



**RAT ASTIM MODELİNDE TİMOKİNİN VE HARNUPUN BİRLİKTE
UYGULANMASININ KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

Özge AKYAZI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2019

Özge AKYAZI tarafından hazırlanan “RAT ASTİM MODELİNDE TİMOKİNİN VE HARNUPUN BİRLİKTE UYGULANMASININ KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan: Prof. Dr. Nursel GÜL

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Prof. Dr. K. Barbaros BALABANLI

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 17/07/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Özge AKYAZI

17/07/2019

ASTIMLI RATLARDA TİMOKİNİN VE HARNUP UYGULAMASININ KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özge AKYAZI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2019

ÖZET

Astım, dünyada milyonlarca insanı etkisi altına alan genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen kronik ve kompleks bir hastalıktır. Etkili tedavi yöntemi kortikosteroidlerin ve beta agonistlerin düzenli kullanımıdır. Bu bilgiler ışığında doğal yaklaşımımızın temelini oluşturan çörek otundan elde edilen Timokinin (TQ) ve Ceratonia siliqua (harnup H) ekstraktlarının astımla birlikte karaciğer dokusu üzerindeki etkisinin tespiti çalışmamızın esas amacını oluşturmuştur. Çalışmamızda kullandığımız 18 adet Wistar albino erkek rat (200-250gr), 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, deneysel astım (A) grubu ve deneysel astım oluşturulduktan sonra TQ ve H uygulanan grup (A+TQ+H). TQ ve harnup ratlara oral gavaj yöntemi ile (10 mg/kg) uygulandı. Astım oluşturulan gruplara 0 ve 14.günlerde ovalbumin ve alum intraperitoneal verilerek 21,22 ve 23.günlerde inhalasyon ile duyarlaştırıldı. Sonra 5 gün tedaviler (TQ+H) uygulandı. Karaciğer dokusu MDA (Malondialdehit), GSH (Glutasyon), AA (Askorbik Asit) ve NO (Nitrik oksit) düzeyleri spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Sonuçlar aritmetik ortalama± standart hata olarak ifade edilmiş olup, AnovaVaryans Analizi uygulanmıştır. Karaciğer MDA düzeyleri, kontrol grubu ile kıyaslandığında hem astım grubunda hem de A+TQ+H grupları arasında anlamlı bir istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). TQ ve H birlikte uygulandığı tedavili grupta karaciğer dokusunda hem GSH hem de AA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artmış bulunmuştur ($p < 0.05$). Astım grubundaki artmış NO düzeyleri TQ ve H birlikte uygulandığı tedavili grupta istatistiksel olarak azalmıştır. Bu bulgular, TQ ve H birlikte kullanımının astımda karaciğer dokusu üzerine pozitif bir etki yaptığını göstermektedir. TQ ve H birlikte uygulanması astımın olası oksidatif etkilerini ortadan kaldıran düzenleyici bir etki göstermiştir.

Bilim Kodu : 20317

Anahtar Kelimeler : Astım, Timokinin, Harnup, Oksidatif Stres

Sayfa Adedi : 52

Danışman : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

THE EFFECT OF CO ADMINISTRATION OF TIMOKINE AND HARNUP ON
ASTHMA RATS IN LIVER TISSUE

(M. Sc. Thesis)

Özge AKYAZI

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2019

ABSTRACT

Asthma is a chronic and complex disease that is affected by genetic and environmental factors that affect millions of people around the world. The effective treatment method in asthma is regular use of corticosteroids and beta-agonists. In the light of this information, the main purpose of our study was to determine the effect of Timokinin(TQ) and Ceratonia siliqua(carob H) extracts on the liver tissue together with asthma. In our study, 18 Wistar albino male rats(200-250gr) were divided into 3 groups: Control group, experimental asthma(A) group and TQ and H applied groups after experimental asthma (A+TQ+H). TQ and carob exctracts were administered by oral gavage to rats (10mg/kg). Ovalbumin and alum were administered intraperitoneally to the asthmatic groups at 0 and 14 days and they were sensitized by inhalation on 21, 22 and 23 days. After, for 5 days of treatments were applied. Liver tissue MDA(Malondialdehyde), GSH(Glutathione), AA(Ascorbic Acid) and NO(Nitric oxide) levels were evaluated spectrophotometrically. The results were expressed as arithmetic mean±standard error and AnovaVariance Analysis was applied. Liver MDA levels were significantly different in both asthma group and A+TQ+H groups when compared to control group ($p<0.05$). Both GSH and AA levels of liver tissue were found to be statistically significant in the treatment group ($p<0.05$). Increased NO levels in the asthma group were statistically decreased in the co administration of TQ and H group. These findings indicate that co administration of TQ and H have a positive effect on liver tissue in asthma rats. Co-administration of TQ and H showed a regulatory effect that eliminated the possible oxidative effects of asthma.

Science Code : 20317

Key Words : Asthma, Thymokinin, Carob, Liver, Oxidative Stress

Page Number : 52

Supervisor : Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca çok değerli katkıları ve yardımlarıyla her daim bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e, tecrübeleri ile destekleyen Prof. Dr. K.Barbaros BALABANLI'ya, çalışmalarım esnasında yardımcı olan Ameerah Fadhil Ahmed AHMED'e, ayrıca manevi desteklerini her zaman hissettirdikleri için eşime, aileme ve dostlarıma çok teşekkür ediyorum.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	ix
RESİMLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Astımın Tanımı Ve Epidemiyolojisi.....	5
2.2. Astım Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....	5
2.2.1. Kişisel faktörler	6
2.2.2. Çevresel faktörler	7
2.3. Astımın Patobiyolojisi	7
2.3.1. Astımın antiinflamatuvar hücreleri	9
2.3.2. Remodelling	12
2.4. Astımın Sınıflandırılması	13
2.5. Oksidatif Stres.....	13
2.5.1. Serbest radikaller.....	14
2.6. Astım ve Antioksidan Mekanizmalar.....	16
2.6.1. Enzimatik antioksidanlar.....	16
2.6.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	17
2.7. Lipit peroksidasyonu.....	18

	Sayfa
2.8. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri.....	20
2.8.1. <i>Nigella sativa</i> L.(Çörek otu).....	20
2.8.2. <i>Ceratonia siliqua</i> (Harnup)	21
3. MATERYAL METOT	23
3.1. Deney Protokolü	23
3.2. Astım ve Tedavi Modelinin Dizaynı	23
3.3. Duyarlılaştırma ve İnhalasyon Uygulaması	24
3.4. Deneyin Yöntemi.....	25
3.4.1. Dokuda MDA tayin yöntemi	25
3.4.2. Dokuda GSH Tayin yöntemi	25
3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi	25
3.4.4. Dokuda NO tayin yöntemi	26
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	26
4. BULGULAR	27
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	33
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	51

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Astımın sınıflandırılması.....	13
Çizelge 2.2. Oksidatif hasar ile alakalı hastalıklar.....	14
Çizelge 2.3. Serbest radikal kaynakları.....	19
Çizelge 2.4. <i>Ceratonia siliqua</i> 'nın önemli komponentleri.....	22
Çizelge 4.1. Astımlı ratların karaciğerlerinde MDA, GSH, AA ve NOx düzeyleri.....	27



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kompleks hastalıkların genel modeli.....	6
Şekil 2.2. Olgun insan eozinofili	9
Şekil 2.3. Eozinofillerin astım inflamasyonundaki yeri.....	10
Şekil 2.4. Mast hücresi görüntüsü.....	11
Şekil 2.5. Astım inflamasyonunun multimediyatörleri.....	12
Şekil 2.6. Lipit Peroksidasyon Zinciri.....	19
Şekil 2.7. Nigella sativa'nın bileşenlerinin kimyasal yapısı.....	20
Şekil 4.2. Astımlı ratların karaciğerlerinde MDA düzeyi.....	28
Şekil 4.3. Astımlı ratların karaciğerlerinde GSH düzeyi.....	29
Şekil 4.4. Astımlı ratların karaciğerlerinde AA düzeyi.....	30
Şekil 4.5. Astımlı ratların karaciğerlerinde NO düzeyi.....	31

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Astımlı ratlarda inhalasyon uygulaması	24



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
Al(OH)_3	Alüminyum hidroksit
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
H	Hidrojen
K	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
kg	Kilogram
LOO·	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
M	Molarite
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NaCl	Sodyum klorür
Na_2HPO_4	Disodyum fosfat
NaNO_2	Sodyum nitrit
NaNO_3	Sodyum nitrat
NaOH	Sodyum hidroksit
OH^-	Hidroksil
P	Fosfor
rpm	Revolutions per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
ZnSO_4	Çinko sülfat
μ	Mikron
μmol	Mikromol

Kısaltmalar**Açıklamalar**

A	Astım
AA	Askorbik asit
AHR	Hava yolu aşırı duyarlılığı
ALFA- TOKOFEROL	Vitamin E
ANG-1	Angiopoietin- 1
ANG-2	Angiopoietin-2
AP-1	Aktivatör protein-1
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BETA-KAROTEN	A vitamini
BHR	Bronşiyal hiper-reaktivite
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CoQ10	Koenzim Q 10 (Ubiquinon)
COX	Siklooksijenaz
DTNB	5,5'dithio 2-nitrobenzoic acid
DTQ	Dithymoquinone
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EO	Eozinofil
G6PD	Glucose-6-phosphatedehydrogenase
GM-CSF	Granülosit – Makrofaj koloni stimüle edici factor
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
H	Harnup (Ceratonia siliqua)
LO	Lipooksijenaz
LT	Lökotrien
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
Ig A	İmmunoglobulin A
Ig E	İmmunoglobulin E
Ig G	İmmunoglobulin G
IL-4	İnterlökin-4
IL-5	İnterlökin-5

Kısaltmalar**Açıklamalar**

IL-9	İnterlökin-9
IL-13	İnterlökin-13
IL-25	İnterlökin-25
IL- 33	İnterlökin-33
IFN- γ	İnterferon- γ
İ.m.	İntramüsküler
İ.p.	İntraperitonel
MBP	Major bazic protein
MDA	Malondialdehit
MHC-I	Major histocompatibility complex -1
MHC-II	Major histocompatibility complex -2
MMP-1	Matris metaloproteinaz-1
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NO	Nitrik oksit
NS	Nigella sativa
PAF	Platelet anticoating factor
PG	Prostaglandin
THY	Thymol
TNF-α	Tümör necros factor- α
TNF- β	Tümör necros factor- β
TQ	Timokinin
TXA₂	Tromboksan A ₂
U.V.	Ultraviyole
VCAM-1	Vasculer cell adhesion molecule-1

1. GİRİŞ

Astım bronşların yüksek duyarlılığı, hava yollarının tıkanması ve inflamasyonu ile karakterize olmuş, toplumların yüksek bir çoğunluğunu etkileyen yaygın ve kompleks bir solunum sistemi hastalığıdır [1-2]. Farklı fenotiplere sahip olan astım hastalığı, Türkiye’de yaklaşık 3,5 milyon kişiyi etkilemektedir [3].

Astıma birçok etken neden olabilmektedir. Bu sebeple astımı etkileyen faktörler, astımın oluşumuna neden olanlar ve astımın belirteçlerini tetikleyenler olmak üzere ikiye ayrılabilir. Astımın birinci faktörü olan astım oluşumu genelde konakçı faktörlerini içerirken, ikinci faktörü olan tetiklemeyi ise genellikle çevresel faktörler yapar [4].

Astım hastalığı, spesifik ve spesifik olmayan uyaranlara, pulmoner eozinofili, immünoglobulin E (IgE) ve artan oranda hava yolu mukus sentezi sonucunda meydana gelen hava yolu aşırı duyarlılığı (AHR) ile karakterize edilir [5]. Hava yollarındaki inflamasyon, hassasiyeti olan bireylerde nöbetler halinde oluşan öksürük, nefes darlığı, hışıltılı solunum ve göğüste sıkışma gibi semptomlara neden olur. Astımlı vakalarda hava yolu inflamasyonuna tepki olarak eozinofil, makrofaj ve lenfosit düzeyleri oldukça belirgindir [6]. Mast hücreleri, hava yolunda proinflamatuvar ve konstriktif güce sahip mediatörlerin aktive olmalarını sağlamanın yanı sıra üretilmelerini de sağlarken astımda önemli rol oynar [7]. Ayrıca astım patogenezinde interlökinlerin inflamatuvar yanıtındaki etkileri (IL- 4, IL-5, IL- 9, IL-13) ve serbest radikal hasarları oldukça önemlidir [8].

Astımının ilerleyişi esnasında hava yollarında inflamatuvar yanıtı ilaveten, hava yolunun yeniden yapılanması (remodelling) adı ile bilinen karakteristik yapısal değişiklikler gözlenmektedir. Dokuda birçok etkenin yanı sıra anjiogenez ve mikrovasküler remodelling yapılanmanın meydana gelmesinden sorumludur. Remodelling hastalığın en temel fizyolojik özelliği olan hava yolu aşırı duyarlılığı ve hava yolu daralması ile ilişkilidir. BHR, remodelling ve astım inflamasyonu ile alakalıdır. Çeşitli astım ilaçlarının kullanılmasının bir nedeni de BHR’nin yok edilmesi ve dolayısı ile remodellingi ve inflamasyonunu ortadan kaldırmaktır [9,10]. Astımdaki temel patojenite de CD4+ T lenfositleri düzenleyici olarak tanınır. Astımda AHR, hava yolu tıkanması, subepitelyal fibrozis, goblet hücresi hiperplazisi ve hava yolu remodellingi meydana gelir [11-13].

Astımın patofizyolojisine baktığımızda prostanoidler, LT'ler ve TX'lar önemli astım mediatörleridir. Aktif mast hücreleri ile sisteinil LT (Cys LT) olan LTC₄, LTD₄, LTE₄, LTD₂ hava yolu düz kas kontraksiyonuna, bağışıklık hücre infiltrasyonuna ve remodellinge yol açar. MMP-1 astımlı bireylerin hava yollarında bulunan protein molekülüdür. Astım şiddeti ile ilişkili olan MMP-1 bronşial reaktiviteyi gösterir. Astımlı kişilerde birçok sitokin üretimi söz konusudur. Bu sitokinler (IL-4, IL-5, IL-13) Ig E üretimini ve büyüme faktörleri (TGF- β , bFGF-2) dönüşümünü meydana getirir [14-15]. Astımda birçok mediatörün yanı sıra bradikinin, taşikinin, endotelin vb. gibi peptit yapılı moleküllerde etkindir. Özellikle bradikinin, kapiller geçirgenliğini artırır, bronkokonstrüksiyona ve mukus salgılanmasının artışına sebep olur. Bu olayların hepsi astımın inflamasyonunu oluşturur [16].

Astım patolojisine bakıldığında serbest radikaller dikkat çeker. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektronu olan reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller, oksidatif stres olarak adlandırılan ve dokularda hasara yol açan olaylar zincirine neden olur. Ayrıca birçok reaktif ve radikal molekül lipit peroksidasyonu neticesinde hücre ve dokulara zarar verir. Çeşitli antioksidanlar ile hücreler bu zararlı oksidatif etkidenden kurtulabilirler. Aksi halde astım, parkinson ve benzeri gibi hastalıklar meydana gelir [17-18]. Dokularda birçok hasara neden olan serbest radikaller, bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonuna neden olur [19]. Birçok serbest radikal lipit peroksidasyonuna yol açar. Bu durum oksidatif stres meydana getirir. Oksidatif stres meydana getiren en önemli serbest radikaller; süperoksit, nitrik oksit, hidroksil molekülleridir. Bu moleküller hücreye ait enzim, lipit, karbonhidrat vb. birçok yapıya zarar vermektedir. Hücreler bu durumda oksidatif hasardan kurtulmak için antioksidan savunmasını kullanırlar. Bu gibi durumlarda antioksidan(GSH, SOD, CAT vb.) miktarı hücreler tarafından arttırılmaktadır. Çünkü antioksidanlar serbest radikalleri temizlemek için gerekli tepkimeleri katalizler [20].

Astımda solunum yollarının iltihabı ve remodellingin moleküler faaliyetleri her ne kadar karmaşık olsa da olayların gerçekleşme şekilleri aydınlandıkça çeşitli tedaviler ortaya sürülmektedir. Hâlihazırda üretilen ilaçlar inflamasyonu azaltarak remodellingi düzenlemekte etkilidir. Astımlı kişiler için şuan en uygun tedavi yöntemi inhale steroidlerin ve beta-2 agonistlerin düzenli bir şekilde kullanımıdır. İn hale streoidlerin(ICS) oral steroidlerle karşılaştırması yapıldığında daha az yan etkiyle beraber yüksek etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Bu tedavilerin uygulanmasına rağmen hava yolu yapısal değişimlerini etkileme oranları daha düşük olmakla beraber, astımın semptomları devam

edebilmektedir [21,22,10]. Bu sebeplerden ötürü yeni ve doğal bir yaklaşım bulmak astım tedavisi için oldukça önemlidir. Geleneksel tıpta birçok bitki ilaç olarak kullanılmaktadır [23]. Elde edilen bilgiler ışığında *Nigella sativa*'nın etkeni olarak bilinen Timokinon ve *Ceratonia siliqua* (harnup) antiinflamatuvar ve koruyucu özellikleri sayesinde solunum yolu da dâhil birçok hastalıkta umut vadetmektedir [24-25].

Nigella sativa'nın tohumlarından çıkarılan yağ içeriğinde timokinonun varlığı yapılan çalışmalarda ince tabaka kromatografisiyle ortaya konmuştur. TQ ve diğer etken bileşikler, eikosanoid sentezi ile lipid peroksidasyonunun ortadan kaldırılmasını sağladığı söylenmektedir. TXB₂ ve LTB₄'ün inhibisyonu ile siklo-oksijenaz ve 5-lipoksijenaz yollarını ortadan kaldırarak antioksidan etki mekanizmasına sahip olan TQ, oldukça güçlü bir moleküldür. TQ birçok açıdan gelecek vadetmektedir [26].

Ülkemizde keçiboynuzu olarakta bilinen *Ceratonia siliqua* bitkisi, üzerinde çok fazla çalışma yapılmamış ve hala içerikleri araştırılan bir bitkidir. Lif, çeşitli mineral ve yaklaşık 24 çeşit fenolik bileşik bakımından zengin olan harnubun, kolesterol, kardiovasküler sistem, gastrointestinal sistem ve diyabet hastalığı gibi birçok hastalığa iyi geldiği ortaya konmuştur. Harnup ayrıca glisemik indeksi az olan besin grubunda yer almaktadır. Birçok hastalığa iyi gelmesi içerdiği D-pinitol içermesinden kaynaklandığı çalışmalarla desteklenmiştir [27].

Yapmış olduğumuz araştırmalar neticesinde doğal yaklaşımımızın temelini oluşturan, çörek otundan elde edilen Timokinin(TQ) ile *Ceratonia siliqua* (harnup/H) ekstraktlarının, astımla birlikte karaciğer dokusu üzerindeki etkisinin tespiti çalışmamızın esas amacını oluşturmuştur. Bugüne kadar harnup ve astım arasındaki ilişkiyi gösterir bir araştırma bulunmamaktadır. Ayrıca TQ ve harnubun etkili bir karışım ya da tesirli bir doğal ilaç olup olmadığı da bilinmemektedir. Bu çalışma, TQ ve harnup hakkındaki eksik kalan bilgileri gidermeye yardımcı olacaktır. İlerleyen süreçlerde astımın karaciğer dokusundaki etkisine karşılık TQ ve harnup yeni tedavi yaklaşımlarına da ışık tutacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

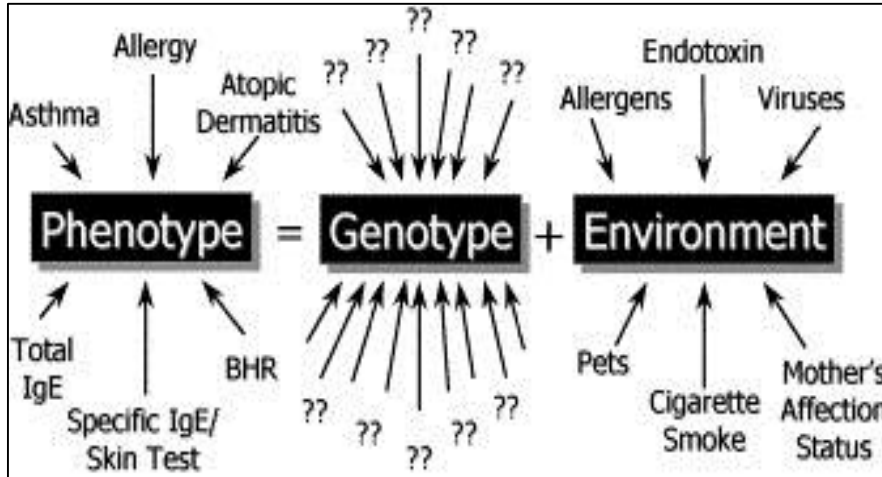
2.1. Astımın Tanımı Ve Epidemiyolojisi

Astım hastalığı, nefes darlığı, göğüste sıkışma, hırıltılı solunum, adaptif immün sistemlerin birçok hücresinin bronşiyal hiper-reaktiviteye (BHR) sahip olması, hava yollarının daralması, zamana ve yoğunluğa göre değişen öksürük semptomları ile karakterize edilen ve genetik olabilen karmaşık bir solunum hastalığıdır. BHR, astım için karakterize olmasının yanı sıra remodelling ile de alakalıdır [28,29,10]. Klinikte alerjik ve nonalerjik olmak üzere iki tip astım belirlenmiştir. Alerjik astım çoğunluğu çocuk ve yetişkinler olmak üzere ortalama popülasyonun %50'sinde görülmekte olup, alerjenler tarafından tetiklenir ve Ig E varlığı ile tespit edilir [29].

Astım dünyada yaklaşık 300 milyondan fazla insanı etkileyen çocuk ve yetişkinlerde en sık rastlanan kronik bir hastalıkların başında gelir. Şehirleşmenin artması ile birlikte bu oranın 400 milyonu bulacağı tahmin edilmektedir. Ülkeler arasındaki prevalansı değişiklik göstermektedir [30,31]. Çocuklardaki prevalansa bakıldığında erkeklerin kızlara kıyasla akciğer kapasitelerine göre daha küçük hava yollarına sahip olmaları nedeniyle astıma yakalanma ihtimalleri yüksektir. Bu durum yetişkinlik döneminde değişkenlik gösterir [32,33].

2.2. Astımın Oluşumunda Rol Oynayan Risk Faktörleri

Astım, çok sayıda klinik fenotipi bulunan kompleks bir solunum yolu hastalığıdır. Hava yollarındaki akımın bozulması, bronş aşırı duyarlılığı ve hava yollarının inflamasyonu ile karakterizedir. Başlıca hem genetik faktörler hem çevresel faktörler hem de bağışıklık sistemi astım oluşumunda rol oynar [34,35] (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Kompleks hastalıkların genel modeli [36].

Birçok hastalığın fenotipi genotipik farklılık ve çevresel faktörlerden kaynaklıdır [36].

2.2.1. Kişisel faktörler

Genetik : Astım ile ilgili atopik hastalıkların ailesel kaynaklı olduğu bilinmektedir. Bu sebeple astımın en yaygın sebebi olarak genetik faktörler yer almaktadır [37]. Astım gelişiminde etken genlerin 4 ana unsura ayrıldığı göze çarpmaktadır:

- 1-Alerjene özel IgE üretimi(atopi)
- 2-Bronşların aşırı hassasiyeti
- 3-Bazı inflamatuvar etkenlerin üretimi (sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri)
- 4-Th1 ve Th2 bağışıklığının cevabı arasındaki düzeni belirleyen genler (hijyen hipotezi)[38,39].

Her ne kadar astım ile ilgili genlerin varlığı bilinse de astımın atopi ile ilişkisini kesinleştiren özel bir gen henüz bulunamamıştır [35].

Cinsiyet : Astım, erkek cinsiyeti için çocuklukta oldukça risk taşır. Çocukluk döneminde erkek çocuklarda astımın görülme oranı kız çocuklardan yaklaşık 2 kat daha fazladır. Bu durum yetişkinlikte tam tersi şeklinde etki göstermektedir [32,33,40].

Obezite : Obezite astım için risk teşkil etmektedir. Leptin gibi birtakım etkenlerin varlığı bronşların faaliyetlerini etkileyebilmekte ve böylece astıma yakalanma riski artış göstermektedir [40].

2.2.2. Çevresel faktörler

Alerjenler, iç ortam(ev akarları, evcil hayvanlar vb.), dış ortam (polen vb), mesleki ortamlardaki hassasiyeti artırıcı etkenler, enfekte edici ajanlar (virüsler vb.), mikroorganizmalar, aktif ya da pasif sigaraya maruz kalmak, hava kirliliği, diyet, stres gibi etkenler çevresel faktörlerin başında gelir [1]. Birçok alerjenin astım yaptığı bilinmesine rağmen diyetle gelen astımın sonuçları da oldukça ağır olmaktadır. Araştırmalar bebeklerin anne sütü yerine inek sütü veya soya proteini ile desteklenen hazır gıdalarla beslenmelerinin sonucu olarak erken çocukluk döneminde hisli hastalık oranının daha fazla görüldüğünü ortaya koymuştur. Yüksek oranda hazır gıda ile beslenme, antioksidan alımında azlık, n-6 çoklu doymamış yağ asidi alımının artması ve n-3 çoklu doymamış yağ asidinin alımının azalması astımda artışa neden olduğu yeni bilgiler arasındadır [41-42].

2.3. Astımın Patobiyolojisi

Patolojik olarak hava yollarının daralması ve aşırı hassas hale gelmesi ile oluşan astım, submukozal, mukoza bezi hiperplazisi, subepitel kollajen katmanının kalınlaşması, submukozal matriks depozisyonu, mast hücre degranülasyonu, hipertrofisi ile eozinofillerin, aktif T yardımcı 2 (TH2) hücreleri ve CD4 + lenfositlerin yoğunluğu ile karakterize edilir [43-44].

Astım, çok sayıda inflamatuvar proteinler için çoklu genlerin ekspresyonunu oluşturması ile kendini belli eder. Bu durum genlerin promotor bölgelerine tutunan ve inflamatuara neden olan etkenlerle aktiflik sağlayabilen transkripsiyon faktörleri ile düzenlenir. Nükleer faktör-kappa B (NF-kappa B), aktivatör protein-1 (AP-1), aktif T-hücrelerinin nükleer faktörü (NF-AT), cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein, GATA 3, sinyal iletimi ile aktive olan transkripsiyon faktörleri (STAT) astımın inflamasyonunda görevli transkripsiyon faktörlerinden bazılarıdır. NF-κB'nin aktifliği, pulmoner inflamasyonun patogeneğinde oldukça önemlidir. Ayrıca IgE'nin (atopi) mevcudiyeti, B lenfositleri tarafından ortaya çıkartılmış IL-4 ile desteklenmiş TH₂ bağışıklığının meydana gelmesi astımının belirteçidir.

Bunun yanı sıra IL-5, IL-13 ve IL-25 de astımda inflamatuvar yanıtın oluşması için oldukça önemlidir. Kortikosteroidler, transkripsiyon faktörlerini baskılayarak astımdaki inflamatuvar cevabı oluşturur [45-47].

Kortikosteroidler mukozal ödemi ile beraber mukus salgısı oluşumunu ve hatta vazokonstriksiyonu oluşumunu azaltır. Ayrıca LTC₄ ile LTD₄ salgılanmasını da durdurur [48]. Astımın inflamasyonunda sitokinler de etkindir. Hava yollarının kronik iltihabının oluşumunda ve devam ettirilmesinde sitokinler görev yapmaktadır [49]. Ayrıca lökotrienler, prostaglandinler, histamin bradikinin, Tromboksan A₂ gibi etkenlerde astım patolojisinde etkindir. Bazı lökotrienler (LTC₄, LTD₄, LTE₄), bazı prostoglandinler (PGF₂ α , PGD₂, PGG₂), TXA₂ bronkokonstriksiyon oluşumunu stimüle eder. Prostoglandinlerden PGE₂ ile PGI₂ ise bronkodilatör etki gösterir. Damar geçirgenliğini arttıran birçok mast hücre kaynaklı faktör (histamin, PGE₂, LTC₄, LTD₄, PAF ve bradikinin) ve diğer faktörler (anafilatoksinler, nötrofil, trombosit faktörler) astıma neden olan etken ile karşılaşınca birkaç dakika içinde geçirgenlik artışı yüzünden mukozal ödeme neden olurlar. Ödem solunum yolu daralmasına ve hava yolu hiperaktivitesine neden olur [50-51].

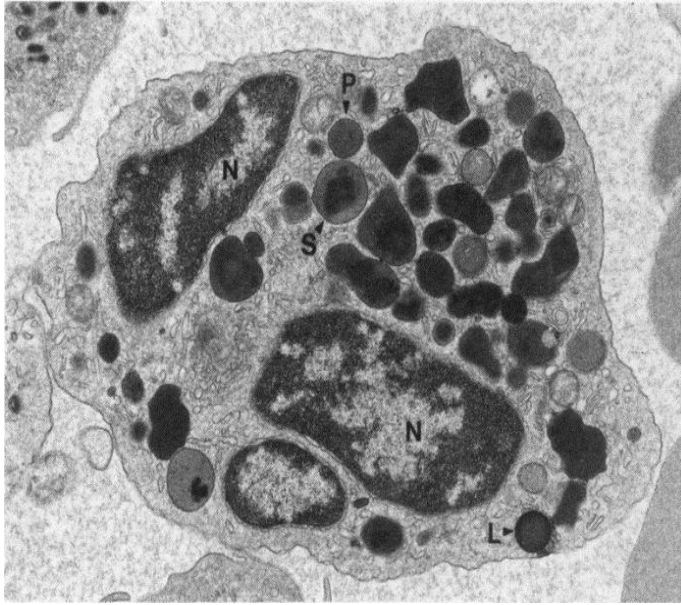
Astımın Erken Fazı : Herhangi bir astım antijeni vücuda girdiğinde B hücreleri tarafından bu etken tanınır ve spesifik antikorları üretilir ve Ig E antikorları mast ve makrofaj gibi savunma elemanlarının reseptörleri ile birleşir. Bu durum alerjinin sensitizasyon aşamasıdır. Eğer alerjen tekrar vücuda girerse yoğun Ig E üretimi sonucu ard arda reaksiyonlar meydana gelir ve sonuçta degranülasyon meydana gelir. Bu durumda çeşitli bağışıklık hücreleri salgısı (LT'ler, PG'ler vb.) neticesinde astımın karakteristik belirtileri olan mukozal ödeme, öksürük gibi semptomlar ortaya çıkar [16,52].

Astımın Geç Fazı : Mast hücrenin medyatörleri kılcal damar duvarına etki ederek VCAM ve E-selektin oluşumunu arttırarak lökositlerin damara tutunmasını kolaylaştırır. Daha sonra çeşitli sitokinler, eozinofiller, bazofiller ve benzeri bağışıklık elemanları mukozal infiltrasyonu sağlar. İnflamatuvar ajanların aktivasyonu ile böylece geç fazı karakterize eden mukozal ödeme oluşur. Sonuçta astımın kronik sonuçları ve epitel hasarı meydana gelir [16].

2.3.1. Astımın inflamatuvar hücreleri

Eozinofiller (EO) : Eozinofil, kemik iliğinde üretilen, eozinle boyanabilen, sitoplazmasında granüller içeren bir lökosit çeşididir.(Şekil 2.2) Eozinofillerin matriksinde eosinofil katyonik protein (ECP), eozinofil peroksidaz (EPO) ve eozinofil derive nörotoksin (EDN) mevcuttur.

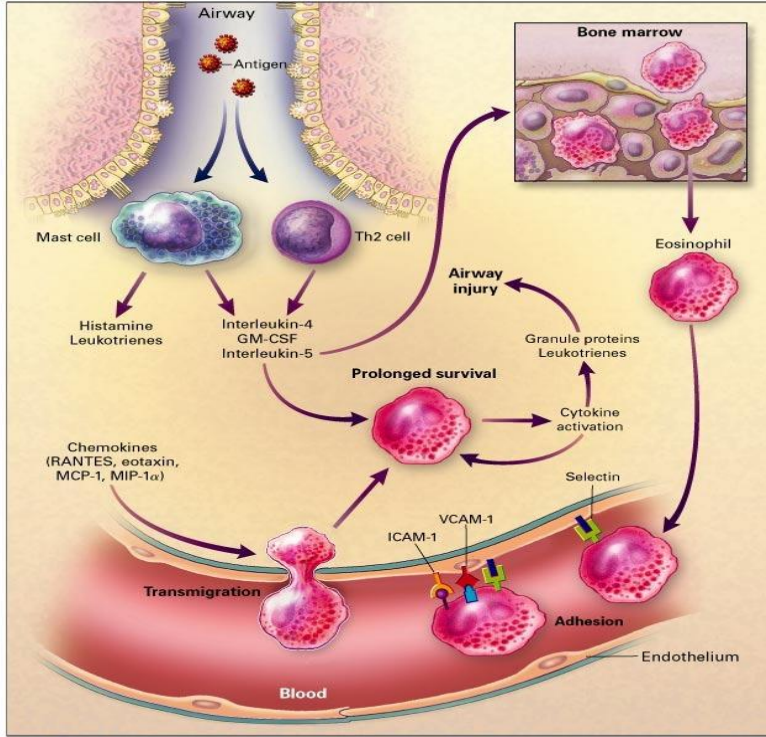
Bu moleküllerden ECP(özellikle MBP çeşidi) ile EDN sitotoksit etki mekanizması ile epitel yıkımını oluşturur. EPO ise mast hücrelerinin degranülasyonunu stimüle eder. EO ayrıca external plazma membranlarında Ig A,Ig E,Ig G reseptörlerini eksprese ederler [53,54].



Şekil 2.2. Olgun insan eozinofili [53].

Eozinofiller, nucleus (N), spesifik sitoplazmik granüller (S) içerir. Onların belirgin elektron kristalloid çekirdeklerinde MBP'leri bulunur. Oranı az da olsa primer granül (P) ve zardan bağımsız lipit cisimleri (L) vardır [53].

Astımın tanımlanmasında EO'lar oldukça önemlidirler. Çünkü eozinofillere bağlı salınan bazik proteinler (MBP) epitel hasar oluşumuna neden olur [55]. Öncelikle atopiklerde, eozinofili ve IL- 5 ile anlamlı bir şekilde BHR meydana getirdiğinden astım ile aralarında bir ilişkinin varlığı söz konusudur. Aktif epitel ve diğer doku hücreleri sitokin ve kemokinlerden oluşan faktörleri salarak bazofil, eozinofil ve mast hücreleri gibi nonspesifik veya B ve T hücreleri gibi spesifik bağışıklık hücrelerini modüle etmektedir [56,57].



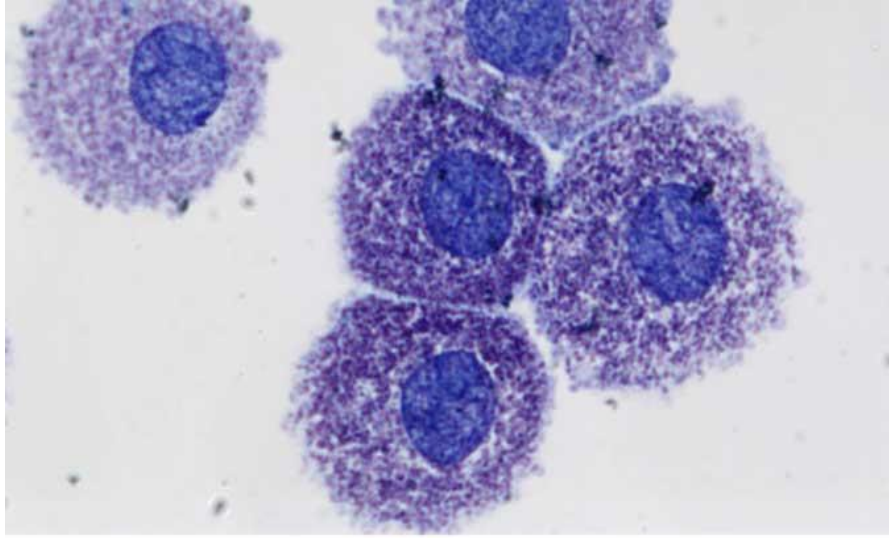
Şekil 2.3. Eozinofillerin astım inflamasyonundaki yeri [34].

Eozinofillerin adhesyonu, eozinofillerin integrin protein moleküllerinin ekspresyonunu ve damar içi yapışma molekülü-1 (ICAM-1) gibi moleküllerin vasküler endotelial hücrelerde ekspresyonunu içerir. ICAM-1'e gönderilen bir antikor, alerjene karşılaştıktan sonra hava yollarında eozinofil birikimini ve AHR oluşumunu engeller. Yapılan çalışmalarda astımlı kişilerde bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) eozinofil miktarının artışı ispatlanmıştır [50].

Nötrofil, Monosit, Bazofil ve Makrofaj : Tüm bu hücreler astım inflamasyonun görevlidir. Mast hücreleri de dâhil TH bazofiller, eozinofiller ve dentritik hücrelerden inflamasyonda görevli IL-4, IL-13 sentezlenir [58]. Monosit ve makrofajlar Ig E reseptörlerine sahip olduklarından inflamasyonda etkindir. Bağ doku nonspesifik immün elemanı olan makrofajlar çeşitli sitokin tiplerini(IL-1, IL-6, TNF- α , TNF- β , GM-CSF) ve mediatörleri (LTB₄, PAF ve PG vb.)sentezleyerek inflamatuvar yanıt oluştururlar [51,53].

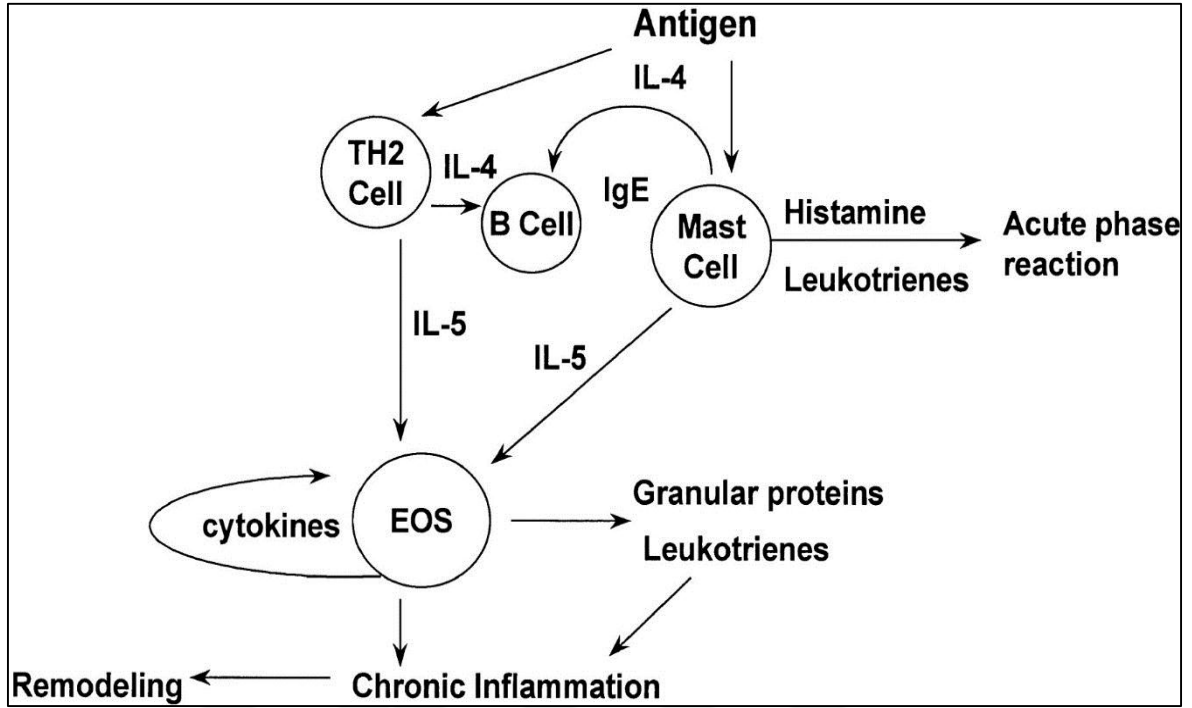
Mast ve epitel hücreleri : Bu hücreler astımın kronik inflamasyonunda etkindir. Mast hücreleri birçok sitokinin yanı sıra Ig E üretiminden de sorumludur. Mast hücreleri diğer hücreler gibi sadece sitokinlerden etkilenmez, buna ilaveten IL -1, IL-2, IL-3, IL- 4, IL-5 ve IL-10, granülosit / makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF), transforme büyüme

faktörü beta (TGF- β), interferon γ (IFN- γ), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi moleküllerin sentezinden sorumludur. Mast hücreleri triptaz ve kimaz sentezi ile histamin salınmasını stimüle eder. Sonuçta fibroblast stimülasyonuna bağlı fibrozis ile membran hasarı oluşumuna neden olur [50,51,59]. PAR(Proteinase activated receptors) üyelerinin birçoğu epitelyumda bulunduğundan hava yolu düz kas mekanizmasının inflamasyondan etkilenmesine epitel hücreleri de neden olmaktadır [60].



Şekil 2.4. Mast hücresi görüntüsü [61]

Astım inflamasyonunda fibroblast, dentritik hücreler ve lenfositlerde görev almaktadır. MHC I ve MCH II gibi yüzey proteinleri spesifik moleküllere tutunduğunda cevap oluştururlar. Bu tip yüzeye makrofajlar, B lenfositler ve dentritik hücreler sahiptir [62]. IL-13 fibroblast, epitel ve fagositik hücrelerden salgılanarak kronik yangıyı kollagen sentezi ve mukus artışı ile oluşturur [63].



Şekil 2.5. Astım inflamasyonunun multimediatörleri [59]

2.3.2. Remodelling

Hava yollarının yeniden düzenlenmesi anlamına gelen remodellingi tanımlamak oldukça güçtür. Astımlı bireylerin hava yollarında ve ilgili hücre ile dokularda normalden farklı olarak meydana gelen değişiklikler olarak tanımlanabilir. Remodelling patolojik süreçteki ilgili mediyatör (LT ve PG) ve sitokinlerin (IL, TNF-alfa ve TNF-beta) görev yapması ile meydana gelir. Ayrıca PDGF, GM-CSF, EGF, TNF, IGF-1 gibi faktörlere de bağlıdır. Bu süreçte astımlı kişilerde mast hücresi, fibroblast ve lenfosit miktarına bağlı olarak subepitelyal fibrozis, mukus artışı vb. gibi inflamasyon olayları gözlenir. Ayrıca düz kas hipertrofisi, goblet hiperplazisi ve anjiogeneze gerçekleşir [64-66].

Remodellingte etkili olan angiogenezis, büyüme faktörlerinden olan Angiopoietinler (Ang-1, Ang-2 gibi) ile gerçekleşerek inflamasyonda etki gösterirler [67].

2.4. Astımın Sınıflandırılması

Astım sınıflandırılması birden fazladır. Sınıflandırılması aşağıdaki tablodaki gibi ikiye ayrılır:

Çizelge 2.1. Astımın sınıflandırılması[51]

A- ETİYOLOJİYE BAĞLI	B- PATOGENEZE BAĞLI
1- İlaçlara bağlı gelişen	1-Alerjik Astım
2- Egzersize bağlı gelişen	2-Alerjik Olmayan Astım
3- Mesleğe bağlı gelişen	
4- Emosyonel nedenlere bağlı gelişen	
5- Latent astım	
6- Solunumsal sorunlara bağlı gelişen	

2.5. Oksidatif Stres

Hücrelerde metabolik faaliyetler sonucu doğal olarak serbest radikaller meydana gelir. Bu radikaller çok hassas bir düzen ile oksidan –antioksidan sistemler ile dengelenir. Eğer herhangi bir nedenle bu düzen bozulursa hücrelerde hasara yol açabilecek olaylar meydana gelir. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Hücreler normalde antioksidan sistemleri ile oksidatif stresi dengelerler. Fakat antioksidanların yeterli gelmediği durumlarda artan oksidatif stres DNA, protein gibi makro yapıların bozulmasına neden olur. Bu yüzden birçok hastalık oksidatif stres ile yakından alakalıdır (Çizelge 2.1.) [68,69].

Çizelge 2.2. Oksidatif hasar ile alakalı hastalıklar[70]

1-Astım
2-Kanser
3-Ateroskleroz
4-Alzheimer
5-Thalassaemia
6-Multiple skleroz
7-Diyabet
8-Hipertansiyon
9-Parkinson
10-Romatoid artrit
11-Pnömoni
12-Hepatit
13-İnflamasyon hastalıkları

2.5.1. Serbest radikaller

Yüksek reaktiviteye sahip olan serbest radikaller, hücrenin içinde meydana gelir ve birçok disfonksiyondan sorumludurlar.[71]

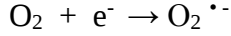
Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran reaktif moleküllerdir. Reaktivite özelliklerini, eşlenmemiş elektronlarını tamamlamak için diğer moleküllerle hızlıca birleşme sonucu gösterirler [72,73].

Bu reaktivite olaylarının sonucunda hücre ve doku hasarları oluşur. En önemli reaktivite gösteren moleküller oksijen ve reaktif molekül türevi olan H_2O_2 (Hidrojen peroksit) ve geçiş metalleridir [74].

Süperoksit Radikali

O₂ 'nin bir elektron indirgenmesi ile süperoksit radikalleri oluşur. Reaktivitesi çok yüksek değildir. Eozinofil, nötrofil, monosit gibi fagositoz yapan hücreler süperoksit radikali üretebildiği bilinmektedir. LO ve COX süperoksit oluşturan enzimlerdir [68,75].

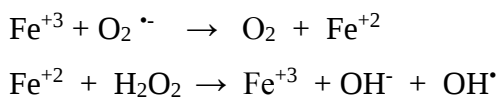


Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksitin indirgenmesi, hidrojen peroksit ile süperoksitin birleşimi ya da hidrojen peroksitin indirgenmiş metaller ile birleşmesi sonucu çok yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikali oluşur [76].

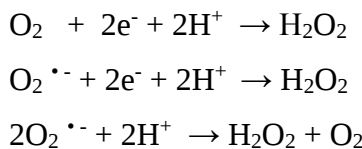


Haber-Weiss tepkimesi çeşitli metal iyonları ile de meydana gelebilmektedir. İyonlar önce süperoksit ile indirgenir. Daha sonra hidrojen peroksit ile birleşerek hidroksil radikalini oluşturur [77].



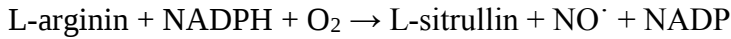
Hidrojen Peroksit

Oksijen üreten sistemler enzimatik olmayan ya da SOD'un katalizlediği reaksiyon ile hidrojen peroksit oluşumu söz konusudur. Hidrojen peroksit radikal değildir ve sınırlı reaktiviteye sahiptir. Buna rağmen hücre membranını katedebilen bir moleküldür. Katalaz, glutatyon peroksidaz ve benzeri oksidazlar bu sistemlere karşı koruma sağlar [78].



Nitrik Oksit (NO)

Solunum sisteminde, hava yolu epitel hücreleri, vasküler endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, fibroblastlar ve nöronal sinapslar dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde NO sentezleri bulunur. NO oluşumu, NO sentazın katalizlediği tepkime sonucu L-arginin ile meydana gelir. NO 'nun en yüksek orbitalinde eşlenmemiş elektronu mevcut olup, yüksek reaktiviteye sahip bir moleküldür. Bu sebeple oksidatif stres oluşturur [79-81].



2.6. Astım ve Antioksidan Mekanizmalar

Serbest oksijen radikallerin (SOR) miktarı hücrede arttığında oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stresden korunmak için hücreler antioksidan (glutasyon, α -tokoferol, askorbik asit, β -karoten) ve koruma proteinlerin üretimini artırır. Ayrıca antioksidan enzimlerden olan SOD, CAT, Glutasyon peroksidaz da hücreleri oksidatif strese karşı korur. Hücrelerde süperoksit radikali, hidroksil radikali, nitrik oksit, peroksit radikal ve H_2O_2 reaktivite gösteren O_2 türleri ve serbest radikalleri doku hasarına neden olur. Serbest radikaller ve benzeri etkiye sahip moleküller hücredeki çeşitli yağ asitlerini(PUFA) ve proteinleri etkileyerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Bu durum hücrelerde hasar oluşturur. Çeşitli antioksidanlar bu mekanizmayı inhibe eder [72,82-84].

2.6.1. Enzimatik antioksidanlar

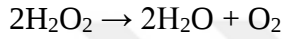
SOD: Birçok farklı formda bulunan süperoksit dismutaz, enzimi damar tonusu ayarlama, antioksidan etki mekanizmasına sahip olma gibi birden fazla özelliğe sahiptir. SOD ayrıca reaktif oksijen türlerinden süper oksit radikale elektron vererek indirgenme reaksiyonu meydana getirirken, CAT ve GPx Hidrojen peroksidi H_2O 'ya indirger. Başka bir mekanizma da ise SOD, demirin indirgenmesini meydana getirerek oksidatif stresi antioksidan mekanizması ile inhibe eder [17].



GSH-Px : Hidrojen peroksidi suya indirgeyen antioksidan mekanizması sayesinde oksidatif stresi ve hasarı ortadan kaldıran enzimdir. Selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi mevcuttur [85].



CAT: Hidrojen peroksidi parçalayan ve suya kadar indirgeyerek oksidatif stresi önleyen çok önemli bir antioksidan enzimdir [85].



GR (Glutasyon Redüktaz): NADPH var olduğunda GPx'in indirgediği GSSG'nin redüksiyonunu sağlayarak tekrar GSH oluşumunu katalizler [17].

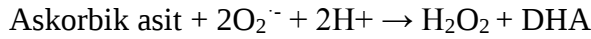
GST(Glutasyon S Transferaz): Lipit hidroperoksitlerine karşılık antioksidan kapasite gösterirler [17].

2.6.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

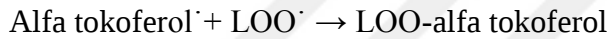
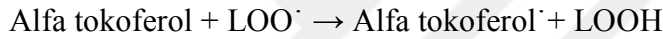
Melatonin : Hücrelerde MDA lipit peroksidasyonu ile çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkar. Bu sebeple birçok deneysel modellerde MDA seviyeleri ölçümü lipit peroksidasyonu hakkında bilgi verir [86,87]. Melatonin çok güçlü bir antioksidan olup dokularda ki MDA düzeylerini düşürürerek antioksidan etki gösterir. Böylece dokularda ciddi oranda koruyucu etkiye sahiptir. Ayrıca melatonin SOD, CAT, GPx, glucose-6-phosphatedehydrogenase (G6PD) gibi antioksidan mekanizmaya sahip olan enzimleri stimule eder [88,89].

Glutasyon ve Askorbik Asit : GST ve GPx enzimleri aktivitelerini göstermek için GSH'a muhtaçtır. GPx, hidrojen peroksiti ve diğer hidroperoksitleri zararlı olmayan moleküllere kadar ayırmak için redükte glutasyonu kullanır. GSH, hücre içinde fazla oranda redüksiyon mekanizmaya sahip bir tripeptit moleküldür [90,91]. GSH, Askorbik asit(AA), α -tokoferol gibi enzimatik olmayan antioksidanlar peroksidasyonu engelleyerek hücreyi korurlar. Bu mekanizmada GSH miktarı son derece önemlidir. Çünkü GSH diğer antioksidan

moleküllerin korunmasını, DNA'nın deoksiribonüklozid sentezleticilerin ortaya çıkması için ribonükleotidlerin indirgenmesini sağlar. Ayrıca GSH hücreyi radyasyona, oksidatif strese karşı korurken, PG ve LT'lerin metabolizmasında da görevlidir [92]. Askorbik asit antioksidan mekanizmasının yanı sıra tokoferol yenilenmesinde sağlar. Bu sayede birebir antioksidan etki gösterirken, antioksidan olan başka bileşiklerinde üretilmesini tetikler. Ayrıca AA, Fe ve Cu gibi tuzları indirger [85].



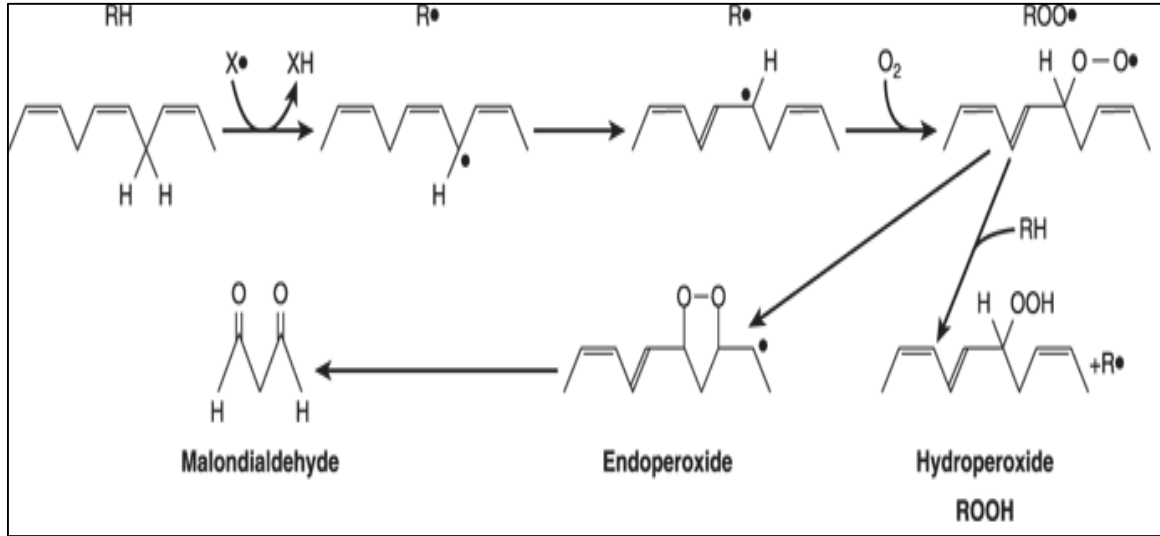
Alfa- tokoferol (Vitamin E) : Yağda eriyen önemli bir antioksidandır. Doğada alfa, beta gibi toplamda sekiz tip tokoferol bulunmaktadır. Kan plazmasında en fazla oranda antioksidan etkiye sahip olan alfa tipidir. Tokoferol radikallere elektron vererek lipit peroksidasyonunu önler. Böylece oksidatif stresi engeller [85].



Ayrıca Beta-Karoten, albümin, ubiquinon (Co Q10), ürik asit gibi bileşikler enzimatik olmayan antioksidanlardan olup, oksidatif strese karşı hücreleri ve dokuları korurlar [85].

2.7. Lipit Peroksidasyonu

Oksijen ile tepkimeye girerek peroksidasyona uğrayan lipit molekülleri, astımda dâhil birçok inflammatik hastalığın nedenidir. Hastalıklara neden olan bu etkenin, çoklu doymamış yağ asitlerinden meydana gelen çeşitli serbest radikallerden kaynaklandığı ifade edilmektedir. GPx, CAT, EDTA, selenyum, E vitamini ve birçok molekül lipit peroksidasyonunu direkt ya da dolaylı yoldan inhibe etmektedir. MDA, yağ asitleri tarafından oluşturulan lipit peroksidasyonunun bir belirtecidir. Doymamış yağ asitleri, başlangıçta reaksiyona çıkış veren oksitleyici radikal ile tepkimeye girer ve yağ asidi radikali oluşur. Bu radikal oksijen ile tepkimeye girerek peroksil radikali meydana gelir. Oldukça zararlı olan bu radikaller peroksidasyon zinciri meydana getirir. Bu durum dokularda oksidatif stres oluşturur [93-94].



Şekil 2.6. Lipit peroksidasyon zinciri [93]

Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikaller, hücre metabolizmasında oldukça önemli yer teşkil eder. Bu moleküller radikal olmayan moleküllere elektron eklenip ya da çıkması ile meydana gelir. Reaktiviteye sahip bu zararlı moleküller oksidatif stres nedeniyle hücre ve dokularda hasara neden olurlar (Çizelge 2.3.) [95].

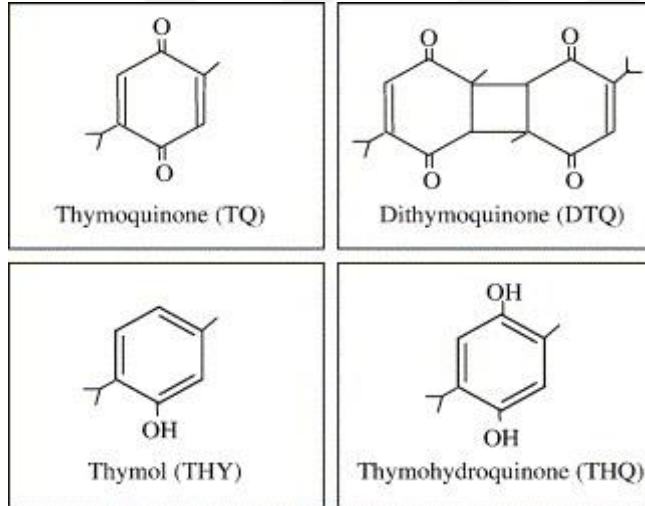
Çizelge 2.3. Serbest radikal kaynakları

I.Endojen Kaynaklar
Mitokondrial elektron transport zinciri Endoplazmik retikulum Redoks döngüsü Araşidonik asit metabolizması Fagositik hücreler ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz enzimleri vs. Otooksidasyon reaksiyonları
II. Ekzojen Kaynaklar
Diyet faktörleri Çevresel faktörler (hava kirliliği) İlaçlar, ksenobiyotikler ve zararlı ışınlar

2.8. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri

2.8.1. *Nigella sativa* L. (Çörek Otu)

Nigella sativa L. (çörek otu), Akdeniz, Hindistan gibi yerlerde bulunan Ranunculacea'ya ait bir bir otsu bitkidir. Timokinin ise çörek otundan çıkarılan bir aktif bileşendir [96]. *Nigella sativa*, 14 prelinik çalışmada bronkodilasyom, antihistaminik, antilökotrien ve immunomodülatör olduğu ispatlanmış bir bitkidir. İçerisinde timokinin, thymohydroquinone (THQ), dithymoquinone (DTQ), thymol (THY), α -hederin, alkaloidler, flavonoids, antioksidanlar, yağ asitleri gibi birçok bileşen içerir [97,98]. Çalışmamızda çörek otundan elde edilen timokinin, birçok özelliği yönünden tercih edilmiştir.



Şekil 2.7. *Nigella sativa*'nın bileşenlerinin kimyasal yapısı[20]

Birçok çalışmada TQ'nin süperoksit radikallarını ortadan kaldıran etki gösterdiği ortaya konmuştur. Yani oksidatif hasara karşı dokuları koruma özelliği gösterir. Siklooksijenaz(COX) ve lipooksijenaz (LO) farklı yollar kullanarak inflamasyonu meydana getiren enzimlerdir. Bu enzimler süperoksit radikallerini oluşturur. Bu inflamasyonu, COX Prostaglandin(PG) üretimi ile meydana getirirken, LO ise lökotrien(LT) üretimini arttırarak meydana getirir. TQ, COX ve LO'nun inflamasyona neden olmasını engellerken antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterir [99,75,100]. TQ, yapılan astım çalışmalarında hayvanlarda LTB₄ ve LTC₄ düzeylerini ciddi oranda azlatırken, inflamasyonun belirteci olan Th2 sitokini ve bronşalveolar lavajda eozinofili oranını da düşürmüştür [101].

2.8.2. *Ceratonia siliqua* (Harnup)

Leguminosae familyasından olan *Ceratonia siliqua* tür ismine sahip harnup bitkisi Akdeniz bölgesinde çok sık rastlanan bir bitkidir. Ekonomik getirisi olduğundan harnup yetiştiriciliği genellikle Akdeniz bölgesinde yapılmaktadır. Harnup beta-karoten, antioksidan, polifenolik bileşikler, araşidonik asid, lignin, karbonhidrat, yağ, Ca, K,P, aspartik asid, glutamik asid, E vitamini, ellagitaninler ve daha birçok molekül içeriğine sahiptir [102-106].

Ceratonia siliqua, keçiboynuzu ağacı olarak bilinen, kuraklığa dayanıklı kök sistemi bulunan ve birçok morfolojik değişiklikleri olan bir bitkidir. İçerisinde birçok flavonoid ve karotenoid bulunduran harnup, serbest radikallerin ortadan kaldırılması için antioksidan olarak kullanılmaktadır. Harnup yüksek oranda P ve Ca içerdiğinden kemik problemlerinde iyileştirici etki göstermektedir. Ayrıca birçok bileşeni sayesinde antioksidan, antibakteriyel, anti-diyaretik, anti-alerjik ve sakinleştirici olarak etki mekanizması göstermektedir [107-109].

Son yapılan çalışmalarda harnup içinde D-pinitol bulunduğu, D-pinitol'ün ise farmakolojik sağlıkta çok etkin olduğu ortaya konmuştur. Tarım, gıda, kozmetik ve ilaç sektöründe yararları benzersiz olan harnup gelecek vadeden bir bitkidir [108,110].

Yüksek oranda E,D,C,Niasin,B9, Kobalamin vitaminleri ve yüksek oranda da yağ asidi içeren harnup, antiproliferatif ve antikanser etkisine sahiptir [111].

Çizelge 2.4. *Ceratonia siliqua* 'nın önemli komponentleri[109]

1.Çeşitli alkoller(Etilen, Etilen glikol)
2.Aminoasidler (Alanin,Lösin,Serin,İsolösin,Prolin,Cadaverin)
3.Yağ asidler (Hexadecanoic acid,Linoleik asid,Stearik asid,Arachidic asid, Hexadecandioic acid)
4.Nitrogeniuslar (Ethanolamine, Aminoethanol)
5.Organik asidler (Laktik asid,Maleik asid,Succinic asid,Gliserik asid,Itaconic asid,Malic asid, γ -Aminobutyric asid,Erithronik asid,Threonic asid,Tartarik asid)
6.Fenolikler (Hidroquinon, Gallic asid, Catechin, Alizarine)
7. β -Sitosterol
8.Şekerler (Pentitol,Ribofuranoz,Fruktoz,Levoglucozan,Arabitol,Ribonic asid,D-Pinitol,D-Fruktopiranoz,D-Mannitol,Sorboz,Glukoz,Glukarik asid,Maltoz,Sükroz)
9.İnorganik maddeler (çeşitli mineraller)
10. Laktone (Xylonic asid)
11. Bilinmeyen bileşikler

3. MATERİYAL METOT

3.1. Deney Protokolü

Çalışmalar için Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan izin alındı (G.Ü.ET-16.035) ve doku örneklerinin alınma kadar olan tüm aşamalar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) laboratuvarında yapıldı. Deneylerde GÜDAM'dan sağlanan 18 adet yetişkin Wistar albino ırkı erkek rat (200-250 gr) kullanıldı. Deney öncesi ve deney sırasında ad libitum beslenen hayvanlar, deney süresince tek tek kafeslerde, $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ olan ve gün ışığı döngüsü paralelinde aydınlanan ortamda bakıldı. Sağlıklı ve astımlı hayvanlardaki TQ ve harnup kıyaslanması amacıyla oluşturulan gruplarda astımlı hayvanlara ovalbumin (grade V, ref.A5503-1G, Sigma Aldrich) i.p. uygulandı. Ratlar 3 gruba ayrıldı. Hayvan deneyleri GÜDAM' da, deneyin geriye kalan işlemleri ise Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında yapıldı.

3.2. Astım ve Tedavi Modelinin Dizayını

Çalışmamızda kullandığımız 18 adet Wistar albino erkek rat (200-250gr), 3 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar aşağıdaki gibi düzenlenmiştir:

1-Kontrol grubu (K)(n=6),

2-Deneysel astım grubu (A) (n=6),

3-Deneysel astım oluşturulup TQ ve H uygulanan grup (A+TQ+H) (n=6)

Her grupta 6 adet rat olacak şekilde düzenlemeler yapılmış olup, ortamın sıcaklık ve nem oranı sırasıyla $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve %40-60 olacak şekilde ayarlandı. Çalışma boyunca yapılan tüm uygulamalar üniversitemizin etik yönergesine uygun olarak yürütüldü. Hayvanlar ad libitum olarak deney öncesi ve deney süresince normal bir şekilde beslendi. Hayvanlar deney süresince tek tek kafeslerde, gün ışığı döngüsü düzeninde aydınlanan ortamlarda bakıldı.

Çalışmada kullanılacak TQ, 60°C 'de tutulan su banyosu kullanılarak 10mg/kg normal saline (PF % 0,9 izotonik) içinde çözülerek solüsyon hazırlandı ve gavaj uygulamasından hemen önce taze olarak hazırlanarak uygulamalar yapıldı. Harnup, oda sıcaklığında normal saline (PF % 0,9 izotonik) içinde çözdürüldü ve solüsyon hazırlandı.

3.3. Duyarlılaştırma ve İnhalasyon Uygulaması

Astım modellerinin uygulanacağı gruplarda (A ve A+TQ+H grupları) deneyin 0 ile 14. günlerinde olmak üzere intraperitoneal olarak ovalbumin (1mg/ml saline) ve astımda alerjeniteyi arttırmak içinde alum(1mg/ml saline)(Reagent grade,239186-25G,Sigma Aldrich) uygulaması yapılmıştır. Ardından, çalışma grupları çalışmanın 21, 22 ve 23. günlerinde 30dk nebulizer ile (Handyneb, SN.NGM 769576) ovalbumin(5 mg/ml saline) inhalasyonuna maruz bırakılmıştır. İnhalasyondan itibaren 5 gün boyunca TQ (274666-5G,Sigma Aldrich) ile Harnup solüsyonlarının karışımı intragastrik gavaj ile uygulanmıştır.



Resim 4.1. Astımlı ratlarda inhalasyon uygulaması.

Deney hayvanları standart terazide tartılıp ağırlıklarına göre intramüsküler olarak ketamin (Alfamanine 50mg/kg) ve ksilazin (Alfazyne 5mg/kg) enjekte edilerek genel anestezi sağlandı. Uygulamadan 24 saat sonra kurban edilen hayvanların karaciğer dokusunda MDA (Malondialdehit), GSH (Glutatyon), AA (Askorbik Asit) ve NO (Nitrik oksit) düzeyleri spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

3.4. Deneyin Yöntemi

3.4.1. Dokuda MDA tayin yöntemi

Buege ve Aust'un yöntemi uygulanmıştır [112]. Karaciğer dokusu, 5000 rpm'de(Heidolph-8F rpmx 1000) 2 dakika boyunca bir glass-Teflon homozigenizer kullanılarak 10 volume(w/v) ice-cold 150mM KCl içerisinde homojenleştirildi. Doku numunesi proteini çöktirmek için 2 volume soğuk %15(w/v) TCA ile karıştırıldı. Oluşan çökelti, santrifüjlendi ve süpernatantın bir miktarı, 10 dakika kaynar su banyosunda eşit miktarda % 0,67 (w/v) TBA ve % 1(w/v) BHT(%95 Ethanol) ile reaksiyona sokuldu. Soğutma yapılırken, absorban 532 nm'de spektrofotometrik olarak okuma gerçekleştirildi.

3.4.2. Dokuda GSH tayin yöntemi

Elman yöntemi düzenlenerek dokuda GSH ölçümü için kullanıldı. Doku örnekleri, 0.15 M soğuk KCl'de homojenleştirildi ve 0.5 ml metafosforik asit-EDTA-NaCl karışımı, deproteinizasyon için homojenata ilave edildi. 4000 rpm'de 4°C'de yapılan santrifüjün 20 dakikasından sonra, supernatantın 0.5ml'sine 2 ml 0.3M Na₂HPO₄'den, 2 ml DTNB çözeltisi (0.4 mg/ ml %1 sodium citrate) eklendi. Tüm numuneler 412 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Dokuda GSH seviyesi, gram doku başına µmol olarak hesaplandı [113].

3.4.3. Dokuda AA tayin yöntemi

Berger tarafından düzenlenen Roe ve Kutherin metodu kullanıldı. Dokular, ice-cold PCA / EDTA karışımında homojenleştirildi. Sonraki süreçte homojenat, 4°C'de 3 dk 15000g (RCF)'de santrifüjleme yapıldı. Bir tüp standart AA çözeltisi olarak, diğer tüp PCA çözeltisi olarak yerleştirildi ve örnekler süpernatant tüplerinde hazırlandı. Tüplerin hepsi ayrı ayrı 3 saat 37 ° C'de renk reaktifi eklenerek inkübe edildi. Numunelerin sıcaklığı her tüpe sülfirik asit eklenerek 0 °C'ye getirildi ve karıştırıldı. Karışım daha sonra oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Numuneler, 520nm'de spektrofotometrik okundu. Dokuda AA seviyesi, ml doku başına µg olarak hesaplandı.

3.4.4. Dokuda NO_x tayin yöntemi

NO_x seviyesi, kararlı son ürünler olan nitrit ve nitrata göre belirlendi. NO_x düzeyi dokuda Griess tepkimesi ile belirlendi. Özetle, 0,3M NaOH ve %10 ZnSO₄ deproteinizasyon için 0.5ml numuneye eklendi. Karışım deney devamında 20 dk 3000 g'de santrifüjlendi. Sonra süpernatantlar Griess deneyi için kullanıldı. NaNO₂ ve NO₃ çözeltileri (1,10,50,100 µM) standart olarak kullanıldı [114].

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. İstatistik AnovaVaryans Analizi ile yapılmıştır. İstatistik sonuçları anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

4. BULGULAR

Çalışmamızda OVA ile astım oluşturulmuş ve alum ile inhalasyona maruz bırakılmış ratlara, TQ+H tedavisi uygulanmıştır. Yapılan uygulamanın amacı, astımdaki oksidatif stresin karaciğer dokusunda meydana getirdiği hasar üzerinde TQ ve harnubun etkisini ortaya çıkarmaktır. Daha önce harnubun bu şekilde bir çalışmada kullanılmamış olması çalışmamızı özgün bir hale getirmiştir. Kontrol grubu, deneysel astım (A) grubu ve deneysel astım oluşturulduktan sonra TQ ve H uygulanan (A+TQ+H) gruplardaki karaciğer dokusunda yapılan analizlerde MDA, GSH, AA ve NOx düzeyleri Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Astımlı ratların karaciğerlerindeki MDA, GSH, AA ve NOx düzeyleri

GRUPLAR	MDA Düzeyi(nmol/gr doku)	GSH Düzeyi (mikromol/gr doku)	AA Düzeyi (mikrogram/ml)	NOx Düzeyi (nmol/gr doku)
KONTROL [n=6]	8,02 ±0,22	11,29±0,26	10,33±0,41	71,63±7,9
ASTİM [n=6]	9,88±1,10 a	9,37±0,45 *a	9,37±0,40 *a	116,14±0,64 *a
A+TQ+H [n=6]	13,99±0,84 *	11,78±0,70	11,15±0,49 c	71,77±1,69

* P < 0.05 Kontrolle karşılaştırıldığında

a P < 0.05 A+TQ+H grubu ile karşılaştırıldığında

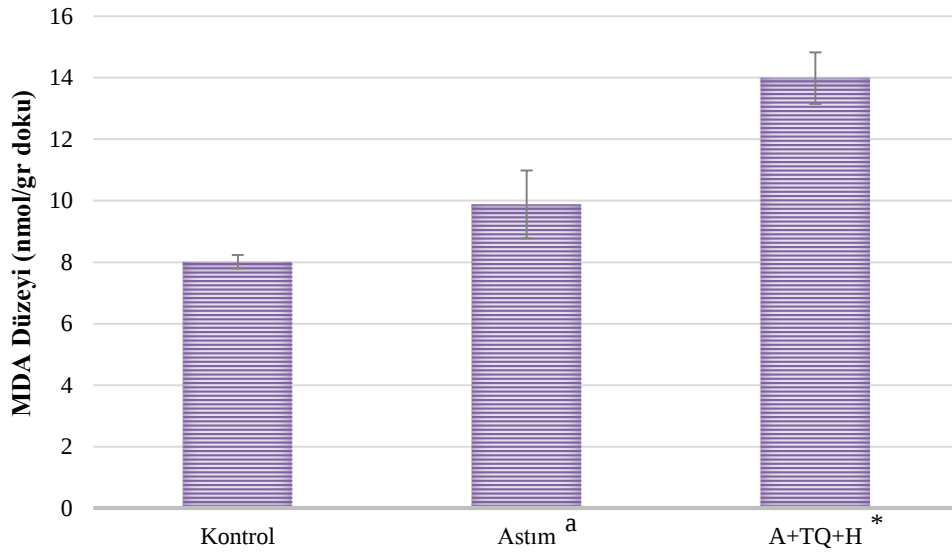
c P < 0.05 Astım grubu ile karşılaştırıldığında

Gruplar arasındaki anlamlı değişikliği ölçmek için parametre olarak MDA, GSH, AA ve NOx kullanılmış olup, farklar istatistiksel olarak yorumlanmıştır. Sonuç olarak, karaciğerdeki MDA seviyeleri, K grubu ile karşılaştırıldığında hem A grubu hem de A+TQ+H grupları arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir (p < 0.05). TQ+H tedavilerinin beraber uygulandığı grubun (A+TQ+H) karaciğer dokusunda GSH ve AA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir (p < 0.05). Karaciğer dokusundaki NOx seviyelerine bakıldığında astım (A) grubunda artış görülürken, tedavi grubta istatistiksel azalma görülmüştür.

MDA Düzeyleri

Gruplara göre yapılan karaciğer MDA düzey analizleri Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında hem astım grubunda hem de A+TQ+H grupları arasında MDA düzeylerinde anlamlı bir istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Uygulanan tedavili grupta MDA'nın yüksek çıkması, karaciğerde TQ ve harnubun metabolize olması sonucu artan lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı yorumunu yapabiliriz. Bu bulgular ışığında daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.



Şekil 4.2. Astımlı ratların karaciğerlerinde MDA düzeyi.

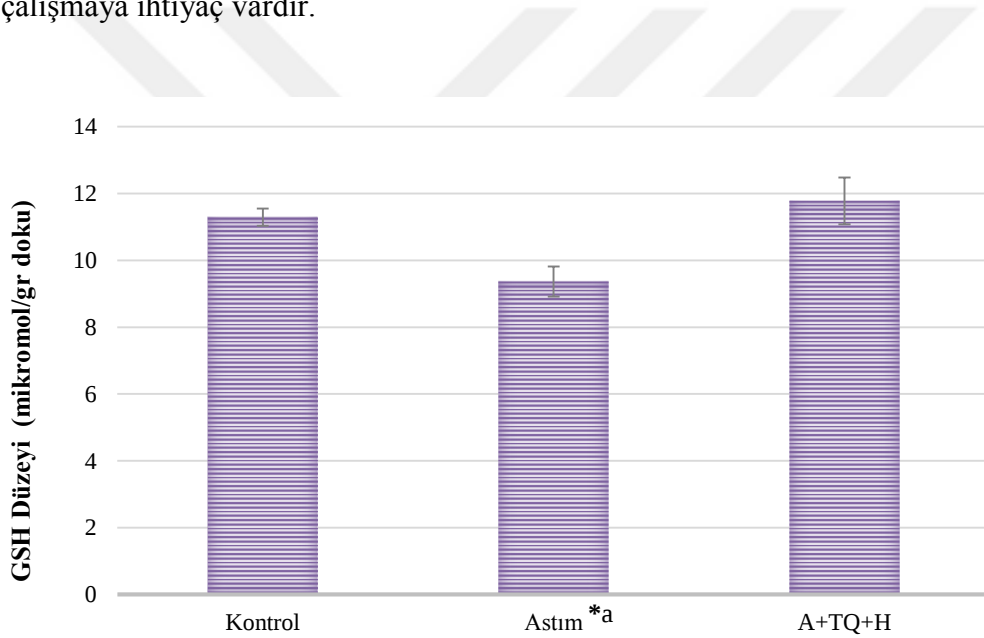
* $P < 0.05$ Kontrolle karşılaştırıldığında

a $P < 0.05$ A+TQ+H grubu ile karşılaştırıldığında

GSH Düzeyi

Gruplara göre yapılan karaciğer GSH düzey analizleri Şekil 4.3.'de gösterilmiştir TQ ve H birlikte uygulandığı tedavili grupta diğer gruplarla kıyaslandığında karaciğer dokusunda GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p < 0.05$).

Tedavi sayesinde karaciğer dokusunda oksidatif strese karşı antioksidan kapasite göstermesi için GSH üretimi artmıştır. Çünkü karaciğer tedavi sayesinde lipid peroksidasyonunu ve dolayısı ile oksidatif hasarın zararlı etkilerini ortadan kaldırabilmek için antioksidan kapasitesini arttırmak zorunda kalmıştır. Tüm bu bulgulara rağmen hala daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



Şekil 4.3. Astımlı ratların karaciğer dokusu GSH düzeyleri

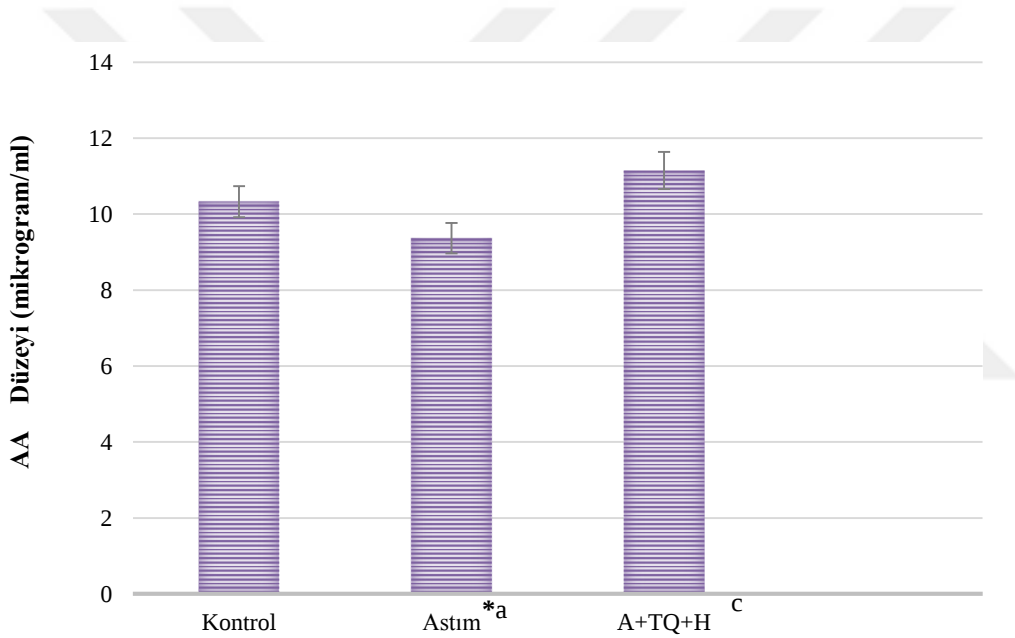
* $P < 0.05$ Kontrolle karşılaştırıldığında

a $P < 0.05$ A+TQ+H grubu ile karşılaştırıldığında

AA Düzeyleri

Gruplara göre yapılan karaciğer AA düzey analizleri Şekil 4.4.'de gösterilmiştir. TQ ve H birlikte uygulandığı tedavili grupta karaciğer dokusunda AA düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır. ($p < 0.05$).

TQ ve özellikle harnup yoğun AA oranına sahiptir. Özellikle bu ve benzeri metabolik faaliyetlerin karaciğer de yoğun olarak meydana gelmesinden dolayı kurban edilecek dokularda AA miktarı yüksektir. Hayvanlara tedavi uygulandığında bu düzeyin yükselmesi ve antioksidan etki göstermeye yardımcı olması beklenen bir bulgudur.



Şekil 4.4. Astımlı ratların karaciğer dokusu AA düzeyi.

* $P < 0.05$ Kontrolle karşılaştırıldığında

a $P < 0.05$ A+TQ+H grubu ile karşılaştırıldığında

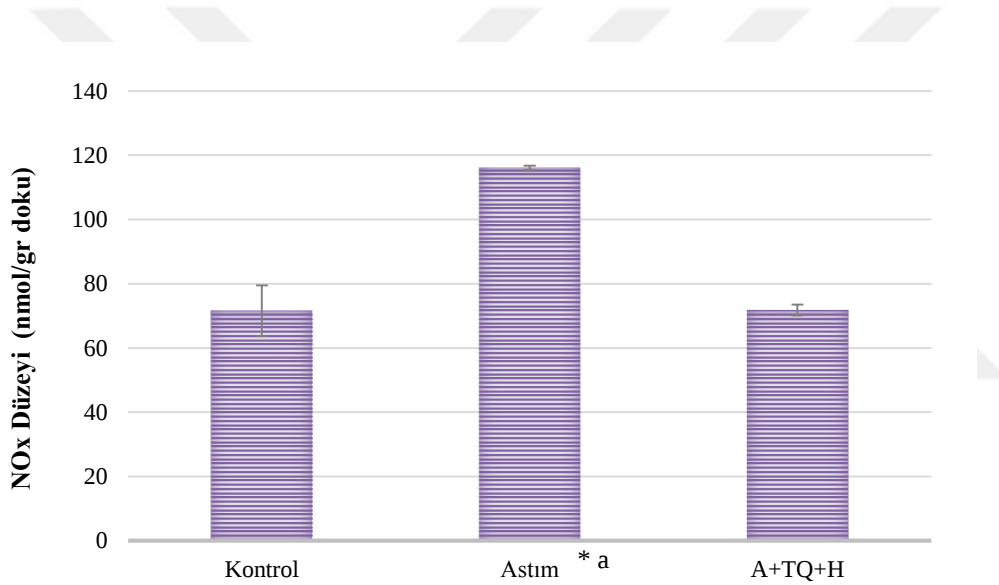
c $P < 0.05$ Astım grubu ile karşılaştırıldığında

NO Düzeyleri

Gruplara göre yapılan karaciğer NO düzey analizleri Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.

Astım grubundaki artmış NO düzeyleri, TQ ve Harnubun birlikte uygulandığı tedavili grupta istatistiksel olarak azalmıştır.

Sonuçlardaki azalma yapılan tedavinin(TQ+H) içeriğindeki bileşiklerden kaynaklı olarak antioksidan kapasite göstermesi ve lipit peroksidasyonu ve dolayısıyla oksidatif hasarı indirgemesi ile meydana gelmiştir. Bu durum tedavinin antiastimatik etkisini göstermektedir.



Şekil 4.5. Astımlı ratların karaciğer dokusu NOx düzeyi.

* P < 0.05 Kontrolle karşılaştırıldığında

a P < 0.05 A+TQ+H grubu ile karşılaştırıldığında



5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Astım, nefes darlığı hışıltılı solunum, göğüste sıkışma ve öksürük ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. WHO (Dünya Sağlık Örgütü) astım hastalığını dünyadaki kritikliği yüksek hastalık sıralamasında 14.sıraya koymuştur. Yüksek derecede kronik astımlı kişilerin prevalansı dünyadaki tüm insanların yaklaşık % 5- 10'unu oluşturmaktadır. Astım hastalığının mast, eozinofil, makrofaj, lenfosit hücrelerinin akciğer doku infiltrasyonuna neden olduğunu birçok çalışma ortaya koymuştur. Hastalık çeşitli kişisel (genetik vb.) ya da çevresel(alerjenler, iritanlar vb.) etmenlerden etkilenmektedir. Astım tedavisi olarak çoğunlukla inhale steroidler, beta agonistler kullanılmakla beraber az oranda antikolinerjikler de tercih edilmektedir fakat bu konuda theophyllinin etki mekanizması tartışmalıdır [11-13,115].

Nigella sativa (NS)'dan elde edilen TQ, antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal etki gösteren bir bileşiktir. Birçok çalışmada bu etkileri ortaya konmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda NS'nin antioksidan etki, trombosit agregasyonu ile koagülasyon önleyici etki yaptığı gösterilmiştir [20,116-117]. Tüm bu sonuçlar, TQ ve harnubun beraber kullanımının astımda karaciğer dokusu üzerine pozitif bir şekilde etki ettiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma göstermektedir ki TQ ve harnubun beraber uygulanması astımın oksidatif hasar oluşturan etkisini ortadan kaldırmaya yardımcı olmaya yönelik etki göstermiştir. Burits ve Bucar'ın yaptığı çalışmada, NS'nin antioksidan etkisini ispatlamaları bizim çalışmamızı da destekler niteliktedir [117].

Houghton ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada timokininin, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibe edici özelliği ispatlanmıştır [118]. Çalışmamızın sonuçlarındaki TQ+H uygulanan gruptaki NOx seviyesindeki belirgin azalma da oksidatif etki üzerindeki inhibe edici etkiyi vurgulamaktadır. Ayrıca El-Abhar ve ekibinin yaptığı çalışmada, timokininin serbest radikal kaynaklı meydana gelen mide hasarlı ratlar üzerinde, antioksidan özelliğiyle koruyuculuk yaptığı tespit edilmiştir [119]. Astımda inflamasyonu çoğunlukla oksidatif stresin meydana getirdiği etki, eozinofil infiltrasyonu ve birçok hücrenin neden olduğu olaylar zinciri meydana getirmektedir. Dolaşımdan hava yollarına süzülen eozinofil aktivasyonu ile çeşitli enzim ve medyatörler salgılanarak doku dejenerasyonu meydana gelir. Antioksidan mekanizmanın devreye girmesi ile bu etki azaltılmaktadır [120,121].

Tüm bu sebeplerden dolayı oksidatif hasar sırasında önemli antioksidanlardan olan GSH ve AA'nın çalışmamızdaki seviyelerinde meydana gelen artışın, antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösteren TQ ve harnuptan kaynaklandığı yorumunu yapabiliriz. Hajhashemi ve arkadaşları timokininin antiinflamatuvar etki gösterdiğini kanıtladıkları çalışmaları, bizim çalışmamızı ve düşüncemizi desteklemektedir [120].

Sisteinil lökotrienler, astımlı bireylerin hava yolunda 5-lipoksijenaz yolu aktivasyonu ile makrofaj, eozinofil gibi hücrelerden salgılanan önemli inflamatuvar molekülleridir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CysLT'lerin astımda yerinin önemi açıkça ortaya konmaktadır. Çalışmada, elde edilen veriler ışığında timokininin, anti-astım etkisini CysLT reseptör blokması ile LO yolunu inhibe ederek meydana getirebileceği ortaya konmuştur [122]. Ayrıca Şahin'in yapmış olduğu çalışmanın sonuçları da TQ'nin blokaj özelliğini desteklemektedir [16]. Işık A.F. ve arkadaşları da çalışmaları sonucunda TQ' un, araşidonikasitten, COX ve 5-LO yolunu bloke ederek astım engelleyici etkisini ortaya koyduğunu ileri sürmüşlerdir [123]. Yapılan başka bir çalışmada El- Dakhkhny ve arkadaşları TQ' un astım önleyen yönünü hem COX hem de 5-LO enzimini bloklayarak meydana getirdiğini ileri sürmüşlerdir. Böylece TXB2 ve LTB4 meydana gelmeyecek ve antiastmatik etki meydana gelecektir [96]. Bu görüşü destekleyen bir diğer çalışmada Mansour M. ve arkadaşlarının TQ'nun 5- LO ve LTC4 sentaz enzimlerini bloke ederek astımı baskılayan bir etkiye sahip olduğunu savunan çalışmadır [99]. Bu bilgilerden yola çıkarak bizim çalışmamızdaki oksidatif stresin ortadan kaldırılması için TQ, 5- LO yolağının blokajını da kullanmış olabileceği yorumunu yapabiliriz.

Balaha ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, NS'den oluşan tedavilerinin Th2 sitokin üretimini (IL-4, IL-5, IL-13) baskıladığını göstermişlerdir [124]. Astımlı bireylerde yüksek olan bu sitokin miktarlarının baskılanması NS'nin içeriğindeki etkenlerin antiastmatik etki mekanizmasına sahip olduğunu gösterir. Bu etkenlerden biri de TQ'dur. TQ, birçok yolağın yanı sıra histamin ve serotonin reseptörlerini bloklamasını da sağlar [125].

Chakravarty N. ve arkadaşlarının çalışmalarının sonuçları da diğer birçok çalışmayı destekler nitelikte olup, TQ'nun antihistaminik mekanizmaya sahip olduğunu vurgulamaktadır. Ancak bu mekanizmaya sadece TQ'nun değil oksidatif stresin de etki edebileceğine yer verilmiştir [126]. NS içeriklerinden hangisinin daha fazla antiastmatik etkiye sahip olduğuyla alakalı daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda 10mg TQ ve harnup uygulaması sonucunda karaciğer dokusundaki oksidatif etkinin ciddi ölçüde azaldığı ortaya konmuştur. TQ'nin yanı sıra harnup kullanmamızın en önemli nedeni harnubun; antioksidan, antiinflamatuvar gibi etkilerinin olmasıdır [110]. Harnup bitkisinin etki mekanizmasının nedenlerinin ortaya konulabilmesi için içindeki bileşiklerin aydınlatılması gerekmektedir. Buna yönelik Pazır ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ceratonia siliqua* bitkisinde birçok fenolik bileşiğin, minerallerin ve ayrıca antikanserojen etki gösteren D-pinitol bulunduğu ortaya konmuştur. Birçok çalışmada tüm bu bileşikleri içermesinden dolayı harnubun kardiyovasküler, obezite ve daha birçok hastalığa iyi geldiği söylenmektedir [27]. Ayrıca harnubu kullanmamızda ki bir diğer neden ise daha önce antiastmatik etkisi ile ilgili çalışma olmayan bu bitkinin, astımın karaciğer dokusundaki oksidatif etkisine nasıl bir etki oluşturacağıdır. Daha önceki birçok çalışmada TQ'un düşük dozlarda antiastmatik etkiye tek başına neden olamayacağı gösterilmiştir [127]. Biz çalışmamızda TQ dozunu 10mg/kg oranında kullandık. Bu nedenle sonuçlardaki anlamlı değişikliklerin sonucu olan antiastmatik mekanizmayı, TQ'un tek başına değil harnupla beraber ortaya koyduğunu söyleyebiliriz.

ROS türevlerinden olan NO lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve antioksidan seviyesi üretilen NO'dan az olduğunda oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden antioksidan moleküllerin arttırılması oksidatif stresi ortadan kaldırabilir [128]. Mekhoukhe ve arkadaşlarının 2018'de yapmış oldukları çalışmada harnubun içerdiği fenolik bileşiklerin iyi bir antioksidan özelliği gösterdiği ortaya konmuştur [129]. Çalışmamızın bulguları arasında tedavili gruptaki NOx düzeylerinin anlamlı azalmasını Mekhoukhe ve arkadaşlarının çalışması her ne kadar desteklesede hala harnup ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Astımda meydana gelen oksijen radikallerindeki artış karaciğerde dâhil birçok organda hasar meydana getirmektedir. MDA düzeyleri, dokulardaki lipid peroksidasyonunun bir belirteci olduğundan oksidatif stres hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlar [88,130]. Oskouei ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada TQ, mitokondriden sentezlenen sitokrom c oranını azaltır ve böylece sitokrom c'deki azalma karaciğer dokusundaki MDA düzeyi ile lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir [131].

Çalışmamızda uyguladığımız tedavileri diğer gruplar ile karşılaştırmak için MDA ve NOx seviyelerini beraber kullandık. Çünkü iki parametrede lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin göstergesidir. Bizim çalışmamızda en anlamlı fark NOx seviyelerinde ortaya çıkmıştır.

Tedavili gruplarımızda NOx seviyesi ciddi oranda azalmıştır. Bu da tedavi olarak uyguladığımız TQ ve harnubun lipit peoksidasyonu ve oksidatif hasarı ortadan kaldırmaya yardımcı olduğunu ifade etmektedir. Tedavili gruptaki MDA'da meydana gelen artışın, uyguladığımız TQ ve harnubun karaciğerde metabolize olması sonucu lipit peroksidasyonunda ki artıştan kaynaklandığı yorumunu yapabiliriz. Bu sonuçlar bize uyguladığımız tedavi ile daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Astımda dâhil birçok akciğer hastalığının nedeni olarak, hücrelerdeki redox tepkimeleri, dönüşümü olmayan DNA'daki oksidatif etkiler gösterilmektedir. Ayrıca mitokondrinin fonksiyon bozukluğu, NOx enzim hasarı ve antioksidan düzenin bozulması da oksidatif strese ve dolayısı ile hasara yol açtığından birçok çalışmada hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir [132].

GST ve GPx enzimleri etkilerini ortaya çıkarabilmek için GSH'a muhtaçtır. GPx, hidrojen peroksiti ve diğer hidroperoksitleri zararlı olmayan moleküllere kadar ayırmak için GSH'ı kullanır. Redükte glutatyon(GSH), hücre içinde fazla oranda redüksiyon mekanizmaya sahip bir tripeptit molekülüdür [90-91]. GSH seviyeleri, astım gibi birçok inflamatuvar akciğer hastalığını etkileyen önemli belirteç olarak kabul edilir. Birçok çalışmada oksidatif strese etki mekanizması GSH ile belirlenmektedir. Laxmi ve ark. yaptığı çalışmada da uygulanan tedavinin oksidatif stres üzerindeki terapötik etkisi serum GSH, MDA ve NOx seviyeleri ile belirlenmiştir [133-134]. Çalışmamızda doğru parametreleri kullandığımızı Laxmi'nin çalışması da desteklemektedir. GSH, bir antioksidan olması sebebiyle çalışmamızda oksidatif stresi ortadan kaldırıcı etkiye sahiptir. Tedavili gruplarda GSH seviyesinin ciddi artışı, lipit peroksidasyonunun ve dolayısı ile oksidatif stresin ortadan kaldırılmaya çalışıldığının bir göstergesidir. Bu etkiyi gerek diğer antioksidanların miktarının artışına yardımcı olarak gerekse de PG ve LT metabolizmasını düzenleyerek yapmış olabilir. Astımlı ve tedavisiz grupta azalmış GSH seviyesi bize, NOx seviyesinde artış olduğunu ve bu yüzden oksidatif stresin oluştuğunu göstermektedir. Çünkü radikallerin miktarı antioksidan üretimini aşarsa oksidatif hasar oluşmaya başlar.

Mao ve arkadaşları da dâhil birçok bilim insanı çalışmalarında çeşitli antioksidanların astıma etkisini incelemiş ve antioksidanların seviyelerindeki azalışın astım riskini arttırdığını ortaya koymuşlardır [135-136] . Bizim de çalışmamızda kullandığımız bir diğer parametre bu yüzden AA olmuştur. Çünkü AA da aynı GSH gibi antioksidan özelliğe sahiptir.

Tedavili grupta AA'da ki artış bize astımda uyguladığımız TQ ve harnubun oksidatif stresi ortadan kaldırmak için antioksidan seviyesini yükseltmeye yardımcı olduğunu göstermektedir. Ayrıca uyguladığımız tedavi içeriğinde ve özellikle harnup içinde bulunan AA düzeyinin fazlalığı, astımda antioksidan kapasiteyi arttırmaya yardımcı olmuştur. Böylece karaciğerde artmış antioksidan seviyesi lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasarı ortadan kaldırarak astımın seyrini azaltmaya yardımcı olmuştur.

Bu çalışmanın sonuçları gösteriyor ki astımlı karaciğer dokusundaki TQ ve harnup oksidatif hasarı; antioksidan mekanizmayı güçlendirip, oksidasyon ve peroksidasyon olaylarını inhibe ederek önlemiştir. Daha önce benzer çalışma olmamasından dolayı daha fazla uygulamaya ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. (GINA) GI for A. (2018.). *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*.
2. Busse, W.W. (2007). Expert panel report 3 (EPR-3): guidelines for the diagnosis and management of asthma- summary report 2007. National Asthma Education and Prevention Program. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 120(5), 94–138.
3. Kılınç, O., Akgün, M. (2016). Astım Tanı ve Tedavi Rehberi 2016. *Türk Toraks Derneği Dergisi*, 17, 1-4.
4. Cukic, V., Lovre, V., Dragisic, D. Ustamujic A.(2012). Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) – Differences and Similarities. *Mater Sociomed*, 24(2), 100–105.
5. Beasley, R., Roche, W.R., Roberts, J.A., Holgate, S.T. (1989). Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *American Review of Respiratory Disease*, 139, 806.
6. Elias, J.A., Lee, C.G., Zheng, .T, Ma, B., Homer, R.J., Zhu, Z. (2003). New insights into the pathogenesis of asthma. *The Journal of Clinical Investigation*, 111, 291-297.
7. Salomonsson, M., Malinovschi, A., Kalm-Stephens , P., Dahlin, J.S., Janson, C., Alving, K., Hallgren, J. (2019). Circulating mast cell progenitors correlate with reduced lung function in allergic asthma. *Clinical Experimental Allergy Abstract*.
8. Kokuludag, A. (2001). Monoclonal anti-IgE antibody treatment for asthma. *Türkiye Klinikleri J Allergy-Asthma*, 3, 27-33.
9. Köksal, B. (2012). *Astımlı Çocuklarda Serum Angiopoietin-1, Angiopoietin-2, Vascular Endothelial Growth Faktör Tümör Necrosis Faktör-α Düzeylerinin Değerlendirilmesi*. Yan Dal Uzmanlık Tezi. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri enstitüsü, Ankara. 1-9.
10. Feltis, B.N., Wıgnarajah, D., Reid, D.W., Ward, C., Harding, R., Walters, E.H. (2007). Effects of inhaled fluticasone on angiogenesis and vascular endothelial growth factor in asthma. *Thorax*, 62(4), 314-9.
11. Wong, W.S., Leong, K.P.(2004). Tyrosine kinase inhibitors:A new approach for asthma. *Biohimica et Biophysica açta*, 1697, 53-69.
12. Muhamad, S.A., Muhammad, N.S., Ismail, N.D.A., Mohamud, R., Safuan, S., Nurul, A.A.(2019). Intranasal administration of Lignosus rhinocerotis (Cooke) Ryvardeen (Tiger Milk mushroom) extract attenuates airway inflammation in murine model of allergic asthma. *Experimental and therapeutic medicine*, 17(5), 3867-3876.

13. Koa, H., Sun, Y., Christopher, C., Huibin, Q., Alexander, K., Kristofer, J., Qian, S., Istvan, B., Sanjiv, S. (2015). Analysis of a Panel of 48 Cytokines in BAL Fluids Specifically Identifies IL-8 Levels as the Only Cytokine that Distinguishes Controlled Asthma from Uncontrolled Asthma, and Correlates Inversely with FEV₁. *PLoS One*, 10(5).
14. Naveed, S.U.N., Clements, D., Jackson, D.J., Philp, C., Billington, C.K., Soomro, I., Reynolds, C., Harrison, T.W., Johnston, S.L., Shaw, D.E., Johnson, S.R. (2017). Matrix Metalloproteinase-1 Activation Contributes to Airway Smooth Muscle Growth and Asthma Severity. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 195(8), 1000–1009.
15. Uchida, Y., Soma, T., Nakagome, K., Kobayashi, T., Nagata, M. (2019). Implications of prostaglandin D2 and leukotrienes in exhaled breath condensates of asthma. *Annals of Allergy Asthma Immunology*, 123(1), 81-88.
16. Şahin, N.Ö. (2006). *Thymoquinon'un Deneysel Astım Modelinde Antiastmatik Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
17. Kaltalıoğlu, K. (2012) *Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü'nün Yara Dokusu Oksidatif Olayları Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 32-41.
18. Sen C.K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of applied physiology*, 79(3), 675-86.
19. Pizzichini, E., Leff, J.A., Reiss, T.F. (1999). Montelukast reduces airway eosinophilic inflammation in asthma: a randomized, controlled trial. *The European Respiratory Journal*, 14, 12-18.
20. Salem, M.L. (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, 5, 1749-70.
21. Türктаş, H., Şekerel, B., Karakaya, G., Yıldız, F., Yorgancıoğlu, A. (2011). Astım tedavisinde uzun etkili beta-2 agonistlerin yeri ve güvenilirliği. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 59(4), 409-415.
22. Erge, D. (2010). *Metakolinle Atak Geliştiren Kronik Astımlı BALB/C Farelerde Nebulize Sildenafilin Akciğer Histolojisi, Oksijen Saturasyonu ve Kan Gazı Parametreleri Üzerine Etkileri*. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
23. Bahmania, M., Zargarab, A., Rafieian-Kopaei, M. (2014). Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. *Revista Brasileira Farmacognosia*, 24, 468-480.

24. El Gazzar, M., El Mezayen, R., Marecki, J.C., Nicolls, M.R., Canastar, A., Dreskin, S.C. (2006). Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology*, 6, 1135-1142.
25. Klenow, S. M., Gleib, R., Owen and B. Pool-Zobel. (2008). Carob Fibre compounds modulate parameters of cell growth differently in human HT29 colon adenocarcinoma cell than in LT97 colon adenoma cell. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1389-1397.
26. Houghton, P.J., Zarka, R., Delas, H.B., Hoult, J.R. (1995). Fixed oil of *Nigella sativa* and derived TQ inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membran lipid peroxidation . *Planta Medica*, 61(1), 33-6.
27. Pazır, F., Yüksel, A. (2016). Keçiboynuzu Meyvesi (*Ceratonia siliqua* L.) ve Sağlık. *Akademik Gıda*, 14(3), 302-306.
28. Christou, E.A.A., Giardino, G., Stefanaki, E., Ladomenou, F. (2019). Asthma: An Undermined State of Immunodeficiency. *International Review of Immunology*, 2, 1-9.
29. Lambrecht, B.N., Hammad, H. (2015). The immunology of asthma. *Nature Immunology*, 16(1), 45–56.
30. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. (2012). Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380, 2163-2196.
31. To, T., Stanojevic, S., Moores, G., Gershon, A.S., Bateman, E.D., Cruz, A.A., Boulet, L.P. (2012). Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *Bio Med Central Public Health*, 12, 204.
32. Papi, A., Brightling, C., Pedersen, S.E., Reddel, H.K.(2017). Asthma. *Lancet*, 391(10122), 783–800.
33. Leynaert, B., Sunyer, J., Garcia-Esteban, R., Svanes, C., Jarvis, D., Cerveri, I., Dratva, J., Gislason, T., Heinrich, J., Janson, C., Kuenzli, N., de Marco, R., Omenaas, E., Raheison, C., Gómez Real, F., Wjst, M., Zemp, E., Zureik, M., Burney, P.G., Anto, J.M., Neukirch, F. (2012). Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma: a population-based cohort. *Thorax*, 67, 625-631.
34. Busse, W.W., Lemanske, R.F., Jr.(2001). Asthma. *The New England Journal of Medicine*, 344(5), 350-62.
35. Li, H., Xiaoyan, D., Quanhua, L., Jie, L., Yixiao, B.(2009). Single nucleotide polymorphisms in genes predisposing to asthma in children of Chinese Han nationality. *Jinvestig Allergol Clinical Immunology*, 19(5), 391-5.

36. Ober, C.(2005). Perspectives on the past decade of asthma genetics. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 116, 274-278.
37. Holgate, S.T.(1999). Genetic and environmental interaction in allergy and asthma. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 104(6), 1139–46.
38. Salam, M.T., Zhang, Y., Begum, K. (2012). Epigenetics and childhood asthma: current evidence and future research directions. *Epigenomics*, 4(4), 415-429.
39. Güllökkan, K.(2018). *Astımlı Çocuklarda Astım Kontrolü İle Bronkodilatatör Yanıtı Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi*. Ankara Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi, Ankara.
40. Guler, N., Kirerleri, E., Ones, U., Tamay, Z., Salmayenli, N., Darendeliler, F. (2004). Leptin: does it have any role in childhood asthma? *Journal Allergy Clinical Immunology*, 114, 254-9.
41. Friedman, N.J., Zeiger, R.S. (2005). The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 115(6), 1238–48.
42. Devereux, G., Seaton, A.(2005). Diet as a risk factor for atopy and asthma. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 115(6), 1109–17.
43. Barnes, P.J.(2008). Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Review Immunology*, 8, 183–192.
44. Brightling, C.E., Bradding, P., Symon, F.A., Holgate, S.T., Wardlaw, A.J., Pavord, I.D.(2002). Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *The New England Journal of Medicine*, 346, 1699-1705
45. Barnes, P.J., Adcock, I.M.(1998). Transcription factors and asthma. *European Respiratory Journal*, 12, 221-234.
46. Cheng, D., Xue, Z., Yi, L., Shi, H., Zhang, K., Huo, X., Bonser, L.R., Zhao, J., Xu, Y., Erle, D. J. and Zhen, G. (2014). Epithelial interleukin-25 is a key mediator in TH2-high, corticosteroid-responsive asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 190, 639–648.
47. Wang, S.B., Guo, X.F., Weng, B., Tang, S.P., Zhang, H.J.(2019). Tanshinone IIA attenuates ovalbumin-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Iranian Journal of Basic Medical Science*, 22(2), 160-165.
48. Townley, R.G., Suliaman, F.(1987). The mechanism of corticosteroids in treating asthma. *Annals Allergy*, 58(1), 1-6.
49. Chung, K.F., Barnes, P.J.(1999). Cytokines in asthma. *Thorax*, 54, 825–857.
50. Kaliner, M.A.(1996). *Clinical immunology and practice*. Mosby-Yearbook, 909-923.

51. Emecen, Ö. (2009). *Astımlı Hastalarda Serum Total Oksidan / Antioksidan Status Ve Ecp Düzeylerinin Değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
52. Lieberman, P., Anderson, J.A. (2007). *Allergic Diseases: Diagnosis and Treatment (3th edition)*. New Jersey: Humana Press, 8, 107-141.
53. Weller, P.F. (1991). The immunobiology of eosinophils. *The New England Journal of Medicine*, 324, 1110-1118.
54. Peters, M.S., Rodriguez, M., Gleich, G.J. (1986). Localization of human eosinophil granule major basic protein, eosinophil cationic protein, and eosinophilderived neurotoxin by immunoelectron microscopy. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 54, 656-62.
55. Lee, N.A., Gelfand, E.W., Lee, J.J. (2001). Pulmonary T cells and eosinophils: coconspirators or independent triggers of allergic respiratory pathology. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 107, 945-957.
56. Heaton, T., Rowe, J., Turner, S., Aalberse, R. C., de Klerk, N., Suriyaachichi, D., Serralha, M., Holt, B., Goldblatt, J., Le Souef, P. N., Sly, P. D., Holt, P. G. (2005). An immunoepidemiological approach to asthma: identification of in vitro T-cell response patterns associated with different wheezing phenotypes in children. *Lancet*, 365, 142-149.
57. Doe, C., Bafadhel, M., Siddiqui, S., Desai, D., Mistry, V., Rugman, P., McCormick, M., Woods, J., May, R., Sleeman, M.A., Anderson, I.K., Brightling, C.E. (2010). Expression of the Th17-associated cytokines interleukin (IL)-17A and F in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Chest*, 138, 1140-1147.
58. Dalaklıoğlu, S.(2013). Astım Tedavisinde Yeni Bir Tedavi Seçeneği Olarak Monoklonal Antikorlar Ve Klinik Sonuçları. *Deü Tıp Fakültesi Dergisi*, 27(2), 95 - 110
59. Nadel, J.A., Busse, W.W.(1998). Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 157, 130-138.
60. Spina, D.(2000). Asthma mediators: current views. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 52(2), 125-45.
61. İnternet: Uzunismail, H. (Ocak, 2017) Mast hücreleri, Artık Hastalığımla Baş Edebiliyorum!. Nobel Yayınları. Bölüm1.
URL:<https://profdrhulyauzunismail.com/mast-hucreleri/> Web adresinden 6 Mayıs 2019’da alınmıştır.
62. Hall, J.E., PHD.(2017) .*Guyton and Hall medical physiology* (13th edition). Elsevier, 35, 472-475.

63. Karaaslan, İ.Ç.(2010). *Scca Genlerinin Astımla İlgili Genetik Değişikliklerinin Saptanması Ve Astım Patolojisi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
64. Elias, J.A., Zhu, Z., Chupp, G., Homer, R.J.(1999). Airway remodeling in asthma. *Journal of Clinical Investigation*, 104(8), 1001–1006.
65. Saetta, M., Maestrelli, P., Turato, G., Mapp, C.E., Milani, G., Pivrotto, F., Fabbri, L.M., Di Stefano, A. (1995). Airway wall remodeling after cessation of exposure to isocyanates in sensitized asthmatic subjects. *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine*, 151, 489–494.
66. Arm, J.P., Lee, T.H. (1992). The pathobiology of bronchial asthma. *Advances Immunol*, 51, 323-82.
67. Tsai Y.C., Lee .C.S, Chiu Y.W., Kuo H.T., Lee S.C., Hwang S.J., Kuo M.C., Chen H.C. (2015). Angiopoietin-2 As A Prognostic Biomarker Of Major Adverse Cardiovascular Events And All-Cause Mortality İn Chronic Kidney Disease. *Plos One*, 10(8), E0135181.
68. Antmen, Ş.E. (2005). *Beta talasemide oksidatif stres*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
69. Sabuncuoğlu, S., Özgüneş, H. (2011). Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31 (2), 137-150.
70. Zwart De, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M. and Vermeulen, N.P.E. (1999). Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 202-226.
71. Freeman, B.A., Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 47(5), 412-26.
72. Altın, A., Atalay, H., Bilal, T. (2018). Serbest Radikaller Ve Stres İle İlişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7 (1), 51-54.
73. Reiter, R.J.(1995). Oxidative process and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *Faseb Journal*, 9, 526-533.
74. Cheesman, K.H., Slater, T.F.(1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.
75. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-14.
76. Clarkson, P.M.,Thompson, H.S.(2000). Antioxidants: What role do they play in physical activity and health?. *American Journal Clinical Nutrition*, 72, 637-46.

77. Davies, M.J., Fu, S., Wang, H., Dean, R.T. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free radical biology & medicine*, 27(11-12), 1151-1163.
78. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 49(3), 577-587.
79. Delclaux, C., Mahut, B., Zerah-Lancner, F., Delacourt, C., Laoud, S., Cherqui, D., Duvoux, C., Mallat, A., Harf, A. (2002). Increased Nitric Oxide Output from Alveolar Origin during Liver Cirrhosis versus Bronchial Source during Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 332-337.
80. Yıldırım, E., Baydan, E., Kanbur, M., Kul, O., Çınar, M., Ekici, H., Atmaca, N. (2013). The Effect of Chlorpyrifos on Isolated Thoracic Aorta in Rats. *Biomed Research International*, 2013, 376051.
81. Nordberg, J. and Arner, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1317.
82. Erten, Ş. (2010) Sistemik Sklerozda Antioksidan Tedaviler. *Turkish Medical Journal*, 4(3), 146-149.
83. Babior, B.M. (2000). Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine*, 109(1), 33-34.
84. Packer, L., Landvick, S. (1990). Vitamin E in biological systems. *Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine*, 262, 93-103.
85. Kuş, A.E. (2017). *Diyabetli Ratlarda Dorsolateral Eksizyonel Yaralara Uygulanan İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1'in Oksidatif Parametrelere Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 47-50.
86. Gago-Dominguez, M., Jiang, X., Castela, J.E. (2007). Lipid peroxidation, oxidative stress genes and dietary factors in breast cancer protection: a hypothesis. *Breast Cancer Research*, 9(1), 201.
87. Cui, X., Gong, J., Han, H., He, L., Teng, Y., Tetley, T., Sinharay, R., Chung, K.F., Islam, T., Gilliland, F., Grady, S., Garshick, E., Li, Z., Zhang, J. (2018). Relationship between free and total malondialdehyde, a well-established marker of oxidative stress, in various types of human biospecimens. *Journal of Thoracic Disease*, 10(5), 3088-3097.
88. Ozler, M., Simsek, K., Ozkan, C., Akgul, E.O., Topal, T., Oter, S., Korkmaz, A. (2010). Comparison of the effect of topical and systemic melatonin administration on delayed wound healing in rats that underwent pinealectomy. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 70(6), 447-52.

89. Reiter, R.J., Tan, D.X., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Leon, J., Czarnocki, Z.(2003). Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta biochimica Polonica*, 50, 1129–46.
90. Ayan, N.N. (2007) *Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulan Rat Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres, Paraoksonaz-I Aktivitesi Ve Stobadin'in Koruyucu Etkisinin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
91. Lu, S.C. (1999). Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *Faseb Journal*, 13, 1169-1183.
92. Aksoy, Y. (2002). Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 22, 442-448.
93. Murray R.K. (2009). *Harper's Illustrated Biochemistry* (28th edition). The McGraw–Hill Companies, 15, 121-130.
94. Negre-Salvayre, A., Auge, N., Ayala, V., Basaga, H., Boada, J., Brenke, R., Chapple, S., Cohen, G., Feher, J., Grune, T., Lengyel, G., Mann, G.E., Pamplona, R., Poli, G., Portero-Otin, M., Riahi, Y., Salvayre, R., Sasson, S., Serrano, J., Shamni, O., Siems, W., Siow, R.C., Wiswedel, I., Zarkovic, K., Zarkovic, N. (2010). Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free radical research*, 44(10), 1125-71.
95. Gümüştas, K., Atukeren, P. (2008). Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. *Türkiye de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi*, İstanbul. 62, 329-340.
96. El-Dakhkhny, M., Madi, N.J., Lember, N., Ammon, H.P.(2002). Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal Ethnopharmacol*, 81, 161-4.
97. Koshak, A., Koshak, E., Heinrich, M.(2017). Medicinal benefits of Nigella sativa in bronchial asthma: A literature review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(8), 1130-1136.
98. Hussain, D.A.S., Hussain, M.M.(2016). Nigella sativa (black seed) is an effective herbal remedy for every disease except death – a Prophetic statement which modern scientists confirm unanimously: A review. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 4(2), 27-57.
99. Mansour, M., Tornhamre, S. (2004). Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 19, 431-6.
100. Farooqui, Z., Shahid, F., Khan, A.A., Khan, F.(2017). Oral administration of Nigella sativa oil and thymoquinone attenuates long term cisplatin treatment induced toxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomed Pharmacother*, 96, 912-23.

- 101.El Gazzar, M., El Mezayen, R., Nicolls, M.R., Marecki, J.C., Dreskin, S.C.(2006). Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760(7), 1088-95.
- 102.Kumazama, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M.S., Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 373–377.
- 103.Makris, D.P., Kefalos, P.(2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology Biotechnology*, 42, 105–108.
- 104.Moh'D Khaiv, J., EL-shatnawi and Khalil I. Ereifej, (2001). Chemical Composition and Livestock Ingestion of carob (*Ceratonia siliqua* L.)seeds. *Journal of Range Management*, 54(6), 669-673.
- 105.Karabulut, A.,Canbolat, O., Kamalak, A (2006). Evaluation of carob, *Ceratonia siliqua* Pods as a feed for sheep. *Livestock Research for Rural Development*, Kahramanmaraş, Turkey. 18(17)
- 106.Avallone, R., Olessi, M., Baraldi, M., Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *Journal of food composition and Analysis*, 10(2), 166-172.
- 107.Mokhtari M Ph.D, Sharifi E MSc, Azadian Sh , MSc. (2012). The effects of hydro alcoholic extract of *Ceratonia siliqua* L. seeds on pituitary – testis hormones and spermatogenesis in rat. *Advances in Environmental Biology*, 6(10), 2778-2783.
- 108.Krokou, A., Stylianou, M., Agapiou, A. (2019). Assessing the volatile profile of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). *Environmental science and pollution research international Abstracts*.
- 109.Farag, M.A., El-Kersh, D.M., Ehrlich, A., Choucry, M.A., El-Seedi, H., Frolov, A., Wessjohann, L.A. (2019). Variation in *Ceratonia siliqua* pod metabolome in context of its different geographical origin, ripening stage and roasting process. *Food Chemistry*, 283, 675-687.
- 110.Christou, C., Poulli, E., Yiannopoulos, S., Agapiou, A. (2019). GC-MS analysis of D-pinitol in carob: Syrup and fruit (flesh and seed). *Journal of chromatography B Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1116, 60-64.
- 111.Papaefstathiou, E., Agapiou, A., Giannopoulos, S., Kokkinofa, R. (2018). Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food Science Nutrition*, 6(8), 2151-2161.
- 112.Buege, J.A., Aust, S.D. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.
- 113.Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70-7.

- 114.Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A.(2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5(1), 62-71.
- 115.Carrbridge, T.C., Hall, J.B.(1995). State of the art: The assesment and management of adults with status astmaticus. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 151, 1296-1316.
- 116.Shigeki Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., Singab, A.N.B., Okuyama, T. (2001). Hematological Studies On Black Cumin Oil From The Seeds Of *Nigella Sativa* L. *Biological And Pharmaceutical Bulletin*, 24(3), 307-310
- 117.Burits, M., Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 323-328.
- 118.Houghton, P.J., Zarka, R., Heras, B.D.L., Hoult, J.R. (1995). Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Medicine*, 61, 33-36.
- 119.El-Abhar, H.S., Abdallah D.M., Saleh S.(2003). Gastroprotective activity of *N.sativa* oil and its constituent , TQ, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 251-258.
- 120.Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Jafarabadi, H.(2004). Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytotherapy Research*, 18(3), 195-199.
- 121.Mukherjee, M., Sehmi, R., Nair, P.(2014). Anti-IL5 therapy for asthma and beyond. *World Allergy Organ Journal*, 7(1), 32.
- 122.Zhang, Y., Zhang, L., Wang, S., Haoshen, H., Wei, E. (2004). Montelukast modulates lung cysLT 1 receptor expression and eosinophilic inflammation in asthmatic mice. *Acta Pharmacol Sinica*, 25(10), 1341-6.
- 123.Işık, A.F., Kati, İ., Bayram, İ., Özbek, H.(2005). A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 20, 1-5.
- 124.Balaha, M.F., Tanaka, H., Yamashita, H., Abdel Rahman, M.N., Inagaki, N. (2012). Oral *Nigella sativa* oil ameliorates ovalbumin-induced bronchial asthma in mice. *International Immunopharmacol*, 14(2), 224-31.
- 125.Al-Majed, A.A., Daba, M.H., Asiri, Y.A., Al-Shabanah, O.A., Mostafa, A.A., ElKashef, H.A. (2001). Thymoquinone-induced relaxation of guinea-pig isolated trachea. *Research communications in molecular pathology and pharmacology*, 110(5-6), 333-45.
- 126.Chakravarty, N. (1993). Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Annals of Allergy*, 70(3), 237-42.

127. Mahgoub, A.A. (2003). TQ protects against experimental colitis in rats. *Toxicology Letters*, 143, 133-143.
128. Mates, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153, 83-104.
129. Mekhoukhe, A., Kicher, H., Ladjouzi, A., Medouni-Haroune, L., Brahmi, F., Medouni-Adrar, S., Madani, K. (2018). Antioxidant activity of carob seeds and chemical composition of their bean gum by-products. *Journal of complementary & integrative medicine*, 16(1).
130. Singh, N., Kulkarni, G.T., Kumar, Y. (2017). Montelukast Sodium Formulation Containing Green Tea Extract to Reduce the Oxidative Stress in Guinea Pig Model of Chronic Allergic Asthma. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 12(4), 267-276.
131. Oskouei, Z., Akaberi, M., Hosseinzadeh, H. (2018). A glance at black cumin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone, in ischemia: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 21(12), 1200-1209.
132. Van der Vliet, A., Janssen-Heininger, Y.M.W., Anathy, V. (2018). Oxidative stress in chronic lung disease: From mitochondrial dysfunction to dysregulated redox signaling. *Molecular Aspects Medicine*, 63, 59-69.
133. Almohawes, Z.N., Alruhaimi, H.S. (2019). Effect of *Lavandula dentata* extract on Ovalbumin-induced Asthma in Male Guinea Pigs. *Brazilian journal of biology*.
134. Laxmi, V., Gupta, R., Bhattacharya, S.K., Ray, A., Gulati, K. (2019) Inhibitory effects of sildenafil and tadalafil on inflammation, oxidative stress and nitrosative stress in animal model of bronchial asthma. *Pharmacological reports*, 71(3), 517-521.
135. Mao, Y., Zhan, Y., Huang, Y. (2017). Vitamin D and asthma: A Mendelian randomization study. *Annals Allergy Asthma Immunology*, 119(1), 95-97.
136. Nasser, M.Z., Ezzat, D.A. (2018). Association of -308G/A Polymorphism and Serum Level of TNF- α with Bronchial asthma in Children. *The Egyptian journal of immunology*, 25(2), 117-124.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKYAZI, Özge
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 23.12.1991, Kocaeli
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (536) 406 96 42
 e-mail : ozgeaygun@windowlive.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji	Devam Ediyor
Lisans	Necmettin Erbakan Üni. /Biyoloji Öğrt.	2014
Lise	İhsaniye Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-Halen	Çayırova 15 Temmuz Şehitler Fen Lisesi	Öğretmen
2018-Halen	Şehit Davut Ali Karadağ M.T.A.L.	Öğretmen
2017-2018	Çayırova 15 Temmuz Şehitler Fen Lisesi	Öğretmen
2016-2017	Tobb Çayırova Kız Anadolu İ.H.L.	Öğretmen
2015-2016	Gölcük Anadolu Lisesi	Öğretmen
2014-2015	Gölcük Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi	Öğretmen

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Akyazı, Ö., Coşkun Cevher, Ş. (2019). *Astımlı ratlarda timokinin ve harnup uygulamasının karaciğer dokusu üzerine etkisi*. 1st International Ahi Evran Medicine & Health Science Congress. Kırşehir, Ahi Evran Üniversitesi.

Hobiler

Müzik, dans, kitap okumak, yüzmek, film izlemek





GAZİ GELECEKTİR..