸ Çeşitli mekanizmalar ile antioksidan özellik gösteren TQ'nun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikallerini içeren birçok reaktif oksijen türlerinin süpürücüsü olduğu⁸⁹ ve 5-hidroksieikozatetraenoik (5-HETE) asit ile 5-lipoksijenaz sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir.¹²⁴

TQ, GSH, NADH ve NADPH ile reaksiyona girer. Fizyolojik şartlar altında gerçekleşen bu tür reaksiyonlar iki ürün oluşumu göstermektedir. Reaksiyonda GSH ile hızlı bir reaksiyonla dihidrotimokinon glutatyon; NADP ve NADPH ile yavaş bir reaksiyonla dihidrotimokinon (DHTQ) oluşur (Şekil 2.7.).

2,2/azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) (ABTS) ve 2,2-difenil-1-pikril hidrozil (DPPH) gibi organik radikallere karşı indirgenmiş antioksidan aktivitesinin ölçülmesi sonucunda dihidrotimokinon glutatyonun güçlü bir ROS süpürücü etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Aksine TQ'nun ise daha düşük etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu verilere göre; GSH, NADH ve NADPH'ın hücrel antioksidan savunma sisteminde TQ'nun olası bir "hücrel anahtarı" temsil edebileceği gösterilmiştir.¹⁰⁷



Şekil 2.7. TQ redoks mekanizmaları⁹⁴

2.5.4.2. Antitümoral ve Antikanserojenik Etkisi

Kanser, hücrelerinin sürekli ve kontrolsüz olarak çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Hücre döngüsünü kontrol eden genlerde meydana gelen

değişikliklerden kaynaklanır. Pek çok in vivo ve in vitro araştırmalar ile *Nigella sativa* tohumlarının ve aktif bileşenlerinin antitümör etkileri gösterilmiştir. Farklı kanser modellerinde yapılan araştırmalar, çörek otu tohumlarının uçucu yağının bazılarına karşı sitotoksik etkisi olduğunu göstermektedir.^{18, 88} Çörek otunun en önemli biyoaktif bileşeni olan TQ'nun potansiyel bir kemoterapötik ve kemopreventif bir bileşen olduğu, TQ'nun antiproliferatif etkisiyle hücresel döngüde büyük önemi olan apoptozu uyardığı bildirilmiştir.¹⁶⁵ TQ'nun göğüs ve yumurtalık adenokarsinomu,¹⁶⁶ kolorektal kanser,¹²⁹ neoplastik keratinositler,¹⁶⁷ insan osteosarkomu,¹³³ fibrosarkoma, akciğer kansinomu, prostat kanseri¹³² gibi pek çok kanser çeşidinde hücrelerin proliferasyonu üzerine inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. TQ ve DTQ, sitotoksik etkisini, hücre G1 fazında iken apoptozisi tetikleyerek durdurmaktadır.

Farelerde benzopirenin indüklediği ön mide karsinomuna ve kemik iliği hücrelerindeki kromozomal bozukluklarda TQ'nun hasarlı hücreleri ve kromozom bozukluklarının frekansını belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir.¹⁶⁸ TQ'nun antiproliferatif ve proapoptotik etkilerinin insan osteosarkoma hücrelerinde araştırıldığı çalışmada TQ, normal osteoblastlara karşı oldukça az toksisite göstermesi nedeniyle umut verici bir bileşik olarak değerlendirilmiştir.¹³³ Ayrıca TQ'nun hepatoselüler karsinoma hücrelerini konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde yavaşlattığı ve hepatosellüler karsinom tedavisi için umut verici bir antikanser bileşiği olduğu gösterilmiştir.^{169, 170} TQ'nun insan umbilikal veni endotel hücre göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve tüp şekillenmesini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar TQ'nun tümör anjiyogenezisini ve tümör büyümesini inhibe ettiğini ve kanser tedavisi için potansiyel bir ilaç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. TQ'nun nükleer faktör kappa B (NF-κB)'ye bağımlı antiapoptotik genleri azaltarak kemoterapatik bileşikler tarafından NF-κB indüklenen pankreas hücrelerinin ölümünde etkili olduğu ve

antitümoral ilaçlarla TQ'nun birlikte kullanılmasının ise büyüme inhibisyonunu artırdığı gösterilmektedir.¹⁷¹

2.5.4.3. Analjezik ve Antienflamatuar Etkisi

Enflamasyon, COX ve lipooksijenaz (LO) olmak üzere başlıca iki enzim tarafından düzenlenmektedir. Bunlardan COX yolunda prostaglandinler (PG) sentezlenirken, LO yolunda ise lökotrienler (LT) sentezlenmektedir. Bunlar alerji ve enflamasyonda görev almaktadır. Çeşitli çalışmalarda TQ'nun oksidatif stres ve enflamasyonu inhibe ettiği gözlenmiştir. Enflamasyonlu ve otoimmün hastalıkların tedavisinde TQ makrofajlarda Nitrik oksit (NO) üretimini azaltarak yararlı olabileceği saptanmıştır.¹⁵⁴ Bu çalışmalardan bazılarında TQ'nun kalsiyum iyonofor ile uyarılan rat peritoneal lökositlerindeki araşidonik asit metabolizmasının hem COX hem de LO yollarını inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu yüzden COX ve LO' nun inhibisyonu, TQ'nun antienflamatuar etkilerini düzenleyen anahtar bir faktördür.¹²⁶ Farelerde allerjik havayolu enflamasyonu modelinde TQ'nun, akciğer eozinofili ve kadeh hücrelerinde hiperplaziye, prostaglandin D2 (PGD2) ve COX-2'nin inhibisyonuna neden olduğu, böylece antienflamatuar etki gösterdiği belirtilmektedir.¹²⁷

2.5.4.4. Diğer Etkileri

Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, TQ'nun hipoglisemik¹⁷²⁻¹⁷⁵ ve antidiyabetik¹³⁷ etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. TQ'nun insülin sekresyonu üzerindeki moleküler mekanizması henüz aydınlatılmış olmamakla birlikte, insülin sekresyonunu artırarak glikoz kullanımında artışa ve glikoneogenezi engelleyerek kan glikozunun düşmesine neden olduğu belirtilmektedir.^{105, 137} TQ'nun total HbA_{1c}'yi önemli derecede düşürdüğü bildirimleri bulunmaktadır.^{105, 137}

Çörek otu esansiyel yağının iki ana bileşeni olan TQ ve THQ'un, *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır. *Staphylococcus aureus*'a karşı bakteriyostatik ve bakterisit etkili olabilmesi için THQ konsantrasyonlarının sırasıyla 400 µg/ml ve 800 µg/ml olduğu ve bu miktarların TQ'nunkin den 100 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir.¹³⁶ Tropikal bir parazit hastalık olan Schistosomiazis ile enfekte edilen fare hücrelerinde hem çörek otu ekstraktının hem de TQ'nun Schistosomiazis'in sebep olduğu kromozomal bozuklara karşı potansiyel koruyucu bileşikler olabileceği bildirilmektedir.¹⁷⁶ Bu hastalıktan korunma hem hücresel hem de humoral immünite ile sağlanır.¹⁸ Çörek otu tohumu ve TQ'nun eter ekstresinin antifungal aktivitesinin araştırılmasından elde edilen bulgular deri mantar enfeksiyonlarının tedavisinde halk ilacı olarak çörek otunun kullanımını desteklemiş ve antidermatofit ilaçlar için bir kaynak oluşturmuştur.²⁵

Günümüzde besinlerde giderek artan yağ içeriğinin, vücut yağ miktarındaki artışa ve obeziteye bağlı olarak hiperleptinemik, hipertrigliseridemik ve hiperkolesterolemik etkilere sebep olduğu bilinmektedir.^{177, 178} TQ'nun hipokolesterolemik etkisi, antioksidan kapasitesinden ve gen metabolizmasında etkin rol almasından kaynaklanabilir ki, bu tür antioksidan bileşikler kısmen LDL'yi oksidasyona karşı koruyarak etki göstermektedir.¹⁴⁰⁻¹⁴²

Nigella sativa yağının ve TQ'nun T hücrelerine ve immün yanıtı aracılık eden öldürücü hücrelerin artışını sağladığı ve önemli immünomodülatör etki gösterdiği ifade edilmektedir.¹⁸ Enflamasyonlu ve otoimmün hastalıklarının iyileştirilmesinde TQ'nun makrofajlarda nitrik oksit (NO) üretimini azaltarak yararlı olabileceğini ortaya koymuştur.¹⁵⁴

TQ'nun gastrointestinal sistem üzerinde koruyucu etkisi bulunmaktadır. Çörek otu yağının mideyi koruyucu etkisi sıçanlarda etanol ile indüklenmiş ülserde incelenmiştir. Peptik ülser oluşumunda histamin içeriğinin azalması ve müsin içeriğinin artması çörek otu yağının koruyucu özelliği olduğunu göstermektedir.²⁹

Karbon tetraklorürün (CCl₄) neden olduğu hepatotoksositeye karşı TQ'nun koruyucu etki gösterdiğini ve bu etkisinin muhtemelen antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı belirtilmektedir. CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulan farelerde TQ'nun (8 mg/kg vücut ağırlığı/gün, oral) karaciğer toksisitesini azalttığı görülmüştür.¹⁷⁹ Ayrıca TQ'nun antioksidan ve antienflamatuar özelliğinden dolayı alkolün indüklediği karaciğer hastalıklarının tedavisinde etkin bir bileşik olarak kullanılabileceği belirtilmektedir.¹⁶⁰

2.5.4.5. Toksik Özelliği

TQ'nun hücre koruyucu özellikleri farelerde akut ve subkronik oral uygulamalar ile araştırılmış olup akut verilmesinden sonra akut toksiside lethal doz LD₅₀ değeri 2.4 g/kg olarak tespit edilmiştir. TQ (2 ve 3 g/kg) verildikten 24 saat sonra karaciğer, böbrek ve kalp dokularında GSH düzeyi azalmış, plazma üre ve kreatin konsantrasyonları, alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), ve kreatin fosfokinaz (CPK) enzim aktiviteleri önemli ölçüde arttırmıştır. Aynı çalışmada TQ subkronik olarak (% 0.01, % 0.02 ve % 0.03, içme suyu, 3 ay) verildiğinde ise toksisite belirtisi veya mortalite görülmemiştir. TQ'nun günlük ortalama alımı yaklaşık olarak 30, 60 ve 90 mg/kg/gün olmuştur. Vücuttaki organ ağırlıklarında yiyecek ve su alınımında veya idrar ve gaita çıkışında belirgin bir toksikolojik değişiklik görülmemiştir. Ayrıca doku GSH, plazma üre, kreatin ve TG, ALT, LDH ve CPK enzim aktivitelerini de etkilememiştir. Histolojik incelemede herhangi bir doku hasarı belirlenmemiştir. Ancak TQ açlık plazma glikoz düzeyinde belirgin bir azalma meydana

getirmiştir. Bulgular farelerde TQ'nun akut oral toksisitesinin düşük seviyelerde olduğunu göstermiştir. Subkronik olarak verildiğinde ise hücre içi koruyucu aktiviteye sahip olacağı belirtilmiştir.¹⁷³

TQ'nun çeşitli dozlarda (4, 8, 12.5, 25 ve 50 mg/kg, i.p) olarak verilmesi CCl₄'ün indüklediği biyokimyasal parametreleri değiştirmemiştir. Ancak, yüksek dozlarda verildiğinde öldürücü etki göstermiş ve LD₅₀ değeri 90.3 mg/kg olarak belirlenmiştir.¹²⁶ TQ 8 mg/kg i.p verildiğinde toksik olarak bulunmuştur.¹⁸⁰

Bu belirlenen LD₅₀ değerlerinin, TQ'nun antienflamatuar, antioksidan ve antikanser etkileri için kullanılan i.p dozajlarından 10-15 kez, oral dozajlarından ise 100-150 kez daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, TQ'nun deney hayvanlarına özellikle oral verildiğinde oldukça güvenli bir bileşik olduğu belirtilmektedir.¹⁸¹

2.6. Oksidan ve Antioksidan Sistem

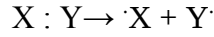
Yaşamın sürekliliğinin sağlanması, hareket, iş yapabilme ve büyüme gibi bütün fizyolojik olaylar, enerji tarafından sağlanır. Tüm diğer aerobik canlılar gibi, yaşamak için oksijene ihtiyaç duyan insanlar da, enerji gereksinimini, oksidatif metabolizma yani aerobik metabolizma tarafından kontrol edilen reaksiyonlar sonucu elde eder. Aerobik metabolizma, karbon ve hidrojen içeren metabolitlerin, karbondioksit ve suya tamamen yükseltgenmesini kapsar.¹⁸² Oksijen, oksidatif metabolizma sırasında enerji eldesi için suya indirgenirken çok az bir kısmı da “serbest radikaller” adı verilen, elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelere dönüşür. Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pek çok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler.¹⁸³

Serbest radikaller, organizmada, diğer metabolik yolların işleyişi sırasında da oluşabilmekte veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de meydana gelebilmektedir.¹⁸⁴ Birçok hastalığın oluşması ve patolojik durumun ortaya çıkmasında serbest radikallerin rolü vardır.¹⁸⁵ Bunun yanı sıra, bu molekülleri yakalayıp etkisiz hale getiren, “antioksidan” adı verilen maddeler bulunur. Antioksidanlar, bu moleküllerin doku savaşlarında etkisiz hale gelmesini sağlayabilirler. Normal koşullarda vücut, doğal antioksidan sistemleriyle serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik sonucu, hücrelerin lipid tabakası peroksidasyona uğrayarak, oksidatif stres diye adlandırılan hücre hasarları meydana gelir.¹⁸⁶ Antioksidan görevleri olan çeşitli vitaminler ve minareller vücuda alındığında beslenmenin yanı sıra, antioksidan savunma sistemini de desteklemektedirler.¹⁸⁷

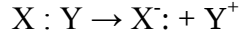
2.7. Serbest Radikaller

Canlı hücrelerin yapıtaşlarını oluşturan moleküllerin atomları, kovalent bağlarla birbirine bağlıdır. Bu tip bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli bir enerji kaynağı ile (radian ısı veya çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir.¹⁸⁸ Bu tip bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar “serbest radikal” olarak adlandırılırlar.¹⁸⁹ Serbest radikal, eşleşmemiş elektronun atomik ya da moleküler orbitali kendi başına işgal etmesidir. Sembolün üzerine bir nokta konur, bu serbest radikal türlerine özgü bir işarettir.¹⁹⁰ Moleküller farklı mekanizmalar ile bölünebilirler.¹⁸⁸

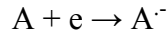
1. Kovalent bağlı bir molekülün her bir grubunda ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik olarak bölünmesi ile radikal oluşur.



2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atom veya atom gruplarının birinde kalırlar. Böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile radikal oluşur.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilir. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar.^{188, 191} Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidan denir. Oksidanlar, reaktif oksijen türleri (ROT ya da ROS), reaktif nitrojen türleri (RNT ya da RNS), sülfür merkezli radikaller vb. moleküllerden oluşurlar.¹⁹² Reaktif oksijen türleri, oksijen merkezli radikaller ve oksijen merkezli non radikaller olarak sınıflandırılabilir. Oksijen merkezli radikaller; süperoksit ($O_2 \cdot^-$), hidroksil radikali ($OH \cdot$), alkoksil radikali ($RO \cdot$) ve peroksil radikalidir ($ROO \cdot$). Oksijen merkezli non radikaller ise hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijendir (1O_2).^{193, 194} Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit ($NO \cdot$), nitrit ($NO_2 \cdot^-$) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi nitrit türevleridir.¹⁹⁵

Radikaller kavramından bahsedildiğinde genel olarak oksijen merkezli radikaller akla gelir. Bu kavramın başlıca gerekçeleri şunlardır:

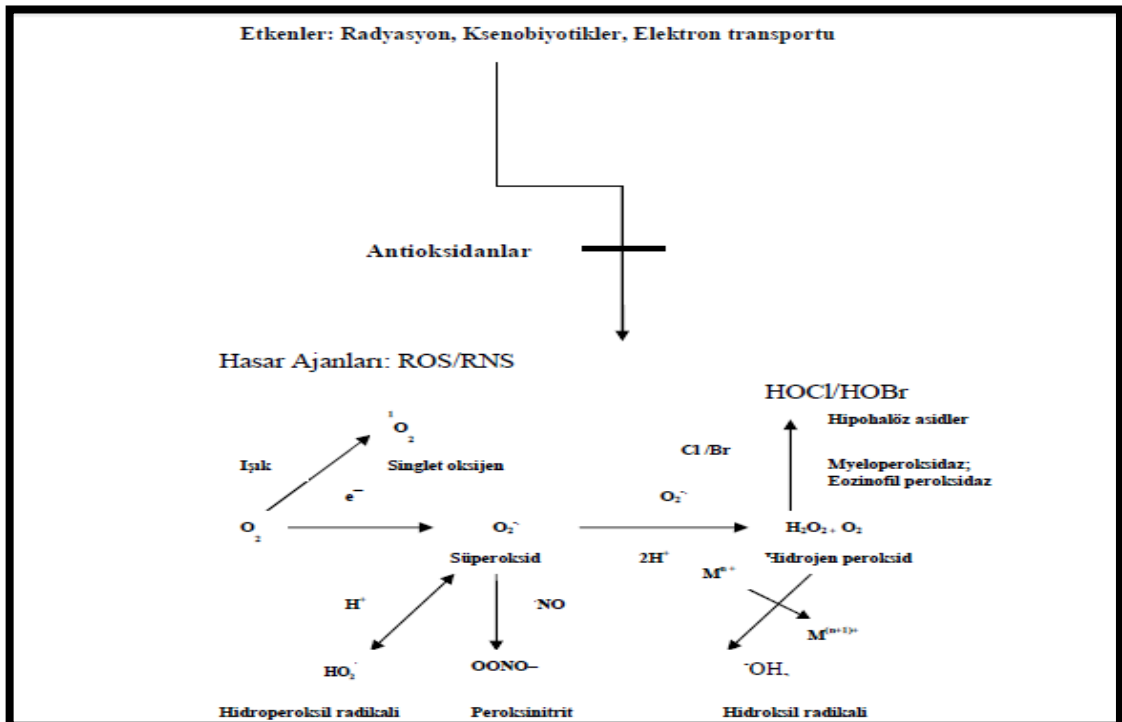
1. Diğer atom merkezli radikaller hızla oksijenle tepkimeye girerler paylaşılmamış elektron oksijen atomu üzerine kayar, radikal özelliği oksijen atomu üzerinde devam eder.

2. Moleküler oksijen hücrelerde devamlı olarak kullanılan bir moleküldür. Oksijeni kullanabilmek için elektron transferi ile spin kısıtlamasının asılması gerekir.

Bu yüzden oksijen metabolizması sırasında reaktif radikal türlerinin oluşması kaçınılmazdır.

3. Elektrofilik bir atom olan oksijen, dış orbitaline elektron alarak biyomolekülleri oksitler, bu sırada kendisinin radikal türleri oluşur. Metal iyonları oksijenin bu tür oksitleyici etkilerini hızlandırırlar.¹⁹⁶

Organizmada fagositer sistemin elemanları olan nötrofil, monosit, makrofaj ve eozinofillerin yaptıkları fagositoz sonucunda, bir takım kemoterapötiklerin ve antibiyotiklerin kullanımı, iyonize ve non-iyonize radyasyona maruz kalma, sıcak ve soğuğa maruziyet, travma, sigara kullanımı, fizyolojik yaşlanma, hava kirliliği, solventler, anestezi uygulamaları ve aromatik hidrokarbon içeren yiyeceklerin tüketilmesi sonucu serbest radikaller oluşur ayrıca hücre içinde gerçekleşen küçük moleküllerin (katekolamin, flavinler) oksidasyonunda ksantiz oksidaz gibi çözünebilir enzim ve proteinlerle, peroksizomlarla, mitokondrial elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemi ile de serbest radikaller oluşur (Şekil 2.8.).¹⁹⁷

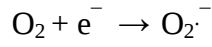


Şekil 2.8. Serbest radikal aracılı oksidatif hasar¹⁹⁷

2.7.1. Serbest Radikal Çeşitleri

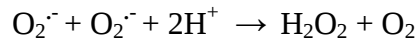
2.7.1.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Soluduğumuz oksijen iki radikalli, iki tek elektron içeren ve çok stabil olan bir moleküldür. Bir dış enerji kaynağı sayesinde bir elektron kazanmakla serbest elektronlarından birisini negatif yük elde ederek çift konuma getirebilir. Bu molekül süperoksit anyonudur ($O_2^{\cdot-}$).¹⁹⁸

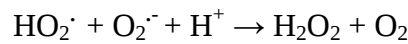


Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşunu artırdığı bilinmektedir.¹⁹⁹ Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Çünkü SOD enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda H_2O_2 ve hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar. Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır.²⁰⁰

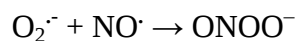
İki süperoksit radikalının bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



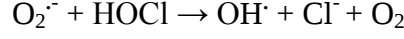
Süperoksit radikali ve hidroperoksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



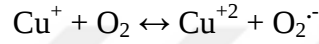
Süperoksitin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ile birleşmesi sonucu da reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir.



Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hipoklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan OH[•] radikalinin oluştuğu görülmüştür.^{188, 201}

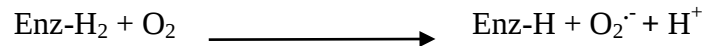


O₂^{•-} ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar redoks reaksiyonları olduğu için tersine de dönebilir.²⁰²



Nötrofillerde süperoksit radikali de plazma membranının dış tarafında yer alan NADPH oksidazla meydana gelir. Bir uyararla fagositik hücre aktive olunca NADPH oksidaz da aktive olur NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül O₂^{•-} oluşur.^{203, 204}

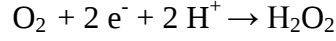
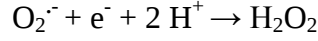
NADPH oksidaz



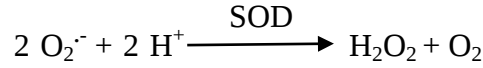
Süperoksit, solunum zincirinde yukarıdaki reaksiyonda görüldüğü gibi moleküler oksijenle olan ünivalan oksidasyonlarda, sitokrom oksidaz ve enzim benzeri diğer proteinlerin, moleküler oksijenle indirgenmesi sonucunda da oluşmaktadır.²⁰⁵

2.7.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

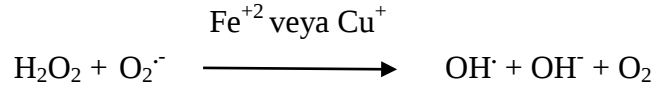
Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş bir elektron taşımaz ve bu yüzden de radikal bir tür değildir.²⁰⁶ Oksijen molekülünün çevresindeki bir molekülden iki elektron alarak veya süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması sonucu H₂O₂ meydana gelir.²⁰⁷



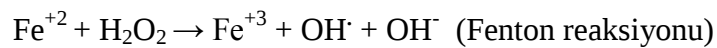
Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksid molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.²⁰²



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



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir.¹⁹³ Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler, katalizör olmayınca ortamdaki H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\cdot-}$ antioksidanlar tarafından kolayca kaldırılır. Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}), süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak “Fenton Reaksiyonu” ile hidrojen peroksitten $\text{OH}^{\cdot}$ ve OH^- üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir.²⁰⁷



2.7.1.3. Hidroksil radikali (OH[•])

Hidroksil radikali sulu çözeltilerde 1 ns'den daha az yarılanma ömrüyle oldukça reaktiftir. Bu yüzden canlı organizmada üretildiğinde oluşum yerinin yakınında tepki gösterir.²⁰⁶ Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretebilen hidroksil radikali canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir.

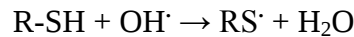
1. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.
2. Hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir.¹⁹⁶

Hidrojen peroksit, demirin ferro iyonu (Fe⁺²) varlığında “fenton reaksiyonu” na girerek bir hidroksil iyonu ve stabil organik yapıların çoğuna hücum edebilecek, en güçlü oksitleyici madde olan bir hidroksil radikale ayrışır.



Bu hidroksil radikalleri, çok hızlı olarak komşu moleküllerle reaksiyona girerler, yarı ömürleri çok kısadır. Bunun sonucunda stabil, yarı ömürleri daha uzun ve daha az reaktif radikaller oluşur.²⁰⁸

Hidroksil radikali birçok biyolojik molekülden hidrojen atomu koparır. Bunlardan birisi de tiollerdir.



Meydana gelen sülfür radikali oksijenle birleşerek tiyol peroksil (RSO₂) ve sülfenil (RSO[•]) gibi oksisülfür radikallerini meydana getirir. Bu radikaller de biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahiptir.

Hidroksil radikalleri; lipit, polipeptidler, proteinler, DNA ve özellikle Tiamin ve Guanozin ile reaksiyona girer.^{193, 195} OH[•]'in sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH[•], başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini arttırıp hücre ölümüne

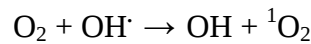
neden olabilir.^{195, 196} Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle tepkimeye girdiği bilinmektedir: Hem pürin ve pirimidin bazlarına hem de deoksiriboz temeline zarar vermektedir.²⁰⁶

2.7.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli singlet

oksijen (¹O₂) olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROS' lar arasında yer alan ¹O₂ serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir.²⁰⁹

Özellikle myelositler de hipoklorit (ClO⁻) ya da süperoksit ayrışmasından dolayı meydana gelebilen ve serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olan singlet oksijen, tüm canlılar ve mikroorganizmalar için öldürücüdür. Bu etkisinin rastladığı tüm kimyasal maddelere çift bağlarla bağlanması sonucu olduğu kabul edilmekte olan²¹⁰ singlet oksijenin süperoksit anyonu ile hidroksil radikali arasındaki reaksiyon sonucu nasıl meydana geldiği aşağıda gösterilmiştir.²¹¹



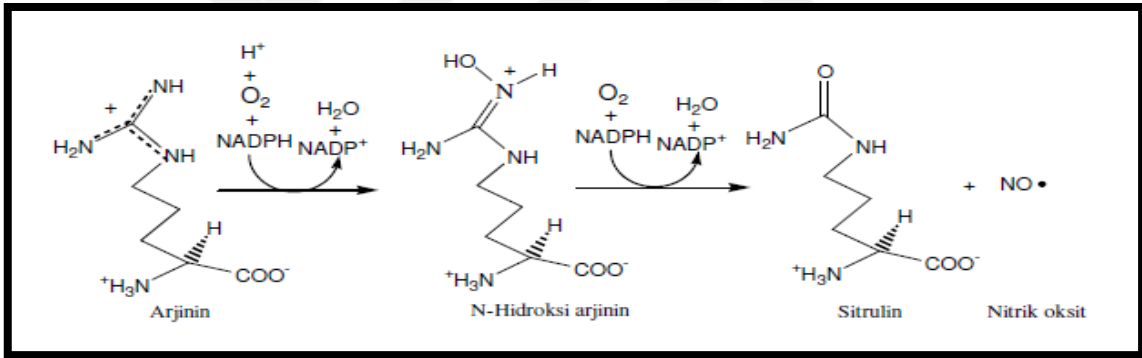
Diğer reaktif oksijen türlerine kıyasla singlet oksijen memeli dokuları için daha hafif ve daha az toksiktir.²¹² Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar.²¹³ İnsan organizmasında singlet oksijen, mikroplar, virüsler ve kanser hücreleri için hem bir sinyal hem de bir silahtır.²¹²

2.7.1.5. Nitrik oksit (NO[•])

Çeşitli fizyolojik yanıtlara aracılık eden biyolojik sinyal ileticisi nitrik oksidin (NO[•]) vazodilatasyon, immün sisteminde tümör ve parazit öldürücü etkileri vardır.²¹⁴

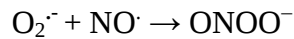
Azot oksit bileşiklerinden nitro oksit (N₂O) bir yüzyılı aşkın süredir anestezi madde olarak kullanılmakta olan renksiz, hoş kokulu bir gazken, nitrik oksit (NO[•]) ve azot dioksit (NO₂[•]) tek sayılarda elektron içeren toksik etkisi olan serbest radikallerdendir.

Bu lipofilik serbest radikal, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir (Şekil 2.9.). Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin “hem” demirine bağlanır ve siklik guanozin mono fosfat (cGMP) sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO[•], aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir.¹⁸⁵ NO[•], oluşmuş olan ROS’ları ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonla HO[•] radikali oluşumuna yol açmaktadır.¹⁸⁶



Şekil 2.9. L-Arjininden nitrik oksitin üretilmesi

Nitrik oksit ile süperoksitin reaksiyon ürünü olan peroksinitrit çok kısa yarı ömürlü, oksidatif doku hasarına neden olan son derece reaktif bir moleküldür. Peroksinitrit oluşumu prooksidan maddelerin oluşumuna neden olmanın yanında, fizyolojik etkilerini ve güçlü antioksidan etkilerin değiştirerek NO’nun biyoyararlanımını da azaltır.²¹⁵ Peroksinitrit (ONOO⁻), DNA bölünmesi ve lipid oksidasyonuna neden olabilecek oksitleyici serbest bir radikaldir.²⁰⁶



Nitrik oksit (NO $\cdot$), sinir iletimi, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması, kas gevşemesi ve bağışıklık düzenlenmesi gibi çok çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak hareket eden bir radikaldir.²⁰⁶ Nitrik oksit kendi başına çok reaktif bir serbest radikal değildir ancak iskemi reperfüzyonu, romatoid artrit ve irritabl bağırsak sendromu gibi nörodejeneratif ve kronik enflamatuvar hastalıklarda NO $\cdot$ 'nun artışı gözükür.¹⁹³ NO $\cdot$ 'nun sulu ortamlarda yarılanma ömrü sadece birkaç saniyedir, NO $\cdot$ hızlıca nitrat ve nitrit anyonları dönüşür.^{206, 216}

Bununla birlikte, hem sulu hem de yağlı ortamda çözülebilir olduğu için sitoplazma ve plazma zarlarından kolaylıkla geçebilir.²⁰⁶ NO $\cdot$ bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşur.¹⁹⁶

2.7.1.6. Diğer Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R $\cdot$), peroksil (peroksi) radikalleri (ROO $\cdot$), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO $\cdot$) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelebilmektedir. Bunlardan özellikle doymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali, yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO $\cdot$) veya tiyol peroksil (RSO $_2\cdot$) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.^{217, 218}

2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları

2.7.2.1. Eksojen Radikal Kaynakları

Sıcak şoku, güneş ışını, zararlı ısınlr (x-ray, UV), sigara, ortam havası, travma, radyoaktivite, intoksikasyon, ksenobiyotik maddelerin etkisi, alışkanlık yapan maddeler, kemoterapötikler, çevresel ajanlar ve stres başlıca ekzojen kaynaklarıdır.²¹³

2.7.2.2. Endojen Radikal Kaynakları

1. Otooksidasyon: Serbest radikal ara metabolitleri ve aktive oksijen türleri; askorbik asit, tiyoller (glutasyon, sistein gibi), adrenalin ve flavin koenzimleri gibi bazı bileşenlerin otooksidasyonu sonucunda da üretilir.²⁰²

2. Oksidan enzimlerin reaksiyonları: Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu meydana getirebilir.^{202, 206, 219}

3. Fagositoz: Nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller çeşitli uyarılar ile süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve HOCl salınışına neden olurlar. Nötrofillerin hücre membranındaki NADPH'e bağımlı oksidaz sistemi, süperoksit radikali oluşturan önemli bir kaynaktır. Bakteri, mitojen, immün kompleksler ve araşidonik asit metabolize ürünleri gibi etkenlerle bu enzim aktive olur ve oksijeni hidrojen peroksit ve süperoksit radikale katalizler. Bu olaya solunum patlaması denir.^{219, 220}

4. Araşidonik asit metabolizması: Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz, protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asitin salımına yol açar.²⁰² Araşidonik asitin siklooksijenaz tarafından katalizlenen

oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur.^{195, 221} Siklooksijenaz, araşidonik asite iki oksijen molekülünün bağlanmasını sağlayarak bir lipit peroksit olan siklik endoperoksit prostaglandin G2 (PGG2) sentezini gerçekleştirir. PGG2, tromboksan ve prostasiklin sentezi için gerekli prostaglandin H2'ye (PGH2) redükte olur ve bu basamakta oksijen radikalleri oluşur. Peroksit konsantrasyonundaki artış erken dönemde siklooksijenazı aktive ederek, PGH2 ve oksijen radikallerin üretimine neden olacaktır. Bu erken dönemde hem prostasiklin hem de tromboksan üretimi artar.²²² Tromboksan B2 (TXB2)'nin oksidatif strese bağlı olarak hepatosit hasarının erken olaylarından biri olan hepatosit plazma membranında bleb formasyonunda (hücreyi sınırlayan hücre iskeletinde membran lipit tabakasının birbirinden ayrılması) yer aldığı da ileri sürülmüştür.¹²² Lipooksijenaz da serbest radikal üretir. Üç tane lipooksijenazı vardır bunlar 5, 12 ve 15 lipooksijenazlardır. Bu enzimler, santral sinir sisteminde bolca bulunan bir poliansatüre yağ asiti olan araşidonik asiti, hidroperoksit-eikazotetraenoikasite okside edebilir. 5, 12 ve 15 lipooksijenazların primer lokalizasyon bölgeleri sırasıyla lökositler, lenfositler, plateletler.¹⁹³

5. Redoks döngüsü: Kimyasallardan serbest radikal oluşumu için diğer bir mekanizma redoks döngüsüdür. Menadion ($C_{11}H_8O_2$), parakuat ($C_{12}H_{14}Cl_2N_2$), dikuat dibromit ($C_{12}H_{12}Br_2N_2$), nitrofurantoin ($C_8H_6N_4O_5$) gibi bileşikler bir redoks siklusuna girerler ve bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bunlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar.^{195, 202, 221}

6. Sitokrom P-450: Mikrozomal sitokrom P-450 sistemi de kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmalarıdır ve molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal oluşturur.^{188, 206}

7. Mitokondrial elektron transport zincir: Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS'den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, NADPH-dehidrogenaz basamağında, ikinci olarak koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O_2 'ye taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin % 1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini arttırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adenosin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretime etki eder.²²³

8. Peroksizomlar: Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, ürat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asiti açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir.^{188, 224}

2.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Organizmadaki serbest radikal oluşumunun artısına veya antioksidan savunma sisteminin yetersizliğine bağlı olarak oksidan-antioksidan dengesinin radikaller lehine bozulması sonucunda, biyomoleküller ile serbest radikaller kolaylıkla reaksiyon verebilir ve zincirleme reaksiyonları başlatarak yeni serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Oluşan serbest radikallerin, çeşitli patolojik durumlara yol açtığı ve biyolojik sistemlerde çok önemli fizyolojik roller oynadığı gözlenmektedir. Bu radikaller; proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleik asitleri yıkıma uğratabilir.²²⁵

2.7.3.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendine devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L[•]) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO[•]) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir.¹⁸⁸

Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ‘nonenzimatik peroksidasyonu’ denir. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asiti zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar.^{188, 226} Lipid radikallerinin O₂ ile etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri oluşur. LOO[•], membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.^{188, 226} Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerin yıkılımı geçiş metallerinin iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak H₂O₂ Fenton reaksiyonu sonucu OH[•] oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir.¹⁸⁸ LOOH yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı

yayarlar.²²⁷ Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonundan malondialdehit (MDA) meydana gelir.^{228, 229}

MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asiti oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.¹⁸⁸ Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak da diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur.¹⁸⁸

2.7.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler serbest radikallerinden daha kolay etkilenirler.¹⁹⁵

Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden, karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir.^{202, 206} Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize yol açabilir.²⁰²

Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immunoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler.

Özellikle oksihemoglobinin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olurlar.^{200, 226}

2.7.3.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Herhangi bir nedenle oluşan serbest radikaller ve özellikle lipit peroksidasyonu ürünlerinden MDA, hücre çekirdeğinde DNA ile tepkimeye girebilmektedir. Nükleik asit yapısındaki baz değişimleri veya DNA zincir kopması sonucu kromozal yapıda değişiklikler oluşturarak sitotoksositeye neden olmaktadır.²¹⁴

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar.²⁰² Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. $OH^{\cdot}$ radikalleri DNA'ya saldırarak hasar oluşturur. $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 doğrudan DNA'da hasar yapmazlar. $OH^{\cdot}$ radikalinin DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan $OH^{\cdot}$ radikalinin hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme olasılıkları azdır. Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'in nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturmasıdır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur.²³⁰ DNA hasarı glikozilaz enzimleriyle onarılmaktadır. Oksidatif DNA hasarını belirlemek için çoğunlukla 8-hidroksiguanin ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin ölçümü kullanılmaktadır.^{193, 231, 232}

2.7.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu; hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çarpaz bağlar oluşturabilme özellikleri ile kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynamaktadırlar. Bununla birlikte poliansatüre yağ asitleri (PUFA) ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyoxal ($C_2H_2O_2$)'in de hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir.²⁰⁸ Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkariti olan hiyaluronik asitin,

enflamatuvar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıda artmış olan H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ ile parçalandığı bulunmuştur.¹⁹⁵

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatoit artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir.²⁰²

2.7.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut antioksidanlar olarak bilinen birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar etki mekanizmalarını serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek, serbest radikalle etkileşip

aktivitelerini azaltarak, serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak ya da onarım yaparak gösterirler.^{195, 202}

Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar. Antioksidanlar doğrudan etkiyle oksidanları inaktif hale getirebilirler.²³³ Bunların yanında organizmadaki antioksidan seviyeleri, oksidatif stresin dolayısıyla vücudun patolojik ve fizyolojik durumunun da belirleyicisi olarak sıkça kullanıldığı bilinmektedir.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.²³⁴

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**. Vitaminler, flavonoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

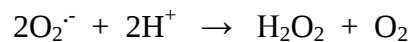
3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**.

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, SOD, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar. Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenosin, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir.²³⁵

2.7.4.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD): SOD enzimi, süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dur.²³⁶



Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir.^{207, 237} SOD aktivitesi dokulara göre değişiklik göstermektedir. SOD enzimi temelde hücre içi yerleşimlidir, %10 kadarı hücre dışında bulunmaktadır.¹⁹⁵ SOD bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (sitozolik SOD), mitokondride bulunan manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (mitokondrial SOD), ekstrasellüler SOD (EC-SOD) olmak üzere üçe ayrılır.^{202, 238, 239} Prokaryotlar da bulunan ve Fe içeren bir izomeri daha vardır (Fe-SOD).¹⁹⁵

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

Aktif bölgesinde bakır ve çinko içerir. Bu enzim hücrelerin sitoplâzmasında yerleşmiştir.²⁴⁰ Çinkonun stabiliteyi sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinkonun ayrılması geri dönüşümsüz iken, bakır geri dönüşümlü olarak ayrılıp tekrar bağlanabilir. Siyanür bu enzimin inhibitörüdür. Doku ve hücrelerden kolaylıkla izole edilebilir. Rutin saflaştırma işlemlerine ve ısıya karşı da dayanıklıdır.¹⁹⁵

2. Mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD):

Mitokondriyal Mn-SOD, her alt birim başına bir manganez atomu içeren bir homotetramerdir.²³⁸ Etki ettiği reaksiyon Cu-Zn SOD ile aynı tepkimedir. Ancak yapı olarak tamamen farklı bir enzimdir. Pembe renklidir ve aktif bölgesinde Mn içerir dayanıksızdır ve siyanürle inhibe olmaz. Eritrositlerde Mn-SOD bulunamamıştır. Karaciğerde tespit edilmiştir. Genellikle mitokondrilerde yerleşiktir.¹⁹⁵

3. Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD):

Aktif bölgesinde demir iyonu taşımaktadır. Prokaryotlar da bulunur. Yapısal olarak Mn-SOD'a büyük benzerlik göstermesine rağmen her iki enzim de aktif bölgelerinde kendi metal iyonları olduğu zaman çalışabilmektedir. Mn-SOD enziminin

endojen süperoksit radikallerine karşı, Fe-SOD enziminin ise eksojen radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği kabul edilmektedir. Fe-SOD bitkilerde ve bazı bakteri türlerinde bulunmaktadır.¹⁹⁵

Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir.²⁴¹

Katalaz (CAT): Sumer ve Dounce tarafından 1937’de kristalize halde saflaştırıldı. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısındaki Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir.^{207, 237}

Katalaz esas olarak mitokondri ve peroksizomlarda bulunmaktadır. Ayrıca sitoplazma ve endoplazmik retikulumda da aktivitesi vardır. CAT organizmayı H_2O_2 ’nin zararlı etkilerini koruyan en önemli enzimlerden biridir. H_2O_2 ’nin konsantrasyonunun aşırı arttığı ortamda aktivite gösterir.²⁴² En yüksek CAT aktivitesi karaciğer ve böbrekte saptanırken en az aktivite ise destek dokusunda gözlenir. İki tane H_2O_2 molekülünü iki H_2O ve bir O_2 ’ye dönüştürerek antioksidan etkisini gösterir.²⁴³



Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, GPx): Glutasyon peroksidaz sitozolde bulunup 4 selenyum (Se) atomu içerir ve tetramerik yapıdadır.²⁴⁴ Redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 ’i de suya çevirir. Böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur.^{207, 244}



GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan H_2O_2 suya, diğer substratı olan organik hidroperoksit alkole indirgenirken, bu sırada koenzim olan redükte

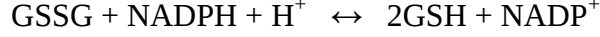
glutasyon (GSH) ise yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür. Kullanılan koenzim NADPH, esas olarak pentoz fosfat yolundan sentezlenir.²⁴⁵ Belirgin şekilde GSH-Px, substrat olan H_2O_2 için katalazla rekabet eder ve düşük seviyeli oksidatif strese karşı korumada önemli bir kaynaktır.²⁰⁶

GSH-Px fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.²⁴⁶

Glutasyon Redüktaz (GSH-Rd): GSH-Rd 50.000 daltonluk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH'dan gelen elektronlar okside glutasyonun disülfid bağına direkt olarak transfer edilemezler. Sıklıkla önce NADPH'dan sıkıca bağlı bulunan FAD'ye transfer edilir. Daha sonraki alt birimlerdeki 2 sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyon aktarılmış olurlar. Her bir subunit 3 tane yapısal alan içerir. Bunlar: FAD bağlayıcı olan, NADPH bağlayıcı olan ve ara yüzey alanıdır. FAD alanı ve NADP^+ alanı birbirine benzer ve diğer dehidrogenazlardaki nükleotid bağlayıcı alanlara benzerler. FAD ve NADP^+ 'nin izoalloksozin ve nikotinamid halkaları birbirine geçecek şekilde geniş ölçüde aralarında bağlanırlar. Oksidize glutasyon için bağlayıcı alanın bir

alt biriminin FAD alanı ile diğer alt biriminin ara yüz alanından meydana geldiği belirtilmiştir.²⁴⁷

GSH-Rd



Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu ise, GSH-Rd'nin GSSG'yi GSH'ye çevirimi için gereken NADPH'ı sağlar.²⁴⁸

Glutatyon S-transferaz (GST): GST, dimerik yapıda olup sitozolde bulunur. Çok sayıda izoenzimi vardır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolü olan GST, çeşitli endojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu kataliz eder.²³⁶



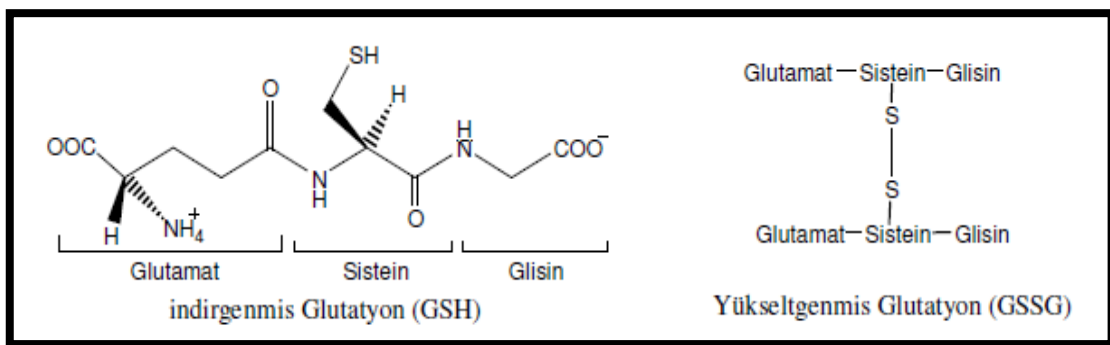
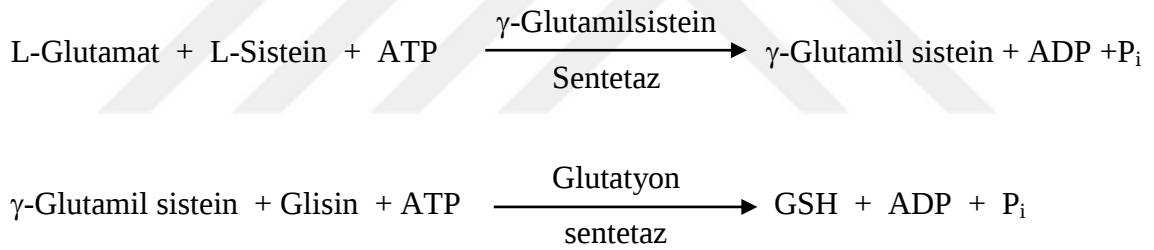
GST, katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptir. Hem detoksifikasyon yapar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolü vardır. GST, karaciğerde sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizler.²³⁶

Lipit peroksidlerine karşı GST'ler savunma mekanizması oluşturur, antioksidan aktivite gösterir ve hem, bilirubin ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddeleri dönüşümlü olarak bağlayarak bunların hücre içi transportunda yer alırlar.²⁰²

Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz: Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot -}$) radikalini suya çevirerek etki göstermektedir. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksitin zararlı etkilerine engel olurlar.²⁴⁹

2.7.4.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar

Glutasyon (GSH): Glutasyon bir tipteptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmiştir.^{195, 250} GSH, tüm memeli hücrelerinde bol miktarda (0,5–10 mM) sentezlenir. Vücuttaki glutasyonun büyük bölümü karaciğerde iki aşamada sentezlenir. Birinci basamakta, γ -glutamilsistein sentetaz isimli enzim GSH'ın prekürsör aminoasitleri olan glutamat ve sisteinden, γ -glutamilsisteinin oluşumunu katalizler. İkinci basamakta ise, glutasyon sentetaz, glisin ve γ -glutamilsisteinden glutasyonu oluşturur. GSH negatif feed-back ile glutamilsistein oluşum hızını ve böylelikle kendi sentezini de denetler. Bu sentezde bir molekül GSH için hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir.²⁰⁸



Şekil 2.10. GSH ve GSSG'nin yapısı

Glutasyon, indirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) şekilde bulunmaktadır (Şekil 2.10.). İlk kez 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiştir. İlk önceleri glutamil-sisteinden ibaret bir dipeptid olduğu zannedilmiştir. Fakat 1929 yılında kristal

halinde elde edildikten sonra yapısının tripeptid olduğu anlaşılmıştır. 1935 yılında ise Harrington ve Mead tarafından δ -L-glutamil-L-sistein elde edilmiştir.²⁵¹

Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.¹⁸⁸

GSH doğadaki en bol ve her yerde bulunan küçük organik moleküllerden biridir. Nerdeyse tüm yaşayan hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan bu endojen antioksidanın birçok önemli fonksiyonel rolü olduğu birçok defa incelenmiştir. Ksenobiyotikler, karsinojenler, serbest radikaller ve lipid peroksidler gibi birçok endojen ve ekzojen maddelerin detoksifikasyonu, intraselüler metabolizmada ve aminoasitlerin transportunda, protein yapılarının ve fonksiyonlarının korunması, protein sentezinin ve yıkımının düzenlenmesi, oksidatif zarara karşı koruma ve immün fonksiyonun korunması bu rollerden bazılarıdır.²⁵²

Vitamin C (Askorbik asit): C vitamini olarak bilinen askorbik asit kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda eriyebilen, insanlarda sentez edilmediği için besinlerle alınması gereken güçlü bir antioksidan moleküldür. Yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. İnce bağırsaklardan kolayca emilir. Plazma konsantrasyonu 0.1 mM'dir. C vitamini omurilik, akciğer ve göz gibi pek çok hayvansal dokunun sulu bölümlerinde oldukça yüksek yoğunlukta (milimolar ve üstü) bulunur.^{236, 253}

Askorbik asit oksijen tutma özelliğine sahip olması nedeniyle antioksidan olarak kullanılır. Yağların ve yağlı besinlerin uzun süre saklanabilmesi, beyaz renkteki sebze

ve meyvelerin kararmasının önlenmesi için kullanılır. Ayrıca çabuk soğutularak dondurulmuş meyveler erime sırasında doğal renk ve kokularını yitirir. Bunlara dondurmadan önce saf askorbik asit katmakla bu sakıncalar önlenebilmektedir. Oksijen hoş gitmeyen değişiklikleri yapmadan önce askorbik asit tarafından tutulur. Süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar.²⁰⁷

E vitamini (α -tokoferol): İlk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlardan ve lipoproteinlerde bulunur. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. E vitamini içinde alfa, beta, gama ve delta tokoferolleri bulunur. Bunların içinden özellikle α -tokoferol önemli bir antioksidandır. En aktif formu ve antioksidan aktivitesi en yüksek olan α -tokoferol'dür. Yapısında bulunan fenol halkasındaki hidroksil grubu, molekülün antioksidan özelliğini sağlayan aktif kısmını oluşturur.²⁰⁷

Karotenoidler: Karotenoid bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda (yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde) bulunan pigmenttir. 600'ün üzerinde bilinen karotenoid vardır. Karotenoidlerin pek çok fizyolojik işlevi vardır. Yapıları gereği serbest radikalleri etkili bir şekilde bertaraf ederler ve bağışıklık sistemini güçlendirirler. Epidemiyolojik çalışmalarda diyetinde ve kan plazmasında yüksek oranda β -karoten bulunan kişilerde akciğer kanser riskinin anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur.²⁵⁴

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karoten singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşip antioksidan işlev gördüğü saptanmıştır.²³⁶

Melatonin: Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil radikalini ($\text{OH}^\cdot$) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların

en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin serbest OH[•] ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki süperoksit radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatonin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır, hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir.^{202, 207}

Albumin: Albumin vücutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.^{195, 213, 255}

Transferrin: Transferrin plazmada bulunan demiri bağlayan bir glikoproteindir.²⁰² Transferrinin görevi serbest demiri bağlayarak demirin lipid peroksidasyon tepkimelerini başlatmasını önlemektir.²¹³

Ürat: Normal plazma konsantrasyonunda süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler, fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır.²⁰²

Seruloplazmin: Seruloplazmin olasılıkla SOD'a benzer mekanizmasıyla etki gösterir. Ferro demiri (Fe⁺²) ve ferri demire (Fe⁺³) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.²¹³

Bilirubin: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.²⁰²

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 36 adet ve ağırlıkları 180-200 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Deney süresince, ratlara yeteri kadar su ve yem (pelet yem) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının etik kurallara uygun olduğu, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 27.11.2014 tarih ve 93722986.03/1307 sayılı yazısı ile onaylanmıştır.

3.2. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması

TQ: TQ ($C_{10}H_{12}O_2$, 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon) maddesi Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından satın alınmıştır. Çalışmada, TQ'nun rat başına 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozu 1 ml' ye tekabül edecek şekilde saf su içinde çözünerek hazırlandı. Hazırlanan çözelti ratlara oral yoldan gavaj yardımıyla verildi.

IND: 25 mg/kg Endol tablet uygun dozlarda her bir rat için 1 ml olacak şekilde kapsül hesabı yapıldı ve saf su içinde dağıtıldı. Hazırlanan çözelti ratlara oral yoldan gavaj yardımıyla verildi.

FAM: 40 mg/kg FAM uygun dozlarda her bir rat için 1 ml olacak şekilde hesaplanarak saf su içinde çözüldü ve ratlara oral yoldan gavaj yardımıyla verildi.

Tiyopental sodyum: Çalışmada intraperitoneal (i.p) olarak 50 mg/kg tiyopental sodyum verilerek ratlar sakrifiye edildi.

3.3. Ratlarda IND Ülser Modelinin Oluşturulması ve TQ'nun Uygulanması

IND ile uyarılan hasarlı mide dokusu (ülserli mide) üzerine TQ'nun ülser koruyucu etkisini araştırmak üzere yapılan bu çalışma, Guidobono ve arkadaşlarının²⁵⁶ uyguladığı yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. Çalışmada, 5 deney grubu ve bir kontrol grubu oluşturuldu. Her bir grupta 6 adet olmak üzere toplam 36 adet rat kullanıldı. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı. Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine göre belirlendi:

1- Sağlıklı grup (Kontrol grubu): IND'nin ülser yapıcı etkisini ve enzim aktivitesindeki değişiklikleri sağlıklı dokularla kıyaslanması için hiçbir maddenin verilmediği grup.

2- IND grubu (Negatif kontrol): Ülser gelişimini diğer gruplarla (sağlıklı grup hariç) kıyaslamak amacıyla sadece IND'nin verildiği grup.

3- IND + FAM grubu (Pozitif kontrol): Antiülser etkisinin derecesinin anlaşılabilmesi için famotidin gibi ticari referans ilacının verildiği grup.

4- IND + 0.5 TQ grubu: Antiülser etkisini incelemek üzere 0.5 mg/kg TQ oral olarak gavaj yardımıyla verildikten 5 dk sonra aynı şekilde IND uygulandı.

5- IND + 1 TQ grubu: Antiülser etkisini incelemek üzere 1 mg/kg TQ oral olarak gavaj yardımıyla verildikten 5 dk sonra aynı şekilde IND uygulandı.

6- IND + 2 TQ grubu: Antiülser etkisini incelemek üzere 2 mg/kg TQ oral olarak verildikten 5 dk sonra aynı yolla IND uygulandı.

Ratlar, 24 saat aç bırakıldıktan sonra her bir deney grubunda bulunan ratlara; TQ'nun 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozlarda olmak üzere oral yoldan gavaj yardımıyla verildi. Pozitif grubuna ise FAM (40 mg/kg), oral yoldan aynı şekilde uygulandı. Sağlıklı gruba oral olarak gastrik gavajla su verildi ve diğer hayvanlar ile aynı şartlar altında (oda, sıcaklık, nem, güneş ışığı, karanlık vb.) muhafaza edildi.

TQ ve FAM belirtilen doz ve miktarlarda oral olarak verildikten 5 dakika sonra tüm ratlara oral yoldan aynı şekilde IND (25 mg/kg) uygulandı (TQ, FAM ve IND hazırlanışları yukarıda belirtilmiştir).

IND'nin verilmesinden 6 saat sonra yüksek dozda anestezik madde (thiopental sodium 50 mg/kg) kullanılarak tüm gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkarıldı. Mideler küçük kurvartür boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandı ve makroskopik olarak incelendikten sonra tüm rat gruplarına ait mide dokuları biyokimyasal incelemeler için - 80 °C' de saklandı. TQ'nun antiülser etkisi, makroskopik ve biyokimyasal analizlere dayandırılmak suretiyle belirlendi. TQ'nun verildiği gruplardan elde edilen sonuçlar, IND ve FAM gibi ilaçların verildiği gruplardan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldı.

3.4. Deneylerde Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihazlar	Modeli ve Firması
Buzdolabı (+4 °C)	: Vestel, Türkiye
Derin Dondurucu (-86 °C)	: Nuaire NU-9483E, USA
Doku Homojenizatörü	: Tissue Lyser II, QIAGEN
Eliza Okuyucu	: Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA
Etüv	: Memmert WNB 7-45, Germany
Hassas Terazî	: Shimadzu ATX724, USA
Manyetik Karıştırıcı	: Wids WiseStir MSH-20A, Germany
Otomatik Multikanal Pipet	: Eppendorf Research Pro (20-300µl)

Pipet Seti	: Eppendorf Research Plus
pH Metre	: SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Plate Çalkalayıcı (Shaker)	: IKA- MS 3 basic, USA
Saf Su Cihazı	: MERCK MILLIPORE Q, Ultra System, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	: Hettich Zentrifugen 320R, Germany
Vorteks	: Heidolp Reax Top, USA

3.5. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Maddeler	Firma
Endol kapsül (IND, 25 mg)	: Deva İlaç
Famotidin (FAM) = (Neotab tablet, 40 mg)	: Deva İlaç
2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone (Thymoquinone)	: Sigma-Aldrich
Thiopental sodium	: İ.E ULAGAY
Phosphate Buffered Saline (PBS)	: Sigma-Aldrich
Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)	: Sigma-Aldrich
5,5'-Dithiobis (2-Nitrobenzoic Acid) (DTNB)	: Sigma-Aldrich
Tris-HCl	: Sigma-Aldrich
Methanol	: MERCK
Standart stok GSH	: Sigma-Aldrich
Sodium lauryl sulphate (SLS)	: Sigma-Aldrich

2-Thiobarbituric acid (TBA)	: Sigma-Aldrich
Glasiyel asetik asit	: MERCK
1,1,3,3-Tetraethoxypropane (MDA)	: Sigma-Aldrich
Xanthine	: Sigma-Aldrich
Nitro tetrazolium blue (NTB)	: Sigma-Aldrich
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	: Riedel-de Haën
Bovine Serum Albumin (BSA)	: Sigma-Aldrich
Xanthine oxidase	: Sigma-Aldrich
Saf Standart Süperoksit Dismutaz Enzimi (SOD)	: Sigma-Aldrich
Lowry Reagent, Powder	: Sigma-Aldrich
Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent	: Sigma-Aldrich

3.6. Mide Dokularının Makroskopik İncelenmesi

Gastrik lezyonların belirlenmesi için rat mideleri makroskopik değerlendirmeye alındı ve rat mideleri, büyük kurvartür boyunca açılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ülser sayısı ve alanları tespit edildi. Ülser alan genişlikleri milimetrik kâğıt kullanılarak bir büyüteç yardımıyla ölçüldü. TQ'nun ve FAM'ın antiülser etkileri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Antiülser etki (\%)} = \frac{\text{İG} - \text{DG}}{\text{İG}} \times 100$$

(İG; IND grubu ülser alanını, DG ise deney gruplarının ülser alanını göstermektedir).

3.7. Mide Dokularının Biyokimyasal Analizi

Biyokimyasal çalışmalar için çıkarılan rat mide dokuları - 80 °C’de saklandı. Bu dokulardan homojenatlar hazırlanıp, bu homojenatlardan elde edilen süpernatantlar SOD enzim aktivitesi, GSH, MDA miktarları ölçümü için kullanıldı. Ayrıca her bir parametre için homojenize edilmiş tüm mide dokusu süpernatantlarında protein seviyesi ölçüldü ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. SOD enzim aktivitesi Sun ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yönteme göre, MDA seviyeleri Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yönteme göre, GSH seviyesi ise Sedlak ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yönteme göre Elisa’ya modifiye edilerek 96’lık well plate’te her bir rat mide dokusu için ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü.²⁵⁷⁻²⁵⁹

3.7.1. Doku Numunelerinin Hazırlanması

Her bir ratın mide dokusu teker teker sıvı azot ile birlikte bilyeli öğütücüye konularak (Qiagen Tissuelyser II) (Şekil 3.1.) toz haline getirildi. Toz haline gelen mide dokuları yaklaşık 100 mg tartılarak vidalı eppendorf tüplere alındı ve içerisine 1 ml fosfat tamponu (PBS) koyuldu ve iyice karıştırıldı. Karışım yine Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörünün 48’li adaptörü ile homojenize edildi (30 hz 3 dk). Daha sonra her ölçüm için soğutmalı santrifüjde literatürlere uygun olarak belirtilen hızlarda +4 °C’ de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı ölçümler için kullanıldı.



Şekil 3.1. Deneyde Kullanılan Doku Homojenizatörü ve Bilyeli Öğütücü

3.7.2. Protein Tayini

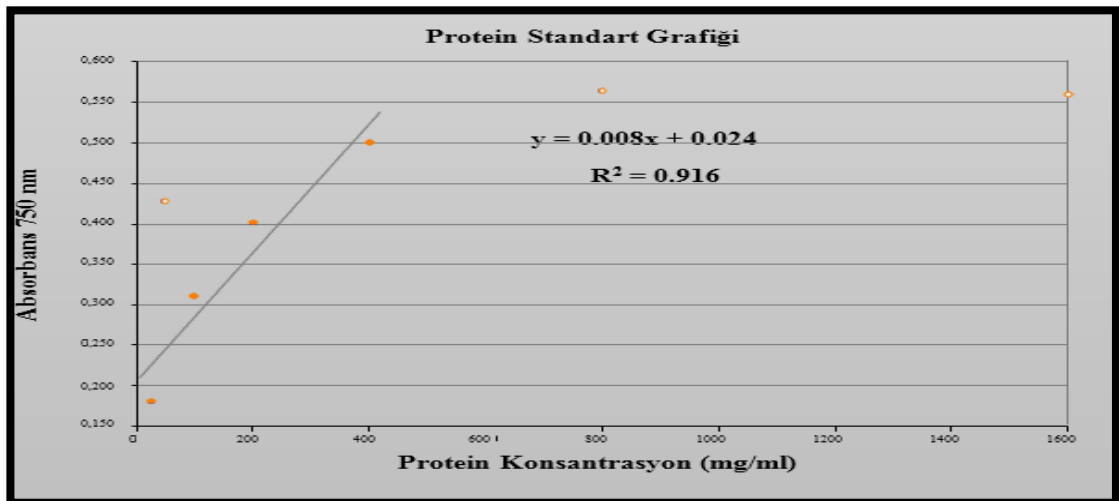
Deney Prensipli: Protein konsantrasyonları ticari protein standartları kullanılarak Lowry metodu ile tespit edildi. (Sigma Aldrich, Total protein kit-TP0300-1KT-USA).

Kullanılan Reaktifler

- 1) Lowry Reagent Solüsyonun Hazırlanması:** Bir şişe Lowry Reagent içine 40 ml saf su eklenerek solüsyon hazırlanır ve iyice karıştırılır.
- 2) Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (Working) Solüsyonun Hazırlanması:** 450 µl Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 4.75 ml saf su eklenerek hazırlanır.
- 3) Protein Standart Solüsyonun Hazırlanması:** 32 mg BSA 20 ml saf su ile çözüldü.

Deney Prosedürü

1. Standartlar hariç tüm kuyulara 95 µl saf su konur.
2. Numuneler kuyulara (well) 5 µl eklenir. Standartlar 100 µl eklenir.
3. 10 dakika plate'i shaker ile sallayarak inkübe edilir.
4. 50 µl Lowry Reagent solüsyonu her kuyuya karıştırılır (standart ve kör dahil).
5. 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
6. 50 µl Working solüsyonu tüm kuyulara eklenir. 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
7. 750 nm'de (optimum değer) Elisa'da ölçüm yapılır.



Şekil 3.2. Protein miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri

3.7.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Deney Prensipleri: Sun ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.²⁵⁷ Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Yöntemin esası, ksantin oksidaz ile ksantin oksidasyonu sırasında açığa çıkan $O_2^{\cdot-}$ nin Nitroblue Tetrazolium (NBT)'u redükleyerek, farmazon oluşturma esasına dayanmaktadır. SOD aktivitesi yükseldikçe, NBT ile reaksiyona giren $O_2^{\cdot-}$ miktarı azalacak ve formazon oluşumu azalacaktır.

Kullanılan Reaktifler

- 1) Homojenat tamponu olarak PBS kullanıldı.
- 2) Ölçüm karışımı içerisinde 0.3 mM Xanthine, 0.6 mM EDTA, 150 µM NTB, 0.4 M Na_2CO_3 ve 1.2 g/L BSA maddeleri bulunur.
- 3) Xanthine Oxidase.
- 4) 50 mM pH: 0.8 Tris-HCl.
- 5) SOD standart.

Deneyin Yapılışı

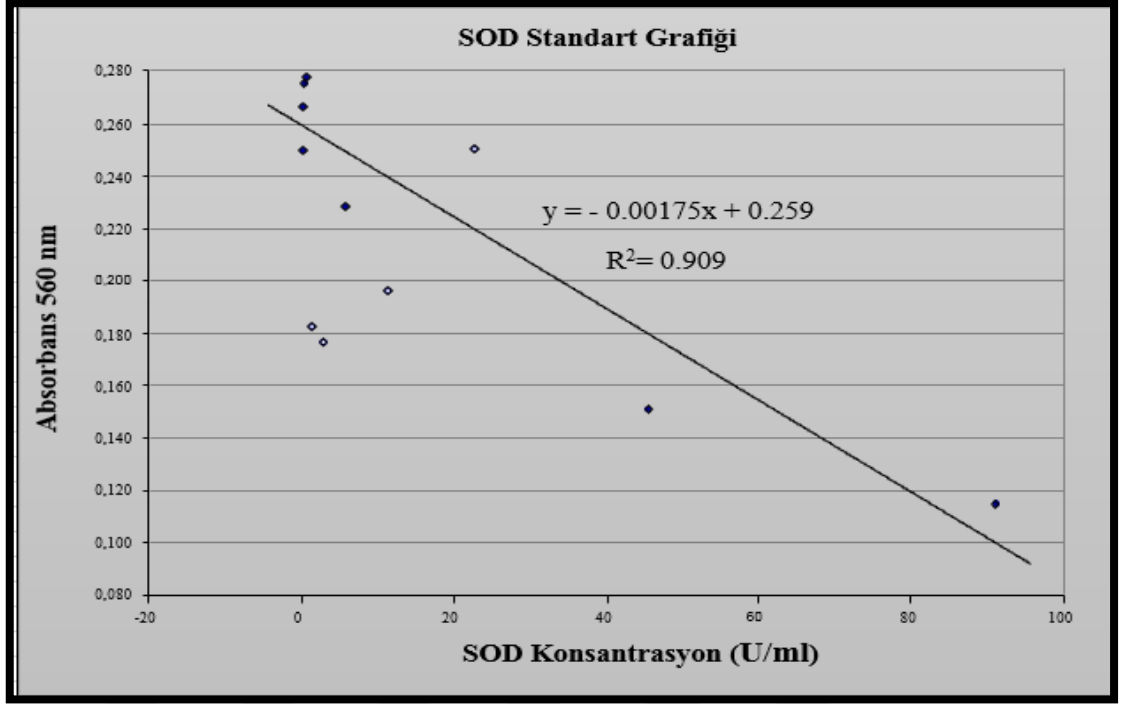
Doku homojenizasyonu;

1. Dokular sıvı azot altında homojenize edildi.
2. Dokular kandan uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı.
3. Doku başına 1 ml PBS olacak şekilde Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile homojenize edildi (30 hz 3 dk).
4. +4 °C'de 1500 g'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi.
5. Üste kalan sıvı kısmında (süpernatant) ölçüm yapıldı.

Çalışma 96 kuyucuklu plate'ler de gerçekleştirildi. Ölçüm aşağıdaki basamaklara göre yapıldı;

1. Kuyulara 50 µl numune ve standartlar eklendi.
2. 50 µl homojenat tamponu plate'in kör kısmına konuldu.
3. Ölçüm karışımı tüm kuyulara 200 µl eklendi.
4. Tüm kuyulara Xanthine Oxidase 20 µl eklendi.
5. İlk kuyulara Xanthine Oxidase eklendikten sonra 25 °C'de 20 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübe edildikten sonra 560 nm'de Elisa reader da okutuldu.

SOD Enzim Aktivitesinin Hesaplanması: Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki absorbans miktarları 560 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.2.) yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi. Eğrinin denklemi $y = - 0.00175x + 0.259$ ve R^2 değeri ise 0.909 olarak bulundu.



Şekil 3.3. SOD enzim miktarının ölçümü sırasında kullanılan standart eğri

3.7.4. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini

Deney Prensipli: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.²⁵⁸ Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu PBS kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu; 0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH: 8.2
3. 10 mM DTNB, metanol
4. Standart GSH stok

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. 0.1 g (100 mg) dokuya 1 ml PBS ilave edildi.

2. Karışım, Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile homojenize edildi (30 Hz 3 dk).

3. Homojenatlar, +4 °C'de 12000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi.

4. Oluşan süpernatantlar GSH ölçümü için kullanıldı.

Ölçüm 96 kuyucuklu plate'te aşağıdaki gibi yapıldı;

1. Kuyulara 25 µl numune ve standartlar eklendi.

2. 25 µl homojenat tamponu plate'in kör kısmına konuldu.

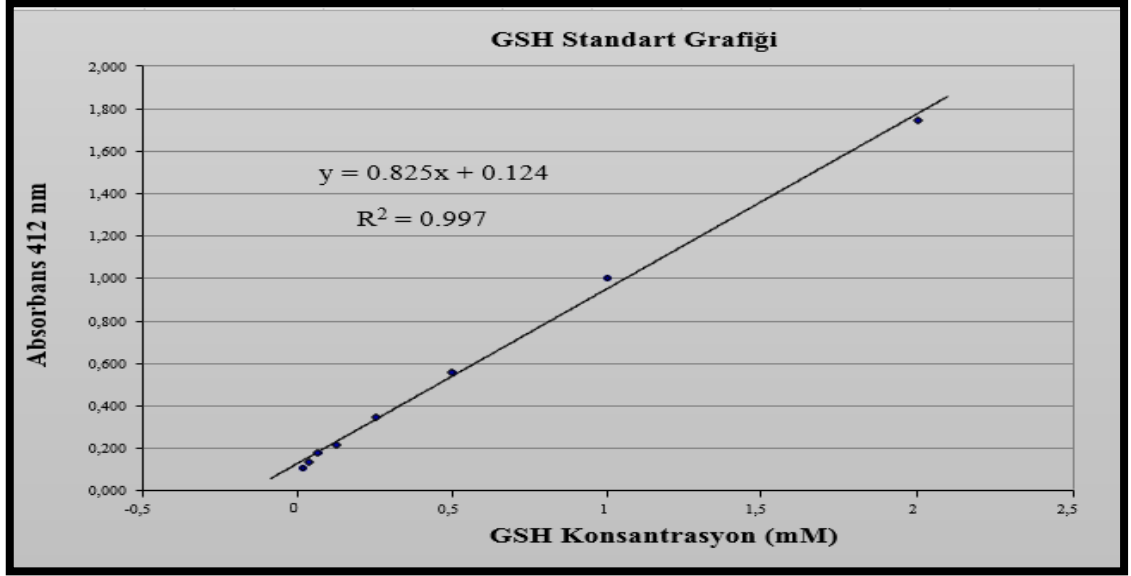
3. Ölçüm tamponu tüm kuyulara 150 µl eklendi.

4. Tüm kuyulara DTNB 10 µl pipetlenerek karıştırıldı.

5. Plate'e gerekli yüklemeler yapıldı. 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

6. Daha sonra 412 nm de Elisa'da ölçüm alındı.

GSH Miktarının Hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.3.) yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi. Eğrinin denklemi $y = 0.825x + 0.124$ ve R^2 değeri ise 0.997 olarak bulundu.



Şekil 3.4. GSH miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri

3.7.5. Lipit Peroksidasyon Aktivite Tayini

Deney Prensipli: Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak ölçüm gerçekleştirildi.²⁵⁹ Malondialdehit (MDA) miktarı, lipit peroksidasyonun göstergesi olarak belirtilmektedir. Lipit Peroksidasyon miktarı, tiyobarbitürik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre ölçüldü. Malondialdehit, tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C’de reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturur.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu PBS kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu; % 8 SLS, % 0.08 TBA ve % 20 Asetik asit.
3. 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (MDA) stok standart.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

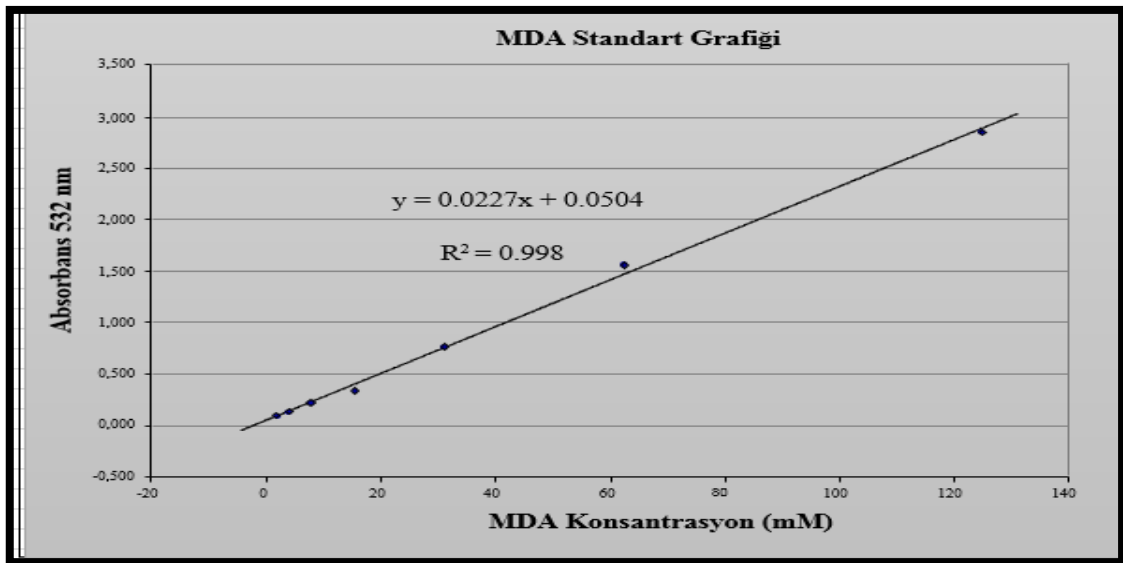
1. 100 mg dokular kapalı tüplere alınarak içine 1 ml PBS konuldu.
2. Tüplerdeki karışım, Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile homojenize edildi (30 hz 3 dk).
3. Oluşan homojenat +4 °C’de 4000 rpm’de 15 dk santrifüjlenir.

4. Tüpteki sıvı kısım (süpernatant) MDA ölçümü için kullanılır.

96 well plate'te ölçüm şu şekilde yapıldı;

1. Kuyulara 50 µl numune ve 10 µl standartlar eklendi.
2. 10 µl homojenat tamponu plate'in kör kısmına konuldu.
3. Ölçüm tamponu tüm kuyulara 190 µl eklendi.
4. Karışım, 100 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra plate'in biraz soğuması beklendi.
6. Daha sonra 532 nm de Elisa'da ölçüm alındı.

MDA Miktarının Hesaplanması: 100 mM stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve oluşan pembe renk miktarları 532 nm'de 96'lık well plate kullanılarak Elisa'da okundu ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi (Şekil 3.4.). Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak MDA miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı. Daha sonra numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi. Eğrinin denklemi $y = 0.0227x + 0.0504$ ve R^2 değeri ise 0.998 olarak bulundu.



Şekil 3.5. MDA miktarı ölçümü sırasında kullanılan standart eğri

3.8. İstatistiksel Analiz

Yapılan bu çalışma sonucunda istatistiksel analizler ve karşılaştırmalar IBM SPSS Statistich 19.0 software programı kullanılarak yapıldı. Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler anlamsız olduğunu göstermektedir.



4. BULGULAR

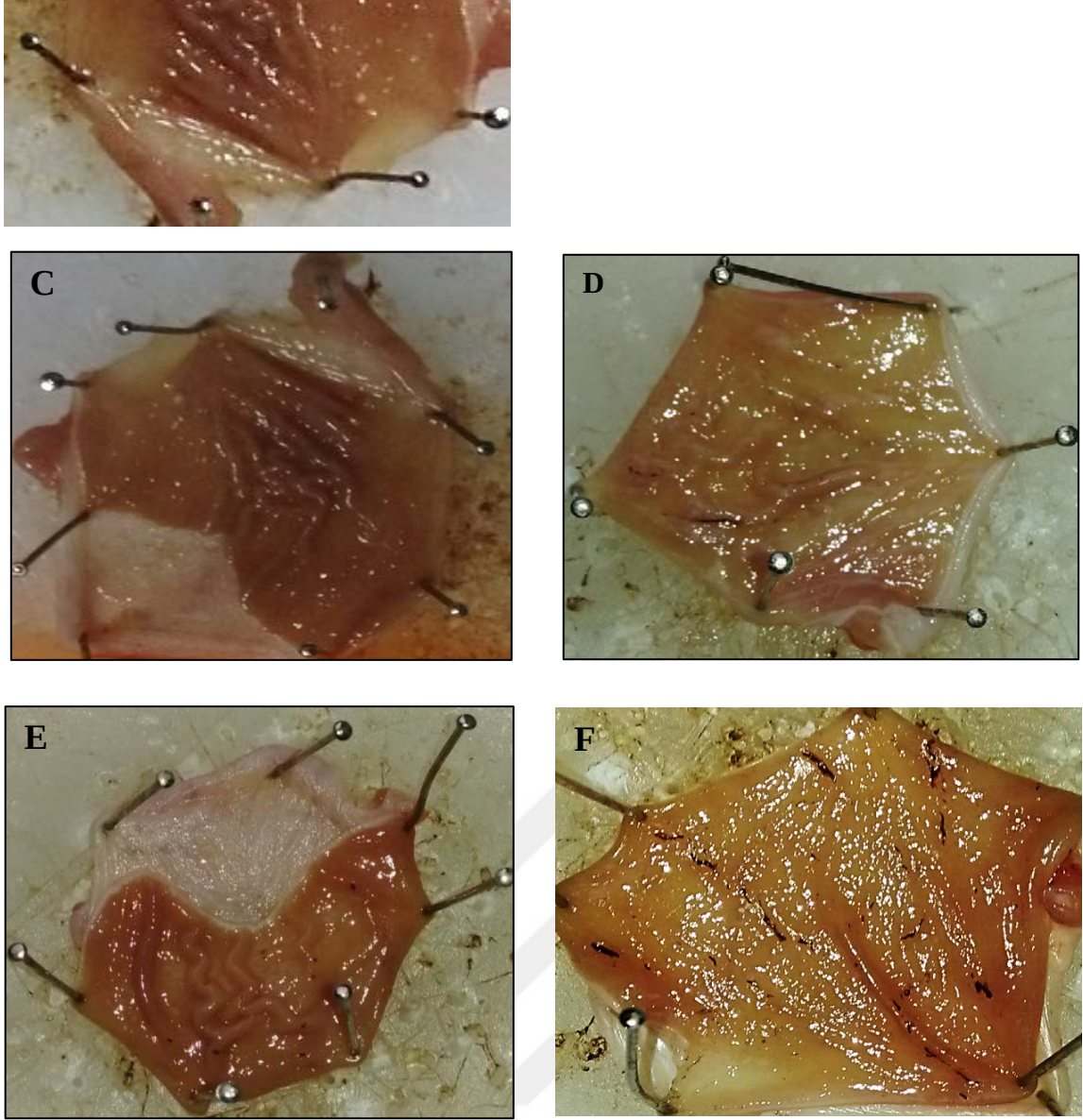
4.1. Makroskopik Bulgular

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen veriler tablo ve şekillerde sunulmuş olup IND grubuna göre mukayeseler "antiülser etki (%)" olarak ifade edilmiştir. Ülkemizde ülser tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari ilaçlardan H₂ reseptör antagonistleri (HRA) deneylerimizde referans ilaç olarak, antiülser etkinin derecesinin anlaşılabilmesi amacıyla kullanılmıştır. H₂ reseptör antagonisti olarak FAM, ülser gelişiminin tespitinde ise (kontrol grubu olarak) IND kullanılmıştır.

Makroskopik incelemelerde, deneyde kullanılan ratların mide dokusunda ülser oluştuğu görülmüştür. Ülser odakları bütün mide yüzeyine dağılmış halde, farklı sayı ve çapta, yuvarlak, oval ve düzensiz mukozal defektlerden bulunmaktaydı. Ülserlerin sınırları belirgindi ve ülserli alanlarda kabarıklıklar görüldü. Makroskopik inceleme sonuçları Tablo 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de sunulmuştur.

Şekil 4.1’ de gruptardan rastgele seçilen resimlerde görüldüğü gibi IND ile belirgin bir şekilde ülser oluştuğu belirlenmiş ve piyasada satılan ticari ilaç FAM ise bu ülseratif alanı tamamen yok etmiştir. TQ’nun 0.5 ve 1 mg/kg dozlarında (D ve E) ratların midelerindeki ülser alanı IND verilen gruptaki (B) ratların midelerine göre daha az ve daha küçüktür. Ancak TQ’nun 2 mg/kg dozu diğer dozlara göre daha az etki göstermiştir.





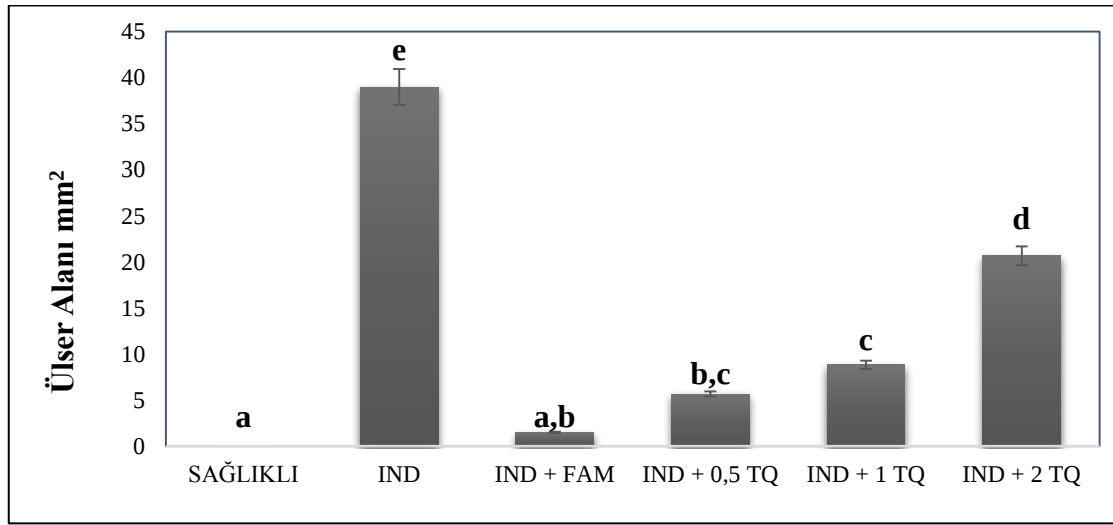
Şekil 4.1. Sağlıklı gruba ratlarda mide mukozası (A), IND grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (B), FAM grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (C), 0.5 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (D), 1 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (E) ve 2 mg/kg TQ grubu ratlarda hasarlı mide mukozası (F)

Tablo 4.1. Tüm gruplarda saptanan ülser alanı ve antiülser etkinin toplu sonuçları

Gruplar	Doz (mg/kg)	Rat	Ülser alanı (mm ²)	Antiülser etki (%)
SAĞLIKLI		6	0.00 ± 0.00 ^a	-
IND	25	6	39.00 ± 6.07 ^e	-

IND+FAM	40	6	$1.50 \pm 2.81^{a,b}$	96.15
IND+0.5 TQ	0.5	6	$5.67 \pm 1.63^{b,c}$	85.48
IND+1 TQ	1	6	8.83 ± 5.88^c	77.35
IND+2 TQ	2	6	20.67 ± 5.13^d	47.17

Sonuçlar, rat gruplarındaki ölçümlerin ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterilmiştir. % Antiülser etki: ((İND-Uygulama/İND)*100) formülüne göre belirlenmiştir. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p>0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p<0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.



Şekil 4.2. Tüm gruplarda saptanan ülser alanlarının grafiksel gösterimi

Sonuçlar, aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p>0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p<0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.

Çalışma sonunda elde edilen rat mide dokularının ülser alanları Tablo 4.1 ve Şekil 4.2’ de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre sadece musluk suyu verilen sağlıklı grupta hiçbir ülser alanı belirlenmemiştir (0.0 ± 0.0) ($p>0.05$). IND ile oluşturulan ülser kontrol grubu sağlıklı gruba göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde ülser alanlarının yüksek olduğu görülmüştür ($39.00 \pm 6.07 \text{ mm}^2$), ($p<0.05$). Referans ilaç olarak kullandığımız FAM grubu ise IND grubuna göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir ($1.50 \pm 2.81 \text{ mm}^2$) (% 96) ($p<0.05$). TQ’nun 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozları ile muamele edilen

gruplarda (5.67 ± 1.63 , 8.83 ± 5.88 ve 20.67 ± 5.13 mm² sırasıyla % 85.48, % 77.35 ve % 47.17) ülser alanları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre 0.5, 1 ve 2 TQ grupları, IND grubu (ülser kontrol) ile karşılaştırıldığında, IND ile oluşturulan ülser bütün dozlarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0.05$). TQ dozlarının arasında en iyi etkinin 0.5 TQ (0.5 mg/kg) grubunda olduğu tespit edildi (Tablo 4.1.). Neredeyse FAM grubuna yakın bir etki gösterdiği belirlenmiştir (% 85.48).

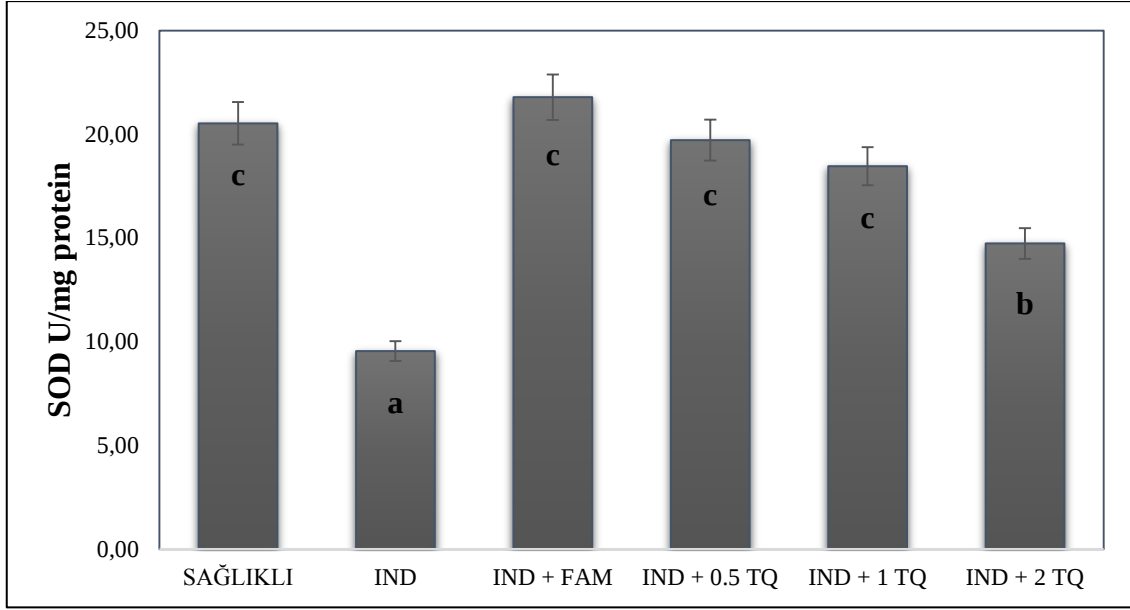
4.2. Biyokimyasal Bulgular

Gruplara göre SOD, GSH ve MDA seviyeleri Tablo 4.2, Şekil 4.3-5’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Rat midelerinde ölçülen SOD enzim aktivitesi ile GSH ve MDA sonuçları

Gruplar	Doz (mg/kg)	Rat	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
SAĞLIKLI		6	20.52 ± 4.29^c	1.93 ± 0.44^c	$0.52 \pm 0.14^{a,b}$
IND	25	6	9.55 ± 2.65^a	0.73 ± 0.17^a	1.16 ± 0.22^d
IND+FAM	40	6	21.79 ± 4.99^c	1.99 ± 0.29^c	0.48 ± 0.11^a
IND+0.5 TQ	0.5	6	19.71 ± 3.29^c	1.85 ± 0.37^c	$0.55 \pm 0.21^{a,b}$
IND+1 TQ	1	6	18.46 ± 4.71^c	1.71 ± 0.35^c	$0.67 \pm 0.20^{b,c}$
IND+2 TQ	2	6	14.74 ± 5.34^b	1.29 ± 0.44^b	0.74 ± 0.24^c

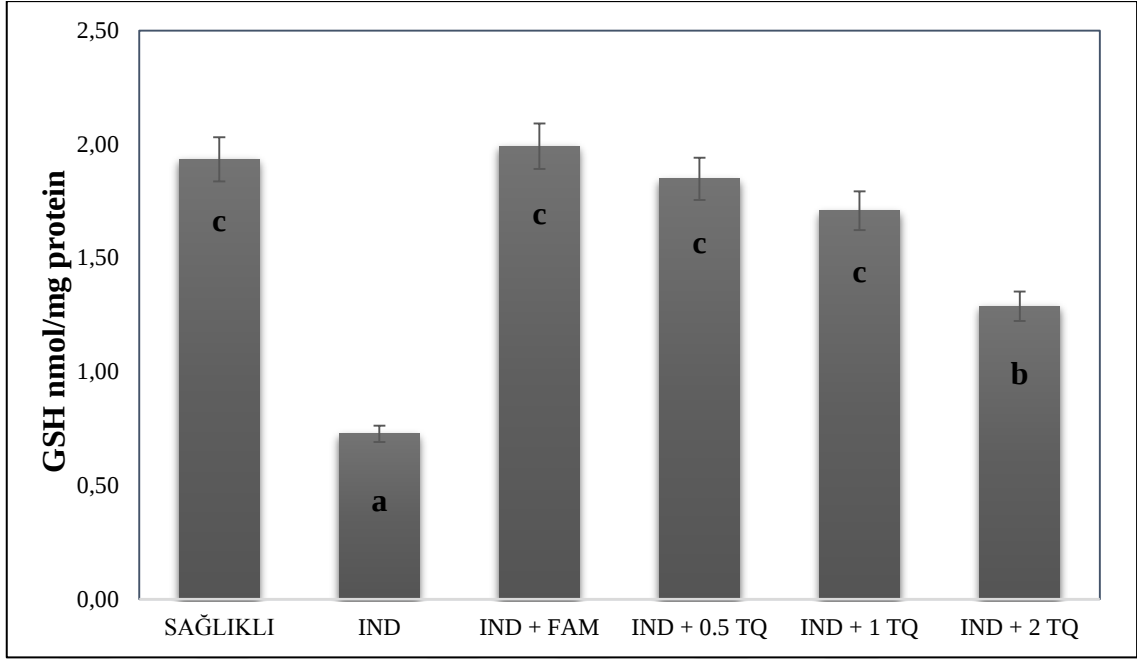
Sonuçlar, rat gruplarındaki ölçümlerin ortalaması (ortalama $\pm$ SD) olarak gösterilmiştir. Ülser kontrol grubuna (ÜG) göre aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p > 0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p < 0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.



Şekil 4.3. Rat midelerinde ölçülen SOD enzim aktivitesinin grafiksel gösterimi
Sonuçlar, aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p>0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p<0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.

Sağlıklı, IND, IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ deney gruplarındaki SOD enzim aktiviteleri sırasıyla 20.52 ± 4.29 U/mg protein, 9.55 ± 2.65 U/mg protein, 21.79 ± 4.99 U/mg protein, 19.71 ± 3.29 U/mg protein, 18.46 ± 4.71 U/mg protein ve 14.74 ± 5.34 U/mg protein olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2.).

Sağlıklı kontrol gruba göre IND grubunun SOD aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür ($p<0.05$). IND + FAM, IND + 0.5 TQ ve IND + 1 TQ grupları SOD aktivitesi sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ grupları IND grubunun SOD seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Etkisini denediğimiz TQ'nun dozları arasında ise en iyi etki 0.5 ve 1 mg/kg dozlarının olduğu gruplarda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

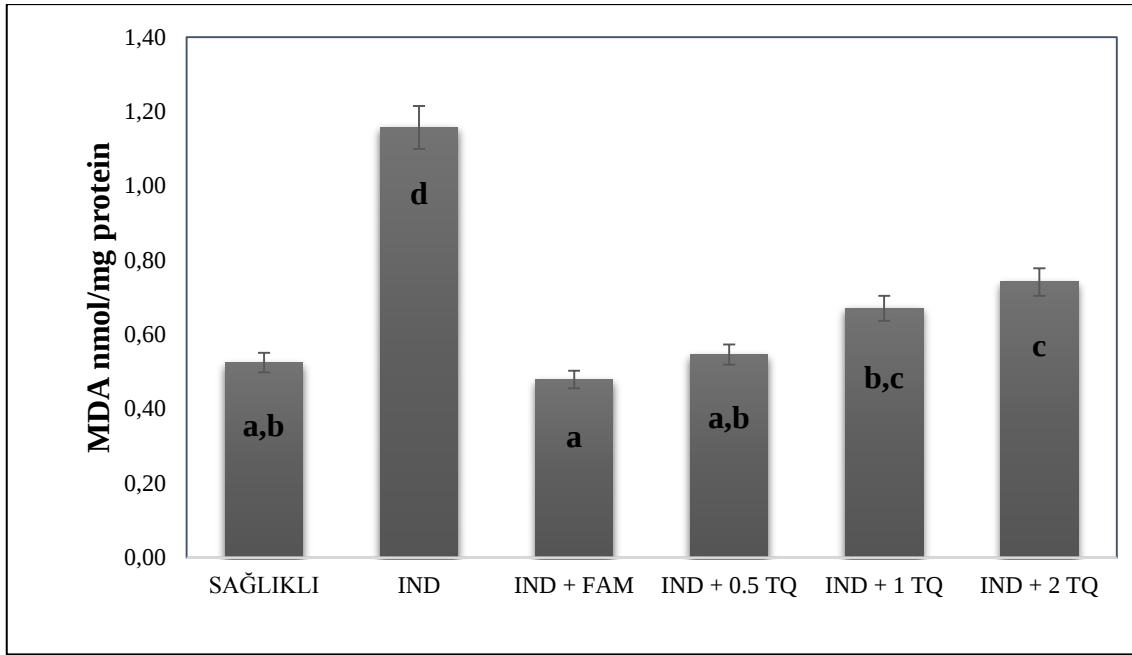


Şekil 4.4. Rat midelerinde ölçülen GSH seviyesinin grafiksel gösterimi

Sonuçlar, aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p>0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p<0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.

Sağlıklı, IND, IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ deney gruplarındaki GSH seviyeleri sırasıyla 1.93 ± 0.44 nmol/mg protein, 0.73 ± 0.17 nmol/mg protein, 1.99 ± 0.29 nmol/mg protein, 1.85 ± 0.37 nmol/mg protein, 1.71 ± 0.35 nmol/mg protein ve 1.29 ± 0.44 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2.).

Sağlıklı kontrol gruba göre IND grubunun GSH seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür ($p<0.05$). IND + FAM, IND + 0.5 TQ ve IND + 1 TQ grupları GSH seviyeleri sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ grupları IND grubunun GSH seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Etkisini denediğimiz TQ'nun dozları arasında ise en iyi etki 0.5 ve 1 mg/kg dozlarının olduğu gruplarda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.5. Rat midelerinde ölçülen MDA seviyesinin grafiksel gösterimi

Sonuçlar, aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı kabul edildi ($p>0.05$). Farklı harflerle gösterilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğu kabul edildi ($p<0.05$). Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulandı.

Sağlıklı, IND, IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ deney gruplarındaki MDA seviyeleri sırasıyla 0.52 ± 0.14 nmol/mg protein, 1.16 ± 0.22 nmol/mg protein, 0.48 ± 0.11 nmol/mg protein, 0.55 ± 0.21 nmol/mg protein, 0.67 ± 0.20 nmol/mg protein ve 0.74 ± 0.24 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2.).

Sağlıklı kontrol grubuna göre IND grubunun MDA seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür ($p<0.05$). IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ gruplarının MDA seviyeleri IND grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu görülmüştür ($p<0.05$). IND + FAM, 0.5 ve 1 mg/kg dozunu içeren TQ gruplarının sağlıklı grubu ile MDA seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Etkisini denediğimiz TQ'nun dozları arasında ise en olumlu etki 0.5 mg/kg dozlarının olduğu gruplarda olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

Ülser, hem kendi bünyesinde hem de beraberinde getirdiği komplikasyonlarla çok sayıda kişiyi olumsuz etkilemektedir. Ortaya çıkan olumsuz etkilerin tedavisi için pek çok araştırmalar yapılmış, birçok farklı tedavi tekniği ve yöntemi geliştirilmiştir. Ülsere en çok gastrointestinal sistemde karşılaşılmaktadır ve ülser denildiğinde ilk akla gelen mide ülserleridir. Mide gastrik mukozası sürekli olarak çevresel ve biyolojik birçok zararlı faktörlere maruz kalmaktadır. Bu endojen ve eksojen etkenlere maruz kalan mide gibi önemli bir organın korunması şüphesiz ki çok önemlidir. Gastrik mukozanın fonksiyonel bütünlüğü, zarar verici ve koruyucu mekanizmalar arasındaki denge ile sağlanmaktadır. Bu dengenin bozulması hücresel lezyonlara sebebiyet vererek ülser patogeneze katkıda bulunur.²⁶⁰ Dolayısıyla, mideyi koruyucu özelliklere sahip maddelerin hem insanlar hem de hayvanlar üzerinde halen daha araştırmaları ve denemeleri devam etmektedir.²⁶¹ Mide mukoza bütünlüğünün lokal hasar veya aktif bir enflamasyona bağlı olarak bozulmasındaki esas patolojik neden, gastrik asit sekresyonunun artmasından ziyade, gastrik mukozal bütünlüğün bozulması olduğu düşünülmektedir.²⁶² Bu mukozal bütünlüğün bozulmasında; sindirilen gıdalar (Alkol, NSAID, değişik ısıdaki gıdalar), çeşitli enfeksiyonlar (*Helicobacter pylori*), iskemi/reperfüzyon hasarı, endojen faktörler (fizyolojik gastrik asit üretimi, strese bağlı mukozal değişiklikler), gastroprotektif madde üretiminin azalması (gastrik musin, duodenal bikarbonat) ve COX inhibisyonuna bağlı prostaglandin sentezinin azalması (IND, aspirin, NSAID) gibi bazı faktörler sayılabilir.^{263, 264}

NSAİ ilaçlar, antienflamatuar, antipiretik ve analjezik özelliklerinden dolayı romatoid artrit ve osteoartrit gibi pekçok enflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanılırlar. Bu ilaçların kronik kullanımı sırasında gastrointestinal sistemde dispeptik semptomlar, kanama ya da ülser gibi yan etkiler oluşabilmektedir.²⁶⁵ Prostaglandinlerin

gastrointestinal mukoza homeostazını düzenleyici etkileri nedeniyle, NSAID'in gastrointestinal yan etkilerinin patogenezinde bu endojen maddelerin sentezinin inhibisyonunun önemli rolü olduğu kabul edilmektedir.²⁶⁶ Bu bilgiler ışığında, yapılan çalışmalarda NSAID etkisiyle oluşan gastrik mukozal hasarın, prostaglandin sentez inhibisyonunun yanı sıra gastrik motilite artışının, TNF- α , interleokin 1 (IL-1) gibi proenflamatuar sitokinlerin ya da iNOS gibi endojen moleküllerinin, serbest radikal oluşumunun ve buna bağlı lipid peroksidasyonunun ve nötrofil infiltrasyonunun da rol oynayabileceği belirtilmiştir.²⁶⁷ Bu nedenle, vazodilatör, antioksidan ya da antienflamatuar özellikteki ilaçların NSAID'in kullanımına bağlı gastrointestinal sistem üzerindeki ülseratif yan etkilerin azaltılmasında etkili olabilecekleri öngörülmektedir.²⁶⁸

İnsan ve hayvan sağlığını korumak amacıyla kullanılan ilaç ve gıdalar sağlıklı yaşam için risk oluşturmaktadır. Bu nedenle tıp ve veterinerlik hekim hem hastalıkların tedavisinde hem de koruyucu hekimlikte yapılan araştırmaların pek çoğunda bitkisel ürünlerin kullanımını teşvik etmektedir.²⁶⁹ Bu bitkisel ürünlerin gerçekten tedavi edici etkileri varsa bunun ortaya konulması; dünyada hızla gelişen herbal tedavi çalışmalarına katkı sağlayacaktır. Özellikle Türkiye gibi geniş bir bitki florası bulunan, ekonomik kaynakları kısıtlı ve sentez suretiyle ilaç yapım olanakları yeterli düzeye gelmemiş ülkelerde, doğal ürünlerden elde edilen ilaçların geliştirilmesi ve bu tür etkin ilaçların kullanılmasının teşvik edilmesi, yeterli ve ucuz ilaç sağlanması bakımından akılcı bir yaklaşımdır.²⁷⁰

Bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olan ülkemizde siyah tohum, siyah kimyon veya bereket tanesi olarak bilinen, çörek otu, Ranunculacea (Düğün çiçeğigiller) familyasının *Nigella sativa* türü olarak bilinir ve ülkemizde yaklaşık 12-14 arasında *Nigella* türü belirlenmiştir.⁸⁷ Bölgenin iklimine bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte *Nigella sativa* tohumlarının yapısında, uçucu yağlar, sabit yağlar,

proteinler, aminoasitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler, karbonhidratlar, mineraller, askorbik asit, tiamin, niasin, piridoksin ve folik asit bulunmaktadır. Bu bitkide farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca TQ, DTQ, THQ ve THY yer almaktadır.^{93, 271}

TQ, *Nigella sativa*'dan elde edilen aktif bir bileşen olup kanıtlanmış terapötik özelliklerinden dolayı sadece çörek otunda değil diğer birçok tıbbi bitkide bulunması nedeniyle popüler hale gelmiştir.¹⁰⁴ Ülkemizde olduğu gibi Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde çörek otu ve tohumundan elde edilen preparatlar, soğuk algınlığı, çeşitli romatizma ve iltihabi hastalıklar, idrar söktürücü, astım, gaz giderici ve sarılık gibi pek çok hastalığın alternatif tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.^{93, 271} Yapılan çalışmalar çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antikanserojenik¹³², antitümöral¹⁷², antiülserojenik³², antienflamatuar ve analjezik²⁶¹, antioksidan²⁷², bağışıklık sistemini güçlendirici¹⁸ etkilerinin olduğunu göstermektedir. Literatürde TQ'nun gastrointestinal sistem üzerine etkilerinin belirlendiği çalışmalar bulunmaktadır.^{22, 26-28, 31, 32} Yapılan bu araştırmalarda mide ile alakalı hayvan modelleri denenmiş ve literatüre kazandırılmıştır. Örneğin; Magdy ve arkadaşlarının²⁶ yapmış oldukları çalışmada, mide dokusu 30 dk boyunca pyloric ligasyona tabi tutulmuş ve hemen ardından 120 dk boyunca çölyak artere klem takılarak, iskemi oluşturulmuştur. Referans ilaç olarak omeprazol ve TQ'nun 10 ve 20 mg/kg dozları (% 1 Tween 80'de çözünerek) ratlara oral olarak verilmiştir. Etkin maddenin ve referans ilacın antiülser etkisi karşılaştırılarak ifade edilmiştir ve en iyi etkinin TQ'nun 20 mg/kg dozunun gösterdiği görülmüştür.²⁶ Diğer çalışmada El-Abhar ve arkadaşlarının²⁷, ratlarda I/R oluşturularak mide dokuları incelenmiştir. I/R durumunu elde edebilmek için kısaç ayrılmasıyla reperfüzyon oluşturulmuş ve grupta bulunan hayvanlar 2 seriye ayrılmıştır. 1. seri reperfüzyon sonrası 1 saat sonra sakrifiye edilmiştir. 2. seri 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir. İki

seride de hayvanlar 8 gruba ayrılmıştır. *Nigella sativa* ve TQ'nun belirli dozları 1 ve 24. saat sonrası değerlendirilmek için kullanılmıştır. I/R'ye maruz kalmış erkek Wistar cinsi ratlara *Nigella sativa* 2.5 ve 5 ml/kg ve TQ'nun 5, 20, 50 ve 100 mg/kg dozları oral olarak uygulanmıştır. *Nigella sativa*'nın her iki dozu ve TQ'nun 5 ve 20 mg/kg'lık dozları mide ülser alanlarını iyileştirmiştir. Bununla birlikte TQ'nun en etkili dozları 1. serinin 50 ve 100 mg/kg olarak kaydedilmiştir.²⁷ Kanter ve arkadaşlarının³² yapmış oldukları çalışmada ise, rat mide dokusunda etanol ile ülser modeli oluşturulmuştur. *Nigella sativa* (10ml/kg) ve TQ'nun (10 mg/kg) tek doz şeklinde ratlara gavaj yardımıyla oral olarak verilmiştir. 1 saat sonra da gruplara etanol aynı şekilde uygulanmıştır. *Nigella sativa* ve TQ'nun tek doz uygulaması kısmen ülser indeksini azalttığı ve ratlarda akut alkol alımının neden olduğu mide lezyonlarının tedavi edildiği gösterilmiştir.³² Arslan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir diğer çalışmada²², rat midelerinde etanol muamelesi sonucu oluşan ülsere karşı TQ'nun koruyucu etkisini araştırmıştır. 1, 5 ve 20 mg/kg dozlarındaki TQ, mısır yağında çözülerek ratlara oral olarak uygulanmıştır. TQ ve mısır yağını içeren gruplara etanol uygulaması 1 saat sonra aynı yolla verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, 20 mg/kg dozundaki TQ'nun mide yüzeylerinde meydana gelen hasarı iyileştirdiği tespit edilmiştir.²² Diğer bir çalışmada ise Abdelwahab ve arkadaşları²⁸, rat midelerinde etanol ile ülser oluşturarak TQ'nun ve TQ yüklü nano yapıllı lipid taşıyıcılarının (TQNLCs) gastroprotektif etkisini araştırmıştır. Referans ilaç olarak kullanılan omeprazol, TQ ve TQNLCs ratlara oral olarak verilmiştir. Ratların mide sıvısı toplanmış ve pH metre ile H⁺ konsantrasyonları ölçülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda, TQNLC'nin 60 mg/kg dozunun pH'sı nötre en yakın çıkmıştır ve ülser alanlarını iyileştirdiği tespit edilmiştir.²⁸

Ülser etiyolojilerin çok olmasından ötürü pek çok değişik ülserojenik etki mekanizmalar ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan değişik fizyopatolojik hadiseleri geriye

evirmek ve/veya tedavi etmek içinde birçok antiulserojenik etki mekanizması ortaya çıkmıştır. Günümüzde ülser ile başedeabilmek adına anti asit ilaçlar, proton pompası inhibitörleri, H₂-reseptör antagonistik tedavisi ve birçok antioksidan molekül ile tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Yeni tedavi seçeneklerini ortaya çıkarabilme adına bilhassa deney hayvanları ile de farklı etiyolojik sebepleri taklit eden ülser modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller aracılığıyla pekçok doğal ve sentetik madde farklı yöntemlerle denenmiş ve literatüre önemli katkılar sağlamıştır. Bu çalışmada da en çok karşılaşılan ülser nedenlerinden biri olan NSAI ilaçlarının yan etkilerini çalışmayı kararlaştırdık. NSAI ilaçlar içerisinde en çok yan etkisi olan ülser modelini çok kolay bir şekilde yapan, ençok kullanılan indometazinle uyarılmış deneysel hayvan modelini yapmaya karar verdik. TQ'nun şimdiye kadar yapılan çalışmalarda ülser koruyucu etkisinin denendiği pek çok model olmasına rağmen NSAI ilaçların yan etkilerine bağlı olarak oluşturulmuş ülser modellerine ilişkin herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Bu alışmamızda ratlarda IND ile oluşturulan ülser modeli zerine TQ'nun antiulserojenik etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

IND ile uyarılan ülser modeline uygun bir şekilde TQ'nun antiülser aktivitesini belirlemek için, 6'şar rattan oluşturulan deney grupları bir gün süreyle a bırakılmıştır. Daha sonra her bir grupta bulunan ratlara sırasıyla 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozlarda TQ, FAM (40 mg/kg) ve musluk suyu oral yoldan gavaj yardımıyla verildi. 5 dk sonra tüm hayvanlara (sağlıklı grup hariç) IND (25 mg/kg) yine aynı şekilde oral olarak verildi. Bu uygulamalardan 6 saat sonra ise yüksek dozda anestezik madde (thiopental sodium, 50 mg/kg) verilen hayvanlar sakrifiye edildi, sonra mideleri çıkarılarak büyük kurvartür boyunca açılıp serum fizyolojik ile yıkandı ve ülserli alanların sayısı ve boyutları makroskopik olarak incelendi.

Çalışmamızda IND ile indüklenen rat mide mukoza yüzeylerinde meydana gelen ülser doku hasarı (Şekil 4.2., Tablo 4.1.) TQ'nun 0.5, 1 ve 2 mg/kg dozlarda IND'ye göre azaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$). FAM'ın IND ile oluşturulan ülseri önemli oranda azalttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). TQ dozlarının arasında en iyi etkinin 0.5 TQ (0.5 mg/kg) grubunda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu dozun pozitif kontrol grubu olan FAM ile karşılaştırıldığında FAM grubuna yakın değerde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak TQ'nun IND tarafından oluşturulan ülser oluşumuna karşı koruyucu etki gösterdiğini belirlendi. Bu biyoaktif bileşiğin çok düşük dozlarda bile neredeyse FAM kadar etkili olduğu belirlendi. Daha önce yapılan diğer ülser modellerinde yapılan çalışmalarda TQ'nun çok daha yüksek dozlarda (40 mg/kg'a kadar) antiülser etki göstermesine rağmen bizim çalışmamızda son derece düşük dozlarda ülser koruyucu etki gösterdiğini belirledik. Bu farklılığın sebebini farklı ülser modellerine ve TQ'nun çözündüğü sistemlere bağlamak mümkün olabilir.^{22, 26} Diğer ülser modellerinde hayvanlar tamamen aç bırakılmamış olabilir bu nedenle yüksek dozlarda TQ'nun ülser koruyucu etkisi çıkmış olabilir.²⁸ Ayrıca TQ suda çözünürlüğü düşük bir molekül değişik çözücü sistemlerinde farklı etkiler sergileyebileceğini düşünüyoruz. Bizim çalışmamızında aslında en önemli bulgusu budur. Diğer çalışmalarda çok yüksek dozlarda ülser koruyucu etki gösteren TQ NSAİ ile uyarılmış ülser modelinde diğer çalışmalara oranla son derece düşük dozda ülser koruyucu etki göstermiştir.^{22, 26-28, 32} Bilindiği üzere çörek otu halk arasında neredeyse her kesim tarafından sıklıkla kullanılan bir baharat olmasının yanı sıra pek çok hastalıkta da önerilmektedir. Çörek otunun en önemli biyolojik aktif bileşiklerinden olan TQ'nun % 18.4-24 arasında^{22, 105} olduğunu düşünecek olursak bilhassa mide rahatsızlığı olan veya sürekli NSAİ ilaç kullanan kişilerin bu baharatı kullanma miktarında aşırılığa gitmeme konusunda literatüre katkı yapılması bu tez çalışmanın en önemli bulgusudur.

Ülser fizyopatolojisindeki en önemli belirtilerden biride oksidatif stres bağı olarak serbest radikallerin artmasıdır. IND ile indüklenen mide ülserinde serbest radikallerin oluşumunun arttığı pek çok çalışmada belirtilmiştir.²⁷³⁻²⁷⁶ IND'nin etkisiyle oksidatif strese bağlı oluşan mide mukoza tabakalarında reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri ve lipid peroksidasyonunun oluşumuna yol açtığı belirlenmiştir.²⁷⁷ Başta hidroksil radikali olmak üzere diğer radikaller de çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve bunun sonucunda hücre hasar meydana gelebilir.^{278, 279} Hücre homeostasis, hücre membranlarındaki lipid bariyerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğüne bağlıdır. Hücrede membran hasarına neden olan etkenler birçok patolojik olayın başlamasına katkıda bulunurlar. Hücre içinde radikal artışı veya dokularda antioksidan savunmanın azalması serbest radikal hasarına bağlı hücre ölümü, doku hasarı ve organ fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir.^{280, 281} IND ile oluşturulan mide ülserlerinde meydana gelen ROS birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığından antioksidan özelliğinden dolayı birçok deneysel ve klinik çalışmalarda TQ ve *Nigella sativa* ürünleri kullanılmıştır.¹⁰⁴ TQ'nun antiülserojenik etkiye sahip olduğu ve bu etkinin de kısmen radikal süpürücülerden³² kaynaklandığı belirlenmiştir.²⁷ IND tarafından oluşturulan ülser modelinde oksidatif stresin önemli ölçüde değiştiğini bilmemizden dolayı çalışmamızda antioksidan kapasitesi bilinen TQ'nun etkisini oksidatif stres üzerine olan en önemli belirteçlerden açıklamaya çalıştık.

TQ'nun antioksidan özelliği çeşitli mekanizmalarla aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bunlardan bazıları; TQ'nun antioksidan özelliğinden dolayı anyon temizleyici gibi davranıp oksijen radikallerini nötralize etme yeteneğine sahip olmasıdır.⁸⁹ TQ'nun yapısındaki kinon kuvvetli redoks özelliği göstererek, hücre içi bölümlere rahat bir şekilde ulaşabilir ve bu şekilde oksijen radikallerini temizleyebilme kapasitesindedir.⁸⁹

Yine enflamasyon durumunda makrofajlar ve nötrofiller gibi enflamatuar hücrelerden oksidanlar, eikozanoidler, sitokinler ve litik enzimler salınır. Bu süreçte rol oynayan LO ve COX yollarını TQ inhibe ederek antienflamatuar etkisiyle oksidatif stresi baskılar.¹²⁶ Başka bir metabolik yolda ise hücrel glutasyonu uyararak oksidatif stresi azalttığı antioksidan bir kanıt olarak gösterilmiştir.²⁸² ROS'lerin vücutta meydana getirdiği hasarı önlemek için enzimatik olan (CAT, SOD, GSH-Px vb.) ve olmayan (GSH, vitamin vb.) antioksidan savunma sistemleri vardır. Bu sistemler, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROS'leri toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.¹⁸⁸ Oksidatif stres prooksidan ve antioksidanlar arasındaki denge yönünün prooksidanlar üzerine dönmesi sonucu oluşur.²⁸³ Bu antioksidan savunma sistemleri, dokuları ve hücreleri dengeyi sağlayarak oksidatif hasardan korur.²⁸³

SOD, hem sitozol, hem de mitokondrilerde bulunan süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksida dismutasyonunu katalizleyen, hücreleri süperoksit radikalinin zararlı etkilerinden koruyan en önemli antioksidan enzimlerden biridir.²⁸⁴ Oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde bulunur. Süperoksit hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve bu nedenle SOD anahtar bir antioksidan olarak rol oynar. Süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısı olarak “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır.¹⁹⁶ Süperoksit düzeylerini kontrol altında tutulması son derece önemlidir. Süperoksit'in kendisi aslında çok zararlı bir radikal değildir. Ancak Süperoksit kontrol edilemediği zaman çok daha etkili olan hidroksil radikallerinin oluşmasına katkıda bulunacaktır. Aynı zamanda SOD lipid peroksidasyonunu da inhibe ederek süperoksit oksijen radikallerinin hücrelere olan zararlarını bloke etmesini sağlamaktadır.²³⁸ İskemi reperfüzyon ve alkol ile oluşturulan çeşitli ülser modellerinde^{26, 27, 32} ve NSAİ ilaç olan IND ile muamele edilen rat mide

dokularında, SOD aktivitesinin azaldığına ilişkin birçok çalışma bulunmaktadır.^{14, 285-287} İndometazin'in SOD aktivitesini hangi mekanizma ile inhibe ettiğine ilişkin henüz kesin olarak açıklığa kavuşturulmuş değildir. ROS'lerin üretildiği yerde SOD'yi de içine alan antioksidanların varlığı, IND ile uyarılan patojenezin kontrol edilmesinde koruyucu bir faktör olarak davranır.²⁸⁸ Bizim bulgularımız daha önce yapılmış olan çok sayıda çalışma ile uyum içerisinde olacak şekilde IND uyarılan ülser dokularında SOD aktivitesini inhibe olduğunu görmekteyiz.^{14, 285-287} Daha önceki araştırmalarımızda IND tarafından inhibe edilen SOD aktivitesinin, antioksidan moleküllerin ve referans ilaç olan FAM tarafından yeniden artırıldığı ve bunun da oksidatif hasarı kısmen engelleyerek gastrik hasarın giderilmesinde rol oynadığı düşünülebilir.²⁸⁵⁻²⁸⁷ Cu, Zn ve Mn kompleksleri ile yapılan çalışmalarda SOD aktivitesi ile prostaglandin sentezi arasında bir ilişkiye işaret edilmekte ve IND ile oluşturulan ülser modelinin olası mekanizmalarından birisi olarak kabul edilmektedir.²⁸⁸⁻²⁹⁰ IND ile muamele sonucu prostaglandin konsantrasyonu azalsa da Mn ve Cu komplekslerinin gastrik korumadaki katkıları önemlidir. Bunun yanı sıra Cu ve Mn kompleksleri tarafından sağlanan gastrik korumaya sadece prostaglandinler değil serbest radikal süpürücüler gibi diğer faktörler de katkıda bulunurlar.²⁸⁸ Bu araştırmalar ışığında ele alındığında önemli bir antioksidan olan TQ'nun IND ülserleri üzerine koruyucu etkisini mide prostaglandin seviyeleri etkileyerek yaptığını düşünmekteyiz.

Literatürdeki kayıtlarda El-Abhar ve arkadaşlarının²⁷ I/R ile indüklenerek ülser oluşturulan bir modelinde *Nigella sativa* uçucu yağı (2.5 ve 5 ml/kg) ve TQ'nun (5, 20, 50 ve 100 mg/kg) antiülser etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda göre I/R grubunda meydana gelen komplikasyonlar nedeniyle SOD aktivitesinde azalma görülmüştür. *Nigella sativa* uçucu yağı ve TQ'nun artan dozlarında bu düşük SOD seviyesi orantılı bir şekilde artırılmıştır.²⁷ Bir başka çalışmada³² mide yüzeyinde etanol

ile oluşturulan oksidatif strese karşı *Nigella sativa* (10 ml/kg) ve TQ'nun (10 mg/kg) etkisi incelenmiştir. Farelerden elde edilen ölçümlerde sadece etanol verilen grupta SOD seviyesi azalırken, tedavi grupları tek doz şeklinde verildiğinde etanol kaynaklı mide lezyonlarını inhibe etmiştir ve SOD enzim aktivitesini artırmıştır.³² Yine I/R ile oluşturulan ülser modelinde²⁶, oksidatif strese karşı TQ'nun (10 ve 20 mg/kg) etkisi incelenmiştir ve referans ilaç olarak omeprazol (10 ve 20 mg/kg) kullanılmıştır. I/R grubunda SOD enzim aktivitesinin değeri azalırken, TQ'nun yüksek dozu ile referans ilaç olarak kullanılan omeprazol benzer şekilde mide asit salgılanmasını inhibe ederek SOD enzim aktivitesini artırmıştır.²⁶ Bunlara paralel olarak bizim bulgularımızda da IND uygulanan grupta oluşan mide ülserinin SOD aktivitesini azalttığı, bunun yanı sıra tedavi gruplarında ise SOD aktivitesinin belirgin bir şekilde artış gösterdiği saptanmıştır. Özellikle TQ'nun dozları arasında ise en iyi etki 0.5 ve 1 mg/kg dozlarının olduğu gruplarda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu değerlerin FAM grubuna yakın olduğu, IND grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlediğini söyleyebiliriz ($p < 0.05$) (Tablo 4.2.). Bu da TQ'nun, midede oluşan oksidatif stresin azalmasını, tedavisi üzerine olumlu etkisinin olduğunu ve antioksidan özellik gösterdiğini desteklemektedir.

Organizmanın bütün hücrelerinde bulunan ve hücrelerin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin % 90 kadarını oluşturan GSH, zararlı bileşiklerin etkisizleştirilmesinde önemli role sahiptir. Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan GSH, biyolojik membranları enzimatik olarak lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır.²⁹¹ GSH, hem radikal kaynaklı hasara karşı korur hem de antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar. Özellikle peroksidaz ve redüktaz enzimlerinin aktiviteleri için son derece önemlidir. İndirgenmiş glutatyonun (GSH) yükseltgenmesiyle oluşan GSSG miktarı oksidatif stres sırasında

artar. Dolayısıyla ortamda biriken H_2O_2 ve organik hidroperoksitler glutatyon peroksidaz ve redüktaz enzimi etkisiyle ortadan kaldırılırlar. Bu bileşiğin aktif bir şekilde hücre dışına çıkarılması GSH tükenmesine yol açmaktadır. Ayrıca GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini de engeller. Proteinlerdeki -SH gruplarının redükte halde kalmasını sağlayarak oksidasyona uğramalarını engeller.²⁹²

Glutatyonun oksidatif strese karşı koruyucu rollerini özetleyecek olur isek: ²⁹³ GPx gibi bazı detoksifiye edici enzimlerin kofaktörüdür. GSH plazma membranındaki aminoasit transportunda rol oynar. GSH hidroksil radikalleri ve tek oksijeni temizler, hidrojen peroksit ve lipid peroksidazları detoksifiye eder. GSH önemli antioksidanların (C ve E vitamini) aktif formlarına dönüşmesini sağlar; GSH, tokoferol radikalini E vitaminine direk olarak indirger. GSH tarafından oluşturulan önemli antioksidanların kapasitesi glutatyon/glutatyon-disülfid (GSG/GSSH) çiftinin redoks durumuna bağlıdır.²⁹⁴

Yapılan birçok çalışmada; çeşitli stres faktörlerinin, ROS'lerin oluşumunu hızlandırdığı ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı ve GSH seviyelerinde bu süreçlerde önemli derece etkilendiği belirlenmiştir.²⁹⁵ İn vivo ve in vitro yapılan deneylerde, endojen GSH'ın çeşitli hasarlarda mide mukozası bütünlüğünün korunmasında önemli bir mediatör olabileceği ileri sürülmektedir. Peptik ülserli insanlarla normal insanları karşılaştıran bir klinik çalışmada, ülserli insanlarda mukozal GSH düzeylerinin sağlıklı insanlara göre daha az olduğu belirtilmiştir. GSH'da ki azalmanın bu sebebi; serbest radikallerin ülserli bölgede artan nötrofil faaliyeti sonunda GSH'ın fazla tüketilmesi ile ortaya çıkabileceği öne sürülmüştür.²⁹⁶ *Nigella sativa* ve onun aktif bileşeni olan TQ'nun rat midelerinde meydana gelen ülseri korumada ne kadar etkili olduğu başka bir çalışmada da belirtilmiştir.²⁷ I/R ile mide yüzeyinde yaralar oluşturulup, *Nigella sativa*

ve TQ'nun antiülser ve antioksidan etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, I/R ülserli grubun GSH seviyesinde azalma olmuştur. Yüksek TQ dozları (50 ve 100 mg/kg) reperfüzyondan 1 saat sonra GSH seviyesini ciddi olarak artırmıştır ve mide yüzeyindeki ülseratif lezyonlar azaltılmıştır.²⁷ Arslan ve arkadaşlarının²² yapmış olduğu çalışmada, TQ'nun ratlarda akut gastrik ülseri koruyucu etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla etanol ile gastrik hasar oluşturup, TQ'nun antiülser ve antioksidan etkileri incelenmiştir. Elde edilen verilere göre, rat mide dokularında etanol ile indüklenen ülserli grubun GSH seviyesinde azalma olduğu gösterilmiştir. TQ'nun (20 mg/kg) verildiği ülserli grupta GSH salımını artırıp antiülserojenik etki göstermiştir.²² Yine başka bir I/R ile oluşturulan mide ülser modelinde,²⁶ ratlarda mide mukoza hasarı üzerine TQ'nun koruyucu etkisi incelenmiş ve referans ilaç olarak omeprazol kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, I/R ülserli grupta, GSH seviyesi azalırken, TQ'nun 20 mg/kg dozunda GSH seviyesi yükselmiş ve omeprazol ile birbirine yakın değere ulaşmıştır.²⁶

Tüm bu çalışmalara paralel olarak bizim bulgularımızda da, IND uygulanan grupta oluşan mide ülserinin GSH seviyesini azalttığı, bunun yanı sıra TQ uygulanan gruplarda ise GSH seviyesinde belirgin bir artış gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda TQ'nun azalan dozları, sağlıklı grup ve FAM grubuna da benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. TQ'nun 0,5 ve 1 mg/kg dozlarını içeren tedavi grupları, FAM grubu ve sağlıklı grubun GSH seviyeleri, IND ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlara göre TQ'nun dozları arasında ise en iyi etki 0.5 ve 1 mg/kg dozlarını içeren grup, sağlıklı ve FAM grubuna daha yakın değerlerde olduğu için en etkili antiülserojenik özelliğe sahip olduğunu söyleyebiliriz. GSH seviyelerindeki bu etkinin kinon yapısındaki TQ bileşiğinin antioksidan zelliğinden kaynaklanması mümkün olabilir.

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna sebep olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan biyokimyasal bir süreçtir.¹⁹⁵ Membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol gibi poliansatüre yağ asitlerinin, ROS tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar.^{295, 297} ROS'ların başlattığı lipid peroksidasyon zincir reaksiyonu sonucunda LOOH ve konjuge dienler oluşur. LOOH ve konjuge dienler de daha sonra alkan aldehitleri alken aldehitler, hidroksialken aldehitler, malondialdehit (MDA) ve uçucu hidrokarbonlar oluşturmak üzere parçalanırlar. Peroksidasyonla oluşan ve son aldehit ürünlerinden olan MDA, membran bileşenlerinin çarpaz bağlanarak polimerizasyonuna yol açmaktadır. Bununda, hücre membranının şekil değiştirebilme, iyon transportu, enzim aktivitesi, protein sentezini, hücre yüzey bileşenlerinin bütünlüğünün korunması gibi intrinsik özellikleri değiştirdiği, inhibe ettiği, makrofaj hareketlerini durdurduğu ve kemotaksise neden olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca MDA difüzyon özelliğine sahip olduğu için DNA'nın azot bazları ile de reaksiyon verdiği ve bütün bu özelliklerinden dolayı lipit peroksidasyonun göstergesi olarak MDA'nın ölçümünün biyolojik olarak önemli olduğu bilinmektedir.¹⁸⁸

MDA yağ asiti oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir. Fakat lipit peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Bu sebeple organizma da oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu metot MDA ile tiobarbitürik asitin (TBA) reaksiyonu temeline dayanır. MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu

kompleksin ölçümü ile elde edilen absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi belirlenmektedir.²⁹⁸ Gastrik ülserli insanlarla sağlıklı insanları karşılaştıran bir klinik çalışmada, ülserli insanlarda mukozal MDA düzeylerinin sağlıklı insanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. MDA düzeylerinin yüksek olmasının sebebi serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir.²⁹⁶

Nigella sativa'nın biyoaktif bileşeni olan TQ'nun ratlarda mide ülserini önleme kabiliyetinin olup olmadığını saptamak amacıyla etanol ile gastrik hasar oluşturulup, antiülser ve antioksidan etkileri incelenmiştir.²² Elde edilen sonuçlara göre, etanol kaynaklı ülser oluşturulduktan sonra, rat mide doku ve plazma içinde lipid peroksidasyon seviyesi ve MDA düzeyinde artış olduğunu gösterilmiştir. TQ (20 mg/kg) verilen grupta, lipid peroksidasyonu inhibe edilerek MDA seviyesi azaltılmıştır. Dolayısıyla, etanol ile indüklenen gastrik ülserin gelişimini TQ'nun tedavi edebileceği söylenebilir.²² Yapılan bir diğer araştırmada,³² yine ratlarda etanol ile oluşturulan mide ülserine karşı *Nigella sativa* (10 ml/kg) ve TQ'nun (10 mg/kg) etkisi incelenmiştir. Rat mide dokusundan elde edilen sonuçlarda, ülserli grupta MDA seviyesi yükselmiştir. Tedavi grupları tek doz oral olarak verildiğinde etanol kaynaklı mide lezyonlarını inhibe etmiştir ve bu yüzden TQ ve *Nigella sativa* MDA seviyesini azaltmıştır. Bu sonuçlara bağlı olarak antioksidan savunma sistemini artırarak ve ülser alanlarını azaltarak tedavi ettiğini söyleyebiliriz.³² Yine ratlarda I/R ile oluşturulan mide ülserinde,²⁶ iske miyle beraber oluşan ROS hasarda rol oynarken, paradoks olarak reperfüzyonla beraber biriken maddelerin dolaşıma yeniden katılmasıyla hasar şiddetlenir. Bu hasarı önleyebilmek için TQ gibi maddelerin antiülser ve antioksidan etkileri bakılarak incelemeler yapılmıştır. Bu incelemeler sonucunda, I/R ile indüklenen ülserli grubun MDA seviyesi artarken, TQ'nun 20 mg/kg'lık uygulanan dozu MDA seviyesini azaltmıştır. TQ, ROS temizleyicilerin üretimi artmasıyla, asit salgılanmasını ve nötrofil

infiltrasyonunu inhibe edilmesiyle, yeni bir gastroprotektif mekanizmaya sahip olabileceğini göstermiştir.²⁶

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, IND uygulanarak oluşturulan gastrik hasarda oksidatif stres yüzünden MDA seviyesi artırılmıştır. TQ uygulanan gruplarda ise MDA seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiş ve bu değerin sağlıklı gruba benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. IND + FAM, IND + 0.5 TQ, IND + 1 TQ ve IND + 2 TQ gruplarının MDA seviyeleri IND grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltılmış olduğu görülmektedir ($p<0.05$). En iyi etkinin TQ'nun 0.5 mg/kg'lık dozunda belirlendiği ve bu etkinin de FAM verilen gruba yakın değerde olduğu tespit edilmiştir. MDA değerlerinde ki bu düşüşün sebebini, TQ'nun oluşan oksidatif strese karşı lipid peroksidasyonunu inhibe ederek koruyucu etki göstermesine bağlayabiliriz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, toplumumuzun büyük kısmı tarafından reçetesiz olarak dahi kullanılabilen NSAİ ilaçların yan etkileri sonucu olarak ortaya çıkan ülserleri önleyebilmek için basit, kolay, ulaşılabilir ve ucuz bir yaklaşımla halk arasında sıklıkla kullanılan çörek otunu kullanmayı tavsiye ediyoruz. Bu önerimizi literatürde sıklıkla kullanılan deneysel model olan IND ile ispatlamaya çalıştık. IND ile oluşturulan mide ülseri modelinde rat mide dokusunda TQ'nun koruyucu etkisi oksidan/antioksidan dengesi üzerine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu doğrultuda biyokimyasal parametrelerden SOD enzim aktivitesi, GSH ve MDA seviyesindeki değişiklikleri olumlu yönde etkileyerek koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonuçlarında elde edilen verilere göre; SOD enzim aktivitesi, GSH ve MDA seviyesindeki olumlu etkileri TQ'nun antiülserojenik etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Dolayısıyla oksidan/antioksidan parametreler ile belirlenen oksidatif stresin TQ ile azaltılabileceği gösterilmiştir. Hatta günümüzde ülser rahatsızlıklarında sıklıkla kullanılan FAM gibi, ilaçlara yakın değerinde mide koruyucu özelliği söylenebilir.

Bu çalışma ile daha önce hem çörek otunun hem de TQ'nun ülser üzerine yapılmış in-vivo ve in-vitro modellerdeki antiülserojenik etkisi desteklenmektedir.

Fakat bu etki farklı modellerde farklı mekanizmalarla işleyebilmektedir. Ülser alanlarındaki azalma, TQ'nun farklı dozlarında belirlenerek birçok modelde gerek ülser koruyucu diğer ajanlarla desteklenerek gerekse sadece TQ verilerek ispatlanmıştır.^{22, 26} Önceki yapılan çalışmalarda TQ'nun 10-60 mg/kg dozlarında etki göstermesine rağmen bizim çalışmamızda çok küçük dozlarda 0.5 ile 2 mg/kg dozlarında ülser koruyucu bir etki bulunmuştur. Bunun nedeninin IND ile uyarılan modelden kaynaklandığını düşünüyoruz. TQ'nun güçlü bir antioksidan ve antiülser potansiyele sahip olduğunu yani mide mukozasında meydana gelen oksidatif hasarı azaltması, serbest radikalleri inhibe etmesi ve antioksidan düzeylerinin iyileştirerek daha etkin bir koruma sağladığını gözler önüne sermektedir. Dolayısıyla klinik olarak kullanılan diğer antiülser etkili ilaçlara eşdeğer olabileceğini söyleyebiliriz. Bunun yanı sıra bu bitkinin herkes tarafından kolayca temin edilebilmesi de diğer bir avantajdır. Yine, olumlu yönde katkısı göz önünde bulundurulduğunda sadece mide ülseri ile ilgili olaylarda değil vücudumuzun her dakika maruz kaldığı oksidatif stress ile ilişkili tüm olaylarda bu bitkiyi rahatlıkla kullanabiliriz. Ancak burada dikkat edilmesi gereken en önemli olaylardan biride dozdur. Bilhassa NSAI ülserlerinden şikayet eden bireylerin tüm diğer antioksidan ve ilaçlarda olduğu gibi çörek otu kullanırken tüketilen miktarına dikkat edilmesi ülser koruyucu bir etki beklerken tersi bir etki ile karşılaşılması adına önemlidir.

TQ, birçok bitkinin bileşenleri arasındadır ama en çok çörek otunda bulunur. Bu maddeyi sentez ederek ya da bitkilerden izole etmek suretiyle doğal bileşiğin ve sentez edilen molekülün hem in-vitro hem de in-vivo çalışmalarda kıyaslama çalışmaları yapılabilir. Deneysel hayvan modellerinde doğrudan klinik uygulamalara uyarlanmasa da yaptığımız çalışmanın sonuçlarının bu konuya ışık tutmasını ümit ediyoruz. Literatürlerde farklı ülser modelleriyle TQ'nun koruyucu etkisi ifade edilse de ilk kez

TQ'nun IND ile indüklenen mide ülserinde koruyucu etkisini belirleyerek biyokimyasal mekanizması literatürlere kazandırılmıştır. Diğer farklı deneysel modellere de uygulanarak ilaç araştırmalarında değerlendirebileceği kanaatindeyiz. Ayrıca, TQ suda çözünürlüğü az olan ve çok aktif bir bir moleküldür. Etkinliğini artırabilme adına farklı taşıyıcı sistemler ile bu bileşiğin çok daha düşük dozları kullanarak gastrointestinal sistem dahil birçok hastalığa karşı koruyucu etkileri ortaya çıkarılabilir. Bunun gibi çalışmalarda saf maddeler bitkisel tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde ve ilaç dünyasında insanlığın faydasına sunulabilir.

KAYNAKLAR

1. Cho CH, Koo MW, Garg GP, Ogle CW. Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications. *Scand J Gastroenterol*, 1992, 27: 257-262.
2. Feldman M, Scharschmidt B, Sleisenger M. Peptic ulcer and its complications. *Sleisenger Fordtran's Gastrointestinal and Hepatic Disease: Pathophysiology, Diagnosis Management. 6th ed. Philadelphia: Saunders* 2000: 620-678.
3. Chan FK, Leung WK. Peptic-ulcer disease. *Lancet*, 2002, 360: 933-941.
4. Szabo S. Gastroduodenal mucosal injury--acute and chronic: pathways, mediators, and mechanisms. *J Clin Gastroenterol*, 1991, 13 Suppl 1: S1-8.
5. Lam SK, Hui WM, Ching CK, Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE. Peptic Ulcer Disease: Bockus Gastroenterology. Epidemiology, Pathogenesis and Etiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1995: 700-748.
6. Erkan T, Kutlu T, Çullu F, Göksel S, Tümay GT. Peptik ülserli olgularımızın retrospektif dökümü. *Cerrahpaşa J Med*, 1998, 29: 84-88.

7. Song-Ze D, Shiu-Kum L, Siu-Tsan Y, Benjamin Chen-Yu W, Wei-Mo H, Joanna H, Xin G, Chi-Hin C. Prostaglandin, tumor necrosis factor α and neutrophils: causative relationship in indomethacin-induced stomach injuries. *European Journal of Pharmacology* 1998, 348: 257-263.
8. Kautman LG, Steinbach HJ. Gastric bicarbonate secretion: Effects of pH and topical 16-16 dimethyl prostaglandin E₂. *Surgery*, 1984, 89: 324-328.
9. Wallace JL, Granger DN. Pathogenesis of NSAID gastropathy: are neutrophils the culprits? *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13: 129-131.
10. Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation*, 2000, 101: 1206-1218.
11. Tandon R, Khanna HD, Dorababu M, Goel RK. Oxidative stress and antioxidants status in peptic ulcer and gastric carcinoma. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2004, 48: 115-118.
12. Madamanchi RN, Marschall R. Oxidative stress, antioxidants and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2005, 24: 29-38.
13. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 44-84.
14. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103: 59-65.
15. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Arch Pharm Res*, 2007, 30: 1426-1434.

16. Wang HX, Ng TB. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sci*, 1999, 65: 2663-2677.
17. Wagner H, Fransworth NR. Economic and medicinal plant research, vol. 4, plants and traditional medicine. Academic Press, London. 1990.
18. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5: 1749-1770.
19. Medenica R, Mukerjee S, Muschart T, Koffskey J, Corbit W. *Nigella sativa* plant extract increases number and activity of immune component cell in humans. *Exper Hematol*, 1993, 21: 1186.
20. Pagola S, Benavente A, Raschi A, Romano E, Molina MA, Stephens PW. Crystal structure determination of thymoquinone by high-resolution X-ray powder diffraction. *AAPS PharmSciTech*, 2004, 5: 28.
21. Gali-Muhtasib H, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone: a promising anti-cancer drug from natural sources. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38: 1249-1253.
22. Arslan SO, Gelir E, Armutcu F, Coşkun O, Gurel A, Sayan H, Çelik IL. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutr Res*, 2005, 25: 673-680.
23. Awad EM. In vitro decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. *Phytomedicine*, 2005, 12: 100-107.
24. Al-Naggar TB, Gomez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM. Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *J Ethnopharmacol*, 2003, 88: 63-68.

25. Aljabre SH, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacol*, 2005, 101: 116-119.
26. Magdy MA, Hanan el A, Nabila el M. Thymoquinone: Novel gastroprotective mechanisms. *Eur J Pharmacol*, 2012, 697: 126-131.
27. El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84: 251-258.
28. Abdelwahab SI, Sheikh BY, Taha MM, How CW, Abdullah R, Yagoub U, El-Sunousi R, Eid EE. Thymoquinone-loaded nanostructured lipid carriers: preparation, gastroprotection, in vitro toxicity, and pharmacokinetic properties after extravascular administration. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 2163-2172.
29. El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM. Effects of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*, 2000, 72: 299-304.
30. Al Mofleh IA, Alhaider AA, Mossa JS, Al-Sohaibani MO, Al-Yahya MA, Rafatullah S, Shaik SA. Gastroprotective effect of an aqueous suspension of black cumin *Nigella sativa* on necrotizing agents-induced gastric injury in experimental animals. *Saudi J Gastroenterol*, 2008, 14: 128-134.
31. Kanter M, Coskun O, Uysal H. The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Arch Toxicol*, 2006, 80: 217-224.
32. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 6662-6666.

33. David A. Stomach. Histology for Pathologist, second edition. Edited by Stephen S. Sternberg, Chapter. 1997, 20: 481-493.
34. Kural O. Systema Digestorum- Sindirim Sistemi, Ventriculus Gaster. Mide Sistematik Anatomi. 1990: 388-396.
35. Dobrucali A. <http://www.drahmetdobrucali.com/mide-kanseri/>.
36. Kaplan A, Alaettin E. Anatomi ders kitabı 1.Cilt. Güneş Kitabevi 2.Baskı, Ankara. 1997: 304-308.
37. Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm Drug Dispos*, 1995, 16: 351-380.
38. Molinari SL, Fernandes CA, Oliveira LRd, SantAna DdMG, Neto M. NADH diaphorase positive myenteric neurons of the aglandular region of the stomach of rats subjected to desnutrition. *Rev. chil. anat*, 2002, 20: 19-23.
39. Naumann M, Crabtree JE. Helicobacter pylori-induced epithelial cell signalling in gastric carcinogenesis. *Trends Microbiol*, 2004, 12: 29-36.
40. Özgür H. Gastrik Adenokarsinom'larda Her-2/neu (c-erbB-2) Ekspresyonunun Klinik ve Patolojik Parametrelerle Karşılaştırılması ve Prognostik Önemi. 2005.
41. Kılıçarslan H, Kalyon S, Yenice N. Peptik Ülser Etyopatogenezi. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 2011, 27(2): 65-69.
42. Harmancı Ö, Sivri B. Peptik Ülser Tedavisi. *Hacettepe Üniversitesi, Dahili Tıp Bilimleri Dergisi*, 2005, 12(1): 14-20.
43. Akdemir N, Birol L. İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı, 2.Baskı, Ankara, Sistem Ofset. 2005: 629-635.
44. Kurata JH. Ulcer epidemiology: an overview and proposed research framework. *Gastroenterology*, 1989, 96: 569-580.

45. Kurata JH, Haile BM. Epidemiology of peptic ulcer disease. *Clin Gastroenterol*, 1984, 13: 289-307.
46. Kurata JH. Epidemiology of peptic ulcer disease. In: Swabb EA, Szabo S, eds: *Ulcer Disease, Investigation and bases for therapy*, New York: Marcel Ackker. 1991: 31.
47. Schoen RT, Vender RJ. Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. *Am J Med*, 1989, 86: 449-458.
48. Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med*, 1999, 340: 1888-1899.
49. Rich M, Scheiman JM. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy at the new millennium: mechanisms and prevention. *Semin Arthritis Rheum*, 2000, 30: 167-179.
50. Bures J. Gastric and duodenal ulcers etiopathogenesis, diagnosis and therapy at the milestone of the 20th century. *Vnitr Lek*, 2004, 50 Suppl 1: 91-93.
51. Menteş NK. Klinik Gastroenteroloji, 4. Basım, İzmir. Ege Tıp Fak Mat. 1982: 145.
52. Peterson WL, Barnett C, Walsh JH. Effect of intragastric infusions of ethanol and wine on serum gastrin concentration and gastric acid secretion. *Gastroenterology*, 1986, 91: 1390-1395.
53. Tarnawski A, Brzozowski T, Sarfeh IJ, Krause WJ, Ulich TR, Gergely H, Hollander D. Prostaglandin protection of human isolated gastric glands against indomethacin and ethanol injury. Evidence for direct cellular action of prostaglandin. *J Clin Invest*, 1988, 81: 1081-1089.

54. Stern AI, Hogan DL, Isenberg JI. A new method for quantitation of ion fluxes across in vivo human gastric mucosa: effect of aspirin, acetaminophen, ethanol, and hyperosmolar solutions. *Gastroenterology*, 1984, 86: 60-70.
55. Grossman MI. Peptic Ulcer: A Guide for the Practicing Physician. Chicago, Year Book, Medical Publisher. 1981: 1-35.
56. Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science*, 1993, 262: 1892-1895.
57. Langman MJ, Cooke AR. Gastric and duodenal ulcer and their associated diseases. *Lancet*, 1976, 1: 680-683.
58. Bonnevie O. Causes of death in duodenal and gastric ulcer. *Gastroenterology*, 1977, 73: 1000-1004.
59. Yılmaz E. Etil Alkolle Oluşturulan Akut Mide Mukoza Hasarı Üzerine *Matricaria chamomilla* L.'nin Antiülser ve Antioksidatif Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi. 2007.
60. Schwartz K. Über penetrierende magenud jejunalgeschwüre. *Beitr Klin Chirurgie* 1910: 96.
61. Spiro HM. Visceral viewpoints. Moynihan's disease? The diagnosis of duodenal ulcer. *N Engl J Med*, 1974, 291: 567-569.
62. Crean GP, Spiegelhalter DJ, Brooks FP, Cohen S, Soloway RD. Symptoms of peptic ulcer. Peptic ulcer Disease. *Churrchill Livingstone*, 1985.
63. Horrocks JC, De Dombal FT. Clinical presentation of patients with "dyspepsia". Detailed symptomatic study of 360 patients. *Gut*, 1978, 19: 19-26.

64. Memik F. Her Yönüyle Peptik Ülser. Nobel & Güneş Tıp kitabevi. İstanbul 1. Basım. 2003: 1-115.
65. Simsek İ. Helicobakter Pylori'nin Neden Olduğu Hastalıklar ve Etki Mekanizması, Asit İle İlgili Sindirim Sistemi Hastalıkları, İzmir, AstraZeneca. 2008.
66. Özkan H, Bektas A, Özkan H. Gasroözafageal Reflü ve Peptik Ülser, Biofarma İlaç Sanayi ve Ticaret A.S, Ankara. 2003.
67. Kahan S. Her Sayfada Bir Hastalık İç Hastalıkları, Global Publishing, İstanbul. 2005.
68. Özkan H. GÖRH ve Gasrit-Peptik Ülser hastalığı. 2006: 160-161.
69. Çevikbas U, Güllüoglu M. Ağız Boşluğu ve Gastrointestinal Sistem, Basic Pathology Temel Patoloji, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul. 2000
70. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. İç Hastalıkları, 1. Baskı, İstanbul Medikal Yayıncılık. 2007, 9: 782-794.
71. Langtry HD, Grant SM, Goa KL. Famotidine. An updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in peptic ulcer disease and other allied diseases. *Drugs*, 1989, 38: 551-590.
72. Richter JM, Colditz GA, Huse DM, Delea TE, Oster G. Cimetidine and adverse reactions: a meta-analysis of randomized clinical trials of short-term therapy. *Am J Med*, 1989, 87: 278-284.
73. Lew EA. Review article: pharmacokinetic concerns in the selection of anti-ulcer therapy. *Aliment Pharmacol Ther*, 1999, 13 Suppl 5: 11-16.
74. Peterson WL, Sturdevant RAL, Frankl HDea. Healing of duodenal ulcer with an antacid regimen. *N Engl.J Med*, 1997, 297: 341-345.
75. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G, European Helicobacter Pylori Study G. Current concepts in the

management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, 16: 167-180.

76. American Gastroenterological Association medical position statement: evaluation of dyspepsia. *Gastroenterology*, 1998, 114: 579-581.

77. Kayaalp SO. NSAİİ, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2.Cilt 11. Baskı Haccetepe-Taş Yayıncılık 2005: 837-870.

78. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scand J Rheumatol Suppl*, 1996, 102: 9-21.

79. Sant SM, Cahill RJ, Gilvarry J, O'Morain CA. Do non-steroidal anti-inflammatory drugs have an effect on gastric cell turnover? *Aliment Pharmacol Ther*, 1995, 9: 575-579.

80. Sergeeva MG, Gonchar MV, Grishina ZV, Mevkh AT, Varfolomeyev SD. Low concentrations of nonsteroidal anti-inflammatory drugs affect cell functions. *Life Sci*, 1995, 56: 313-319.

81. Levi S, Shaw-Smith C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: how do they damage the gut? *Br J Rheumatol*, 1994, 33: 605-612.

82. Langman MJ. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcer. *Hepatogastroenterology*, 1992, 39 Suppl 1: 37-39.

83. Laporte JR, Carne X, Vidal X, Moreno V, Juan J. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Catalan Countries Study on Upper Gastrointestinal Bleeding. *Lancet*, 1991, 337: 85-89.

84. Lanas AI, Nerin J, Esteva F, Sainz R. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandin effects on pepsinogen secretion by dispersed human peptic cells. *Gut*, 1995, 36: 657-663.

85. Scheiman JM. NSAIDs, gastrointestinal injury, and cytoprotection. *Gastroenterol Clin North Am*, 1996, 25: 279-298.
86. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 1999: 359.
87. Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E. Tohumlu Bitkiler Sistemetiği (Ders Kitabı), İzmir, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları. 2004, 116.
88. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*, 2003, 17: 299-305.
89. Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol*, 2003, 26: 87-98.
90. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res*, 2000, 14: 323-328.
91. Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother Res*, 2004, 18: 195-199.
92. Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*N sativa*) L: An overview. *Int J Food Sci Tech*, 2007, 42: 1208-1218.
93. Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. A review of the pharmaco-therapeutic effectes of *Nigella sativa*. *J Med Res*, 2002, 41(2): 77-83.
94. Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol Res*, 2015, 95-96: 138-158.
95. Khan MA. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 1999, 7: 15-35.

96. El-Tahir KEDH, Bakeet DM. The blackseed *Nigella sativa* Linnaeus-a mine for multicures: a plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. *J.T.U. Med. Sc*, 2006, 1 (1): 1-19.
97. Kırılan M. Ayçiçek Yağının Oksidatif Stabilitesi Üzerine Isırgan (*Urtica dioica*), Keten (*Linum usitatissimum*), Kişniş (*Coriandrum sativum*) ve Çörekotu (*Nigella sativa*) tohum ekstraktlarının etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye. 2006.
98. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z Naturforsch C*, 2003, 58: 629-631.
99. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med*, 1995, 61: 33-36.
100. Akgül A. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No: 15, Ankara. 1993.
101. Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *J Pharm Biomed Anal*, 1999, 19: 757-762.
102. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*, 2004, 11: 56-64.
103. Sayed MD. Traditional medicine in health care. *J Ethnopharmacol*, 1980, 2: 19-22.
104. Ragheb A, Attia A, Eldin WS, Elbarbry F, Gazarin S, Shoker A. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2009, 20: 741-752.

105. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci*, 2009, 85: 830-834.
106. Lautenbacher LM. Schwarzkümmelöl. *Dtsch Apoth Ztg*, 137: 68-69.
107. Khalife KH, Lupidi G. Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radic Res*, 2007, 41: 153-161.
108. Khader M, Bresgen N, Eckl PM. In vitro toxicological properties of thymoquinone. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47: 129-133.
109. Gali-Muhtasib HU, El-Najjar N, Schneider-Stock R. The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components, in: new trends in research Strategies on Lead Molecules from Natural Products. *M.T. Khan (Eds) Elsevier Publishers*, 2006: 133-153.
110. Bauer K, Garbe D, Surburg H. Common Fragrance and Flavor Materials. *Preparation, Properties and Uses*, Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
111. Buckingham J. Dictionary of Natural Products on DVD, Chapman and Hall/CRC. Boca Raton, FL, USA. 2008.
112. Farnsworth NR. <http://www.napralert.org/> 19.01.2010.
113. Trang NT, Wanner MJ, Phuong le VN, Koomen GJ, Dung NX. Thymoquinone from *Eupatorium ayapana*. *Planta Med*, 1993, 59: 99.
114. Lukas B, Schmiderer C, Franz C, Novak J. Composition of essential oil compounds from different Syrian populations of *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae). *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 1362-1365.
115. Manter DK, Kelsey RG, Karchesy JJ. Antimicrobial activity of extractable conifer heartwood compounds toward *Phytophthora ramorum*. *J Chem Ecol*, 2007, 33: 2133-2147.

116. Gohari AR, Ostad SN, Moradi-Afrapoli F, Malmir M, Tavajohi S, Akbari H, Saeidnia S. Evaluation of the cytotoxicity of *Satureja spicigera* and its main compounds. *ScientificWorldJournal*, 2012, 2012: 203861.
117. Grosso C, Figueiredo AC, Burillo J, Mainar AM, Urieta JS, Barroso JG, Coelho JA, Palavra AM. Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles: comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *J Sep Sci*, 2010, 33: 2211-2218.
118. Hussain J, Bukhari N, Hussain H, Rehman NU, Hussain SM. Chemical constituents of *Nepeta distans*. *Nat Prod Commun*, 2010, 5: 1785-1786.
119. Demirci F, Berber H, İşcan G. Biyokatalizörler Yardımıyla p-Simen'den Timokinon ve Benzeri Biyoaktif Metabolitlerin Üretimi. Temel Bilimler Araştırma Grubu (TBAG), Proje No: 106T117, ESKİŞEHİR. 2008.
120. Yıldız F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, Ocak AR, Bitiren M. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 5204-5209.
121. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legoult J. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *S Afr J Bot*, 2010, 76(2): 210-216.
122. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett*, 1998, 95: 23-29.
123. Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2003, 50: 264-268.

124. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HP. Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol*, 2002, 81: 161-164.
125. Chakrabarty A, Emerson MR, LeVine SM. Heme oxygenase-1 in SJL mice with experimental allergic encephalomyelitis. *Mult Scler*, 2003, 9: 372-381.
126. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2004, 19: 431-436.
127. El Mezayen R, El Gazzar M, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC, Nomiyama H. Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation. *Immunol Lett*, 2006, 106: 72-81.
128. El Gazzar MA, El Mezayen R, Nicolls MR, Dreskin SC. Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770: 556-564.
129. Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol*, 2004, 25: 857-866.
130. Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M. Immunosuppressive and cytotoxic properties of Nigella sativa. *Phytother Res*, 2004, 18: 395-398.
131. Ivankovic S, Stojkovic R, Jukic M, Milos M, Milos M, Jurin M. The antitumor activity of thymoquinone and thymohydroquinone in vitro and in vivo. *Exp Oncol*, 2006, 28: 220-224.

132. Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*, 2007, 67: 7782-7788.
133. Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6: 160-169.
134. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79: 1-11.
135. Akhtar N, Alakloby OM, Aljabre SH, Alqurashi AM, Randhawa MA. Comparison of antifungal activity of thymoquinone and amphotericin B against *Fusarium solani* in vitro. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 2007, 8(2) 1428.
136. Halawani E. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advan Biol Res*, 2009, 3(5-6): 148-152.
137. Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Res Vet Sci*, 2005, 79: 219-223.
138. Kanter M, Akpolat M, Aktas C. Protective effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats: a light and electron microscopic study. *J Mol Histol*, 2009, 40: 379-385.

139. Al-Majed AA, Daba MH, Asiri YA, Al-Shabanah OA, Mostafa AA, El-Kashef HA. Thymoquinone-induced relaxation of guinea-pig isolated trachea. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2001, 110: 333-345.
140. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79: 23-26.
141. Al-Naqeep G, Ismail M, L.S. Y. Effects of thymoquinone rich fraction and thymoquinone on plasma lipoprotein levels and hepatic low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase genes expression. *J Funct Foods*, 2009, 1(3): 298-303.
142. Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW. *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48: 664-672.
143. Bacakgüllü E, Avcı G. Effects of thymoquinone on plasma leptin, insulin, thyroid hormones and lipid profile in rats fed a fatty diet. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2013, 19(6).
144. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol Lett*, 2003, 143: 133-143.
145. Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem Res*, 2008, 33: 579-588.
146. Raza M, Alghasham AA, Alorainy MS, El-Hadiyah TM. Beneficial interaction of thymoquinone and sodium valproate in experimental models of epilepsy: reduction in hepatotoxicity of valproate. *Scientia Pharmaceutica*, 2006, 74(4): 159.

147. Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol*, 2006, 543: 40-47.
148. Isik AF, Kati I, Bayram I, Ozbek H. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, 28: 301-305.
149. El Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC. Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760: 1088-1095.
150. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6: 1135-1142.
151. Badary OA, Nagi MN, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Sohaibani MO, al-Bekairi AM. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Can J Physiol Pharmacol*, 1997, 75: 1356-1361.
152. Sayed-Ahmed MM, Nagi MN. Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34: 399-405.
153. Hadjzadeh MA, Mohammadian N, Rahmani Z, Rassouli FB. Effect of thymoquinone on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urol J*, 2008, 5: 149-155.

154. El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan MA, Shimizu Y, El-Sayed MG, Minamoto N, Takewaki T. Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *Int Immunopharmacol*, 2002, 2: 1603-1611.
155. Kaya MS, Kara M, Özbek H. Çörek otu (*Nigella sativa*) tohumunun insan hücresel bağışıklık sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. *Genel Tıp Derg*, 2003, 13: 109-112.
156. el Tahir KE, Ashour MM, al-Harbi MM. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elucidation of the mechanism of action. *Gen Pharmacol*, 1993, 24: 1123-1131.
157. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol Res*, 2000, 41: 283-289.
158. Mansour MA. Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice. *Life Sci*, 2000, 66: 2583-2591.
159. Nagi MN, Almakki HA. Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytother Res*, 2009, 23: 1295-1298.
160. Alsaif MA. Effect of thymoquinone on ethanol-induced hepatotoxicity in Wistar rats. *J Med Sci*, 2007, (7): 1164-1170.
161. Kirui PK, Cameron J, Benghuzzi HA, Tucci M, Patel R, Adah F, Russell G. Effects of sustained delivery of thymoquinone on bone healing of male rats. *Biomed Sci Instrum*, 2004, 40: 111-116.
162. Budancamanak M, Kanter M, Demirel A, Ocakci A, Uysal H, Karakaya C. Protective effects of thymoquinone and methotrexate on the renal injury in collagen-induced arthritis. *Arch Toxicol*, 2006, 80: 768-776.

163. Tekeoglu I, Dogan A, Ediz L, Budancamanak M, Demirel A. Effects of thymoquinone (volatile oil of black cumin) on rheumatoid arthritis in rat models. *Phytother Res*, 2007, 21: 895-897.
164. Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KH. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83: 443-451.
165. El-Mahdy MA, Zhu Q, Wang QE, Wani G, Wani AA. Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *Int J Cancer*, 2005, 117: 409-417.
166. Shoieb AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol*, 2003, 22: 107-113.
167. Gali-Muhtasib HU, Abou Kheir WG, Kheir LA, Darwiche N, Crooks PA. Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. *Anticancer Drugs*, 2004, 15: 389-399.
168. Badary OA, Abd-Ellah MF, El-Mahdy MA, Salama SA, Hamada FM. Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 88-92.
169. Ahmed WA, Hassan SA, Galeb FM, El-Taweel MA, Abu-Bedair FA. The in vitro promising therapeutic activity of thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Global Veterinaria*, 2008, 2 (5): 233-241.
170. Yi T, Cho SG, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, Sethi G, Aggarwal BB, Liu M. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 1789-1796.

171. Banerjee S, Kaseb AO, Wang Z, Kong D, Mohammad M, Padhye S, Sarkar FH, Mohammad RM. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2009, 69: 5575-5583.
172. Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol*, 1999, 67: 135-142.
173. Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Bekairi A, Elmazar MMA. Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Development Research*, 1998, 44: 56-61.
174. Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. Effect of Nigella sativa (Black Seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Ann Saudi Med*, 2001, 21: 242-244.
175. El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayed M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5: 195-207.
176. Aboul-Ela EI. Cytogenetic studies on Nigella sativa seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat Res*, 2002, 516: 11-17.
177. Garjani A, Fathiazad F, Zakheri A, Akbari NA, Azarmie Y, Fakhrjoo A, Andalib S, Maleki-Dizaji N. The effect of total extract of Securigera securidaca L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126: 525-532.
178. Kalaivanisailaja J, Manju V, Nalini N. Lipid profile in mice fed a high-fat diet after exogenous leptin administration. *Pol J Pharmacol*, 2003, 55: 763-769.
179. Al-Gharably N, Badary O, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Rikabi AC, Al-Bekairi AM. Protective effect of thymoquinone against

- carbotetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Res Commun Pharmacol Toxicol*, 1997, 2: 41-50.
180. Bamosa AO, Ali BA, al-Hawsawi ZA. The effect of thymoquinone on blood lipids in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2002, 46: 195-201.
181. Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2008, 20: 25-27.
182. Montgomery R. Biochemistry A case-oriented Approach 6th edition. Year book. 1996, 5: 203-204.
183. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 1998, 105: 273-282.
184. Aruoma OI, Kaur H, Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases. *J R Soc Health*, 1991, 111: 172-177.
185. Southorn P, Powis G. "Free radicals in medicine", I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*, 1998, 63(4): 381-389.
186. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*, 1991, 91: 23-30.
187. Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE, Jr. Relationships of serum carotenoids, retinol, alpha-tocopherol, and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States). *Cancer Causes Control*, 1998, 9: 89-97.
188. Akkus I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları Konya. 1995: 1-80.
189. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 1993, 49: 481-493.

190. Murray R. Harper's Biochemistry, 23 th ed. *Appleton and Lange*, 1990, 13: 110-115.
191. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus and oksidatif stress. *Turk J Biochem*, 2006, 31(2): 51-56.
192. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta*, 2001, 306: 1-17.
193. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals comprehensive. *In Food Science And Food Safety*, 2004, 3: 37-47.
194. Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*, 2000, 5: 415-418.
195. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine (3nd ed). Oxford, Oxford University. 1999: 30-90.
196. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2002, 33: 110-118.
197. Jacob RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr*, 1996, 63: 985-990.
198. Deby C, Pincemail. Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms. In: Rökan (Ginkgo Biloba). Recent result in pharmacology and clinic. Ed: FünfgeldaEW. Springer- Verlag, Berlin. 1998: 57-70.
199. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*, 1984, 219: 1-14.
200. Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest*, 1982, 47: 5-18.
201. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proc Nutr Soc*, 1987, 46: 1-12.

202. Akkus I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Konya. 1995: 3-25.
203. Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 397: 342-344.
204. Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16: 42-47.
205. Menteş G, Ersöz B. Harper'ın Biyokimyası. Barış kitabevi, İstanbul. 1993.
206. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006, 160: 1-40.
207. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Dicle Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005, 3: 30-39.
208. Akkus I. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları. 1995: 3-10.
209. Grisham MB, Mc Cord JM. "Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites" In: Physiology of oxygen radicals, Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Physiology Society, Bethesda, Maryland, USA. 2000: 1-18.
210. Yenson M. İnsan Biyokimyası. 7. baskı, Güneş Kitabevi, Ankara. 1995.
211. Baron JH. Studies of basal acid output with an augmented histamine test. *Gut*, 1996, 4: 136-144.
212. Stief TW. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypotheses*, 2003, 60: 567-572.
213. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1997, 34: 92-95.
214. Onat T, Emerk K, Sözman EY. "İnsan Biyokimyası" Palme Yayıncılık, Ankara. 2002.

215. Ünal MT, Tufan H. Biyolojik sistemlerde peroksinitritin rolü. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji*, 2003, 16: 110–118.
216. Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 890: 301-311.
217. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri, 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık. 2000.
218. Bayır Y. Usnea Longissima Ach. Liken Türünden İzole Edilen Difraktaik Asit'in İndometazin Ülseri Üzerine Koruyucu Etkisi ve İn-Vivo Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi. 2004.
219. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999, 222: 283-292.
220. Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc*, 1987, 46: 13-26.
221. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*, 1991, 161: 488-503.
222. Sağol S, Özkınay E. Lipid peroxidation in the etiopathogenesis of preeclampsia. *T Klin Jineköl Obst*, 2000, 10: 7–15.
223. Ku HH, Brunk UT, Sohal RS. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radic Biol Med*, 1993, 15: 621-627.
224. Bayır Y. Sıçanlarda İsoptrenol İle Oluşturulan Miyokard İnfarktüsü Modelinde Dna Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Lasidipin, Ramipril ve Valsartan'nın Etkilerinin

İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi. 2008.

225. Simsek I, Aytekin F, Yesilada E, Yıldırım S. “Anadolu’da Halk Arasında Bitkilerin Kullanılış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma” 14.Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskisehir, Eds. K.H.C. Baser ve N. Kırimer. 2002: 434-457.

226. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 1982, 47: 412-426.

227. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*, 1991, 91: 14-22.

228. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect*, 1985, 64: 111-126.

229. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J*, 1991, 277 (Pt 1): 133-138.

230. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi*, 2004, 35: 159–169.

231. Cardozo-Pelaez F, Brooks PJ, Stedeford T, Song S, Sanchez-Ramos J. DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28: 779-785.

232. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90: 7915-7922.

233. Mathers J, Fraser JA, McMahon M, Saunders RD, Hayes JD, McLellan LI. Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem Soc Symp*, 2004: 157-176.

234. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reprod Toxicol*, 1999, 13: 347-352.
235. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 2003, 666: 387-392.
236. Grdl F, Ademoğlu E. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres. Biyokimya, İstanbul. Nobel Tıp Kitapevi. 2006.
237. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med*, 2005, 39: 841-852.
238. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 1999, 32: 595-603.
239. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 2004, 44: 381-386.
240. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De Giuli F, Albertini A. Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53: 215S-222S.
241. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *J Biol Chem*, 1993, 268: 416-420.
242. Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, Eaton JW. Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest*, 1986, 77: 319-321.
243. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry (25. bs). 93-(N. Dikmen, T. Özgnen, Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2004.
244. Akkus I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekse E, Can G, Durmus B. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum

and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*, 1996, 244: 221-227.

245. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. In: Mayes A. Part Lange Medical Publication, London. 1993.

246. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem*, 1992, 38: 66-70.

247. Stryer L. Biochemistry Third Edition 1988: 437-439.

248. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry, İstanbul Barış Kitabevi. 1998: 127-799.

249. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *J Dermatol Sci*, 2001, 27 Suppl 1: S1-4.

250. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin J Med Sci*, 2002, 22: 442-448.

251. Ulakoğlu ZE, Gümüştas MK, Belce A, Altuğ T, Kökoğlu E. Strese bağlı mide mukozası hasarında endojen glutatyon tükenişinin enerji metabolizması ile ilişkisi. *Cerrahpaşa DJ Med*, 1998, 29(3): 127-131.

252. Aşıcıoğlu YT. "Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi" Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölüm Uzmanlık Tezi. 2005.

253. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. "Structure and function of the water soluble vitamins" Harper's Biochemistry 23. ed. Lang one dical publication London. 1993: 573-587.

254. Richard A. Larson; Naturally Occuring Antioxidants. Boca Raton (Lewis Publishers). 1997.

255. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 1995, 4: 1819-1828.
256. Guidobono F, Pagani F, Ticozzi C, Sibilia V, Pecile A, Netti C. Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *Br J Pharmacol*, 1997, 120: 581-586.
257. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988, 34: 497-500.
258. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
259. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-358.
260. Izgut-Uysal VN, Agac A, Derin N. Effect of carnitine on stress-induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa. *J Gastroenterol*, 2001, 36: 231-236.
261. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of Nigella sativa oil and its major component, thymoquinone in mice. *European Journal of Pharmacology*, 2000, 400: 89-97.
262. Schubert ML, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1842-1860.
263. Dong MH, Kaunitz JD. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol*, 2006, 22: 599-606.
264. Whittle BJ. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *Eur J Pharmacol*, 2004, 500: 427-439.
265. Fries JF, Williams CA, Bloch DA, Michel BA. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastropathy: incidence and risk factor models. *Am J Med*, 1991, 91: 213-222.

266. Eberhart CE, Dubois RN. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 1995, 109: 285-301.
267. Yoshida N, Takemura T, Granger DN, Anderson DC, Wolf RE, McIntire LV, Kvietys PR. Molecular determinants of aspirin-induced neutrophil adherence to endothelial cells. *Gastroenterology*, 1993, 105: 715-724.
268. Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek PC, Pawlik MW, Pawlik WW, Kwiecien N, Konturek SJ. Gastroprotection by pentoxifylline against stress-induced gastric damage. Role of lipid peroxidation, antioxidizing enzymes and proinflammatory cytokines. *J Physiol Pharmacol*, 2004, 55: 337-355.
269. Dattner AM. From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future. *Dermatol Ther*, 2003, 16: 106-113.
270. Kayaalp S. “Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler” 2. baskı, Hacettepe-TAS. 2001: 1-2.
271. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No:3255. 1984.
272. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 2000, 143: 219-226.
273. Naito Y, Yoshikawa T, Yoshida N, Kondo M. Role of oxygen radical and lipid peroxidation in indomethacin-induced gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci*, 1998, 43: 30S-34S.
274. Martin MJ, Jimenez MD, Motilva V. New issues about nitric oxide and its effects on the gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 881-908.
275. Takeuchi K, Takehara K, Ohuchi T. Diethyldithiocarbamate, a superoxide dismutase inhibitor, reduces indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Digestion*, 1996, 57: 201-209.

276. Sigthorsson G, Crane R, Simon T, Hoover M, Quan H, Bolognese J, Bjarnason I. COX-2 inhibition with rofecoxib does not increase intestinal permeability in healthy subjects: a double blind crossover study comparing rofecoxib with placebo and indomethacin. *Gut*, 2000, 47: 527-532.
277. Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit Rev Toxicol*, 1987, 18: 27-79.
278. Wallace JL. Acetaminophen hepatotoxicity: NO to the rescue. *British Journal of Pharmacology*, 2004, 143: 1-2.
279. Laskin JD, Heck DE, Gardner CR, Laskin DL. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2001, 3: 261-271.
280. Dix TA, Aikens J. Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chem Res Toxicol*, 1993, 6: 2-18.
281. Cengiz G, Aksoy N, Aktay G, Söylemezoglu T. Parasetamol ve aspirinin plazma ve karaciğerde lipid peroksidasyona etkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1999, 28(1): 47-60.
282. Mohamed A, Shoker A, Bendjelloul F, Mare A, Alzrigh M, Benghuzzi H, Desin T. Improvement of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) by thymoquinone; an oxidative stress inhibitor. *Biomed Sci Instrum*, 2003, 39: 440-445.
283. Yu LX, Nguyen HT. Plant Molecular Genetics Laboratory, Department of Plant and Soil Science and Institute for Biotechnology. *Texas Tech University*, 1994, 87: 668-672.
284. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002, 18: 872-879.

285. Suleyman H, Cadirci E, Albayrak A, Polat B, Halici Z, Koc F, Hacimuftuoglu A, Bayir Y. Comparative study on the gastroprotective potential of some antidepressants in indomethacin-induced ulcer in rats. *Chem Biol Interact*, 2009, 180: 318-324.
286. Zaghlool SS, Shehata BA, Abo-Seif AA, Abd El-Latif HA. Protective effects of ginger and marshmallow extracts on indomethacin-induced peptic ulcer in rats. *J Nat Sci Biol Med*, 2015, 6: 421-428.
287. Abourehab MA, Khaled KA, Sarhan HA, Ahmed OA. Evaluation of combined famotidine with quercetin for the treatment of peptic ulcer: in vivo animal study. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 2159-2169.
288. El-Missiry MA, El-Sayed IH, Othman AI. Protection by metal complexes with SOD-mimetic activity against oxidative gastric injury induced by indomethacin and ethanol in rats. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38: 694-700.
289. Franco L, Doria D. Prostaglandins and nitric oxide in copper-complex mediated protection against ethanol-induced gastric damage. *Pharmacol Res*, 1997, 36: 395-399.
290. Robert A. An intestinal disease produced experimentally by a prostaglandin deficiency. *Gastroenterology*, 1975, 69: 1045-1047.
291. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53: 194S-200S.
292. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem*, 1983, 52: 711-760.
293. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*, 2005, 16: 577-586.
294. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta*, 2003, 333: 19-39.

295. Aleynik SI, Leo MA, Ma X, Aleynik MK, Lieber CS. Polyenylphosphatidylcholine prevents carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation while it attenuates liver fibrosis. *J Hepatol*, 1997, 27: 554-561.
296. Demir S, Yilmaz M, Koseoglu M, Akalin N, Aslan D, Aydın A. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J Gastroenterol*, 2003, 14: 39-43.
297. Yılmaz S, Bahçecioğlu İH. Karbontetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipit peroksidasyonu, antioksidan enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci*, 2000, 24: 24-28.
298. Yılmaz S, Temizer O. Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2003, 28: 252-256.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı : Cemile TURAN

Doğum Tarihi : 01.01.1987 Doğum Yeri : Tirebolu Medeni Hali : Bekar Uyruğu : T.C. Adres : Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240, Erzurum Tel : 0537 771 16 62 Fax : - E-mail : cemile_turan_28@hotmail.com
Eğitim
Lise : Orhan Cemal Fersoy Lisesi (2004) Lisans : Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji (2006-2010)
Yabancı Dil Bilgisi
Yok
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
Türk Biyokimya Derneği
İlgi Alanları ve Hobiler
Bilgisayar ve Teknoloji Kitap okuma Sinema

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-182

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.12.2014

ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 - Kampus / ERZURUM

İlgi : 27.11.2014 tarih ve 93722986.03/1307 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "Ratlarda İndometazin İle İndüklenen Gastrik Hasara Karşı Timokinonun Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.11.2014 tarih ve 8 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 150 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Sn. Doç.Dr.Y. Bayır
24.12.2014

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

Toplantı Tarihi : 28.11.2014

Toplantı Sayısı : 8

KARAR NO : 150- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "Ratlarda İndometazin İle İndüklenen Gastrik Hasara Karşı Timokinonun Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 27.11.2014 tarih ve 93722986.03/1307 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (Yönetmeliğin 8.maddesinin 8/h bendi gereğince, Doç.Dr.Elif ÇADIRCI, görüşmeye katılmadı ve oy kullanmadı) karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 - Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-231 47 30 Fax : 0-442-231 55 63 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr