



Nubar NURİYEVA

**SIÇANLARDA İZOTRETİNOİN İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA KURKUMİNDEN ZENGİN
ZERDEÇAL EKSTRESİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Biyokimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

Yüksek Lisans Tezi-2022

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

**SIÇANLARDA İZOTRETİNOİN İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA KURKUMİNDEN ZENGİN
ZERDEÇAL EKSTRESİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nubar NURİYEVA

Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Yasin BAYIR

ERZURUM

2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	II
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
1.GİRİŞ	1
2.1. Akne Vulgaris	4
2.1.1. Tanım	4
2.1.2. Tarihçe	5
2.1.3. Epidemiyoloji.....	6
2.1.4 Etioloji ve Patogenezi	6
2.1.5. Aknenin Sınıflandırması	9
2.1.6. Akne tedavisi	10
2.1.6.1.Topikal Tedavi.....	10
2.1.6.2. Sistemik Tedavi	13
2.1.6.3. Fizik Tedavi	14
2.2 İzotretinoin (retinoidler)	16
2.2.1. Retinoidlerin sınıflandırılması	17
2.2.2. İzotretinoin'in tıbbi kullanımı.....	18
2.2.3. İzotretinoinin temel kimyasal yapısı.....	18
2.2.4. İzotretinoinin tarihçesi	19
2.2.5 İzotretinoinin farmakolojik etkisi ve etki mekanizması	20

2.2.6. İzotretinoin metabolizma	21
2.2.7. İzotretinoinin yan etkileri.....	22
2.2.8. Aşırı doz.....	25
2.2.9 Deneysel hepatotoksitite modelleri.....	25
2.3. Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i> l.).....	26
2.3.1. Zerdeçal kimyası.....	27
2.3.2. Kurkumin kimyasal yapı ve özellikleri.....	29
2.3.3. Kurkumin etki mekanizması.....	30
2.3.4. Kurkumin metobolizması	30
2.3.5. Antioksidan ve anti-inflomatuar aktivite	32
2.3.6. Kurkuminin karaciğer üzerinde etkisi.....	33
2.4. Karaciğer enzimleri.....	34
2.4.1. Alanin aminotransferaz (ALT)	34
2.4.2. Aspartat aminotransferaz (AST).....	35
2.5. Antioksidanlar.....	35
2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar	36
3. MATERYAL VE METOT.....	41
3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	41
3.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar	42
3.3. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması.....	42
3.4. Kullanılan Hayvanlar	42
3.5. Deney Grupları	43
3.6. Sıçanlarda izotretinoin ile oluşan karaciğer hasarı modeli tasarımı	44
3.7. Örneklerin toplanması.....	45

3.8. Alanin aminotransferaz tayini.....	45
3.9. Aspartat aminotransferaz tayini	45
3.10. Karaciğer Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi.....	46
3.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	47
3.10.2.Total Glutatyon (GSH) Aktivite Tayini.....	48
3.10.3. Malondialdehit (MDA) Analizi	50
3.10.4. Protein Tayini	51
3.10.5 İstatistiksel Analiz.....	52
4. BULGULAR.....	53
4.1. Sıçan kanındaki Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin sonuçları:	53
4.2. Sıçan kanındaki Aspartat Aminotransferaz (AST) enziminin sonuçları	54
4.3. Sıçan serumundaki Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD) sonuçları	55
4.4. Sıçan serumundaki Glutatyon (GSH) sonuçları.....	56
4.5. Sıçan serumundaki Malondialdehit Aktivitesi (MDA) Sonuçları	57
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR	69
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	92
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	93
EK-3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	95

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim döneminde bana yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgilerini paylaşmaktan mutluluk duyan, her zaman destekçi olan sayın danışman hocam Prof.Dr.Yasin BAYIR'a, bilgi ve tecrübeleriyle yetişmeme katkıda bulunan Prof.Dr.Abdulmecit ALBAYRAK'a ve Hayrunisa HANCI'ya saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum. Beni hiç bir zaman yalnız koymayan, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana büyük yardımları olan, Ümran YILNMAZ, Sena MAİDE ÇİVELEK, Hüseyin ALİYEV ve Emir ENİS YURTGÜLÜ yüksek lisans dönemimdeki arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler.

Hayatımın her anında yanımda olan ve beni ileriye taşıyan her adımında büyük emekleri olan aileme saygı, sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Nubar NURİYEVA

ÖZET

SIÇANLARDA İZOTRETİNOİN İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINDA KURKUMİNDEN ZENGİN ZERDEÇAL EKSTRESİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Akne hastalarında izotretinoin (İZO) kullanımı karaciğer ve diğer yan etkilerinden dolayı tedavide son basamaktır. Bu çalışmanın amacı izotretinoin ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı kurkuminden zengin zerdeçal ekstresinin (KZZ) koruyucu etkisini karaciğer hasarını gösteren rutin biyokimyasal parametreler ve oksidatif stress parametreleri üzerinden değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: 200-220 gr ağırlığındaki ratlara, İZO kontrol grubu ve tedavi gruplarına ayçiçek yağında çözülmüş 7,5 mg/kg İZO ve 50, 100, 200 mg/kg kurkuminden zengin zerdeçal ekstresi 30 gün boyunca gavaj yoluyla uygulandı. Belirlenen sürenin sonunda ratlara anestezi uygulandıktan sonra kan ve karaciğer dokuları alındı. Ötenazi yapılarak deney sonlandırıldı. Serumda karaciğer fonksiyon testlerinden ALT ve AST seviyeleri, karaciğer dokusunda ise SOD, GSH ve MDA seviyeleri belirlendi.

Bulgular: Çalışma sonunda izotretinoin uygulanan grup sağlıklı kontrol grubuna göre karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, AST seviyelerinde ve karaciğer MDA seviyesinde artış, SOD ve GSH seviyelerinde ise azalma tespit edilmiştir. KZZ 50, 100 ve 200 mg/kg gruplarında ise İZO grubuna göre doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ALT, AST ve SOD, GSH ve MDA seviyelerinde koruyucu etki göstermiştir. Kontrol grubu olarak belirlenen sadece KZZ ve ayçiçek yağı verilen gruplarda ise herhangi bir fark görülmemiştir.

Sonuç: İzotretinoin tedavisi ile oluşan karaciğere karşı oluşan yan etkilerin giderilmesinde kurkuminden zengin zerdaçal ekstresinin koruyucu etkisi onu bitkisel ilaç olarak düşündürebilir.

Anahtar Kelimeler: İzotretinoin, karaciğer toksisitesi, kurkumin, oksidatif stres, rat, zerdaçal.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CURCUMIN-RICH TURMERIC EXTRACT ON LIVER DAMAGE CAUSED BY İZOTRETINOIN IN RATS

Aim: The use of isotretinoin (ISO) in acne patients is the last step in treatment due to liver and other side effects. The aim of this study was to evaluate the protective effect of curcumin-rich turmeric extract (KZZ) against liver damage created with isotretinoin on routine biochemical parameters indicating liver damage and oxidative stress parameters.

Material and Method: Turmeric extract rich in 7.5 mg/kg of ISO and 50, 100, 200 mg/kg of curcumin dissolved in sunflower oil was applied to rats weighing 200-220 g, the ISO control group and the treatment groups by gavage for 30 days. After anesthesia was applied to the rats at the end of the specified period, blood and liver tissues were taken. The experiment was terminated by euthanasia. ALT and AST levels were determined from liver function tests in serum, and SOD, GSH and MDA levels were determined in liver tissue.

Results: At the end of the study, an increase in ALT, AST levels and liver MDA levels, and a decrease in SOD and GSH levels were detected from liver function tests compared to the healthy control group of the isotreteonin group. In the KZZ 50, 100 and 200 mg/kg groups, in parallel with the dose increase compared to the ISO group, all three doses showed a statistically significant protective effect at ALT, AST and SOD, GSH and MDA levels, especially in the 200 mg/kg group.

Conclusion: The protective effect of curcumin-rich turmeric extract in the elimination of side effects against the liver caused by isotretinonin treatment may suggest it as a herbal medicine.

Key Words: Isotretinoin, liver toxicity, curcumin, oxidative stress, rat, turmeric.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

13-cis-RA	:	13-cis-retinoik asit
ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	:	Alanin aminotransferaz
AST	:	Aspartat Aminotransferaz
ATADEM	:	Atatürk Üniversitesi Deneysel Araş. Uyg. Merkezi
BCS	:	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine
BP	:	Benzoil peroxide
CAT	:	Katalaz
CRBP	:	Hücrel retinoid bağlayıcı protein
DHEAS	:	Dehidroepiandrosteron sülfatın
DHT	:	Dihidrotestosteron
DISH	:	İdiyopatik iskelet hiperostozuna
GPX	:	Glutasyon peroksidaz
GSH	:	Glutasyon
H₂O₂	:	Hidrojen peroksid
HDL	:	Yüksek yoğunluklu lipoproteinler
HLA-DR	:	İnsan lökosit antijeni
IBS	:	İrritabl bağırsak sendromu
İZO	:	İzotretenoin
KZZ	:	Kurkuminden Zengin Zerdeçal Ekstresi
LDH	:	Laktat dehidrojenaz
LDL	:	Düşük yoğunluklu lipoproteinler
MDA	:	Malondialdehit

MDH	:	Malat dehidrojenaz
MHRA	:	Medicines and Healthcare Regulatory Agency
NAD	:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT	:	Nitroblue Tetrazolium
NF-κB	:	Nükleer faktör-κB
NO	:	Peroksinitrit
P. acnes	:	Propionibacterium acnes
RAR	:	Retinoik asit nükleer reseptörlerine
RNS	:	Reaktif nitrojen türlerinin
ROS	:	Reaktif oksijen türlerinin
SOD	:	Süperoksit dismutaz
THC	:	Tetrahidrokurkumin
TLR-2	:	Toll benzeri reseptör-2
VLDL	:	Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Kıl yapısı	5
Şekil 2.2. İzotretinoin molekülü	19
Şekil 2.3. Kurkumin kimyasal molekülü	27
Şekil 2.4. <i>Curcuma longa</i> 'da bulunan 2 ana curcuminoid	29
Şekil 2.5. Kurkumin metabolizması	31
Şekil 2.6. Glutatyon molekülü	38
Şekil 2.7. Antioksidanların sınıflandırılması	40
Şekil 4.1. Sıçan serum ALT enzimini seviyesi.....	54
Şekil 4.2. Sıçan serum AST enzim seviyesi	55
Şekil 4.3. Sıçan karaciğer dokusu SOD aktivitesi	56
Şekil 4.4. Sıçan karaciğer dokusu GSH seviyesi.....	57
Şekil 4.5. Sıçan karaciğer dokusu MDA seviyesi	58

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	41
Tablo 3.2. Tez Çalışması Deney Grupları.....	43
Tablo 3.3. Deneysel model tasarımı ve gruplar:	44
Tablo 4.1. Sıçan serum ALT ve AST enzim seviyeleri	53
Tablo 4.2. Sıçan karaciğer dokusu antioksidan seviyeleri	56



1.GİRİŞ

Akne, akne vulgaris ya da sivilce olarak da bilinen, ölü deri hücreleri ciltteki yağın kıl köklerinin tıkanmasıyla bilhassa yüz, omuz, sırt ve göğüste oluşan genellikle uzun süreli bir cilt hastalığıdır¹. İnsan derisi, androjene duyarlı yapılardan (yağ bezleri, ter bezleri ve kıl kökleri) oluşur. Akne androjene bağlı artmış sebum üretimi, değişmiş keratinizasyon, iltihaplanma ile cildeki foliküllerinin Propionibacterium acnes (P. acnes) tarafından bakteriyel kolonizasyonundan kaynaklanan kronik bir enflamatuvar hastalıktır. Akne, ergenlik döneminde gonadların hiperaktif çalışması ile ilk belirtileri ortaya çıkar.² Genellikle ergenliğin kendi kendini sınırlayan bir hastalığı olarak algılsa da, prevalansı yetişkinlikte de yüksektir. Gençlerin yaklaşık %90'ında akne gözükürken bunların yarısında da yetişkinlik dönemi semptomları yaşamaya devam etmektedir. 40 yaşına kadar erkeklerin %1'inde ve kadınların %5'inde hala lezyonlar bulunmaktadır. ³ Akne kendisini siyah nokta, beyaz nokta, komedon, iltihaplı kırmızı noktalar şeklinde cilt lekeleri ve yara izi olarak gösterir. Aknede görülen döküntüler, aşama aşama ortaya çıkar. Başlangıçta komedonların oluşmasıyla ile başlar ve yara izi ile sonuçlanabilir.

Akne dermatolog gözetiminde tedavi edilmesi gereken ciddi bir sağlık sorunudur. Sorun birkaç sivilce (komedon, püstül) ve tıkanmış gözeneklerle sınırlıysa, dermatokozmetik yardımıyla bireysel olarak çözülebilir. Ancak, kendi kendine ilaç tedavisi yalnızca sorunu daha da kötüleştirebilir. Durum ciddi ise, kistik iltihaplar, derin deri altı sivilceler veya nodüler akne ortaya çıktıysa, bu durumda bir uzmana danışmak gerekir. Basit olmayan akne tedavisinde benzoil peroksit , çeşitli antibiyotikler, hormonal ilaçlar ve izotretinoin içeren ilaçlar da dahil olmak üzere pekçok alternatif bulunmaktadır. Şiddetli akne tedavisinde kullanılan en etkili ilaç tedavisi ise izotretinoindir. İzotretinoin, ağızdan alınarak kullanılır, ciltteki sebum bileşimini değiştirir ve cildin rejenerasyon

süreçlerini normalleştirir. Bu da akne için tam bir tedaviyi sağlayabilir. Ayrıca izotretinoin, yağ bezlerinin üretimini baskılar ve sayılarını azaltır. Bu özelliğinden dolayı akne tedavisinde dermatolojide en etkili tedaviye sahiptir. İzotretinoin'in yan etkileri çok fazla olduğundan her hastaya reçete edilemez ve ilacın kullanımı sadece bir uzman doktor tarafından reçete edildiği zaman mümkündür. İZO dudaklarda, yüzde cilt kuruluğu, kızarma, hassasiyet, iltihap, çatlak, döküntü, soyulma, hafif kaşıntı; gözde konjonktivit, göz kapağı iltihaplanması, göz kuruluğu ve tahriş (lens kullanmaya engel olabilir); sırtta, kaslarda ve eklemlerde ağrı, özellikle karaciğer enzimlerinde artışa, HDL ve trigliseridler seviyelerinde değişikliklere neden olur. Buna göre de tedavi süresince karaciğer enzimlerinin ve serum lipidlerinin düzenli aralıklarla kontrol edilmesi önerilir. Bilhassa hamilelik sırasında teratojenite ihtimali nedeniyle kesinlikle kullanımı yasaktır. Özellikle, şiddetli akne tedavisinin neredeyse tek tedavi seçeneği olan İzo kullanımına bağlı, yan etkilerin azaltılması için bitkisel ya da diğer antioksidan kaynaklı, alternatif çözümler aranmaktadır. Bunlara silmarin⁴, selenyum⁵, gibi molekül ve bitki kaynaklı maddelerin araştırmaları bulunmaktadır. İçerdiği antioksidan bileşikler açısından çok zengin, birçok hastalıkta koruyucu ve tedavi edici etkileri bilinen zerdaçal (Tumeric), önemli bir fitoterapötik bitkidir. Zerdaçal içeriğinde ana etken madde kurkumin olmak üzere pekçok vitamin, mineral, kurkuminoid, yağ asidi ve amino asitleri barındırır. Kurkuminden zengin zerdaçal ekstresi ile yapılan çalışmalarda yara iyileşmesi, cilt sorunları, sindirim bozuklukları ve karaciğer hastalıkları tedavisindeki etkileri gösterilmiştir. Ayrıca literatürde kurkuminin anti-inflamatuar, antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik etkileri de gösterilmiştir.⁶

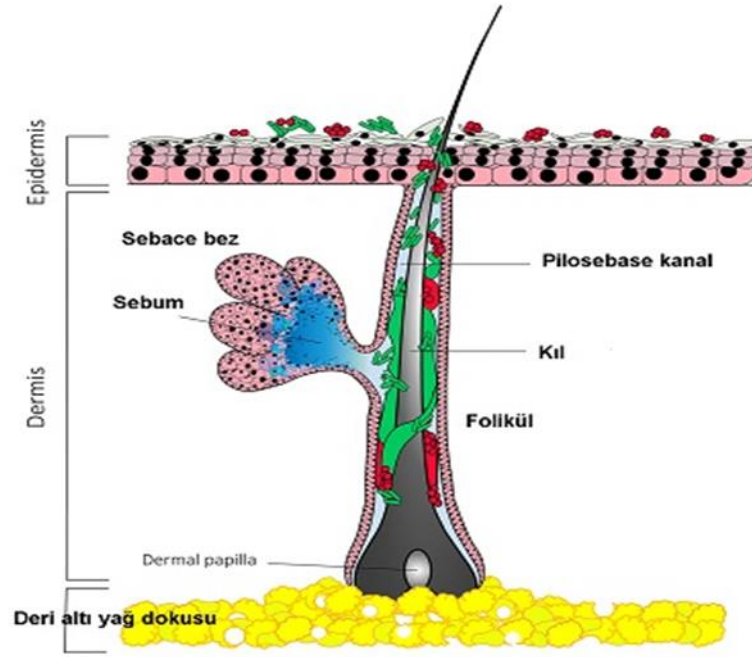
Halk arasında besin ve baharat olarak tüketilen zerdaçal, içeriğinde barındırdığı yüksek antioksidan potansiyel ve aynı zamanda cilt hastalıklarında kullanılıyor olması

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akne Vulgaris

2.1.1. Tanım

Akne vulgaris, derinin altındaki kıl köklerinin tıkanmasıyla oluşan yaygın bir cilt rahatsızlığıdır. Şekil 2.1 de kıl yapısı görülmektedir. ⁷ Gözenekte aşırı veya yüksek yağ üretimi, ölü deri hücrelerinin birikmesi ve bakteri üremesi oluşumu akne gelişimine yol açar. Akne ortaya çıkan döküntüler, aşama aşama karakterize edilir. İlk aşama, inflamatuvar olmayan açık ve kapalı komedon oluşumudur. Komedonlar yağ-kıl folikülünün kanalının tıkanma seviyesine bağlı olarak değişir. Komedon, yağ bezlerinin salgılanması ve epidermal hücrelerden oluşan kıl folikülünün ağzında akut kitlelerin birikmesi sonucu açığa çıkmaktadır. Folikülün ağzının daralması veya tamamen kapanması ile kapalı bir komedon olan beyaz nokta ve kıl folikülünün ağzı açık olduğunda ise açık bir komedon olan siyah nokta oluşur. Açık komedonların %80'i iz bırakmadan geçer. İkinci aşamada, sebasöz kıl folikülünün iltihaplanması, yağ bezinin duvarına zarar vermesine, nötrofillerin ve lenfositlerin göç etmesine neden olur. Bunun sonucunda ise papüller meydana gelir. Üçüncü aşamada skuamöz epitel yapısında içi irinle dolu püstül adı verilen kesecikler oluşur. Püstüller P.acnes'in yüksek derecede yayılmasıyla ortaya çıkmaktadır. İlk üç aşamada oluşan papüller, püstüller ve komedonların çözünürlüğü iz bırakmadan geçmektedir. ⁸⁻¹⁰ Şiddetli aknelerde geri dönüşü olmayan iltihap sonrası cilt sorunları ortaya çıkar. Klinik olarak beyaz noktalar küçük, yarım küre şeklinde, yoğun, beyazımsı ten renginde nodüller olarak görünür ve kendi kendine iyileşmez. Büyük ölçüye sahip nodüller, cildin yüzey kısmında veya altında yuvarlak şekilli, iltihaplı olarak bulunabilir ve cilt yüzeyinde iz bırakabilirler.



Şekil 2.1. Kıl yapısı

2.1.2. Tarihçe

Akne vulgaris, dünya çapında en sık karşılaşılan üç dermatolojik sorundan biridir. Akne teşhis ve tedavisi eski Yunan ve Mısır zamanlarına kadar uzanmaktadır. Yunan doktorlar Aristoteles ve Hipokrat, akneyi ergenlikle ilişkili bir durum olarak tanımlamak için Yunanca “ionthoi” ve “varus” kelimelerini kullanmışlardır.^{11, 12} Aslında, ionthoi'nin tekil formu, sakal büyümesinin başlangıcı anlamına gelir. Ebers'in papirüsünde eski Mısırlılar çıban, yara, püstül veya herhangi bir iltihaplı şişlik anlamına gelen “aku-t” terimini kullandılar.¹¹ Bugün kullandığımız terim ise fonetik benzerliği göz önüne alındığında, muhtemelen akne kelimesinin kökünü temsil ettiği düşünülmektedir. Akne vulgaris (vulgaris yaygın anlamına gelir) terimi ilk olarak 1840 yılında Fuchs tarafından kullanılmış ve günümüze kadar devam etmiştir.

17. yüzyıldan bu güne kadar aknenin sebebine ilişkin bazı bilim insanları tarafından çeşitli durumlarla açıklamaya çalışmışlardır. 1638'de Riolanus, akneyi adetle ilgili bozukluklarla ilişkilendirdi. On yıl sonra, Johnston sivilceyi bir heteroseksüel

davranış modeliyle bağladı. İtalyan araştırmacı Marcello Malphigi, “Opera Postuma” adlı kitabında gözenekleri ciltteki bezlerin açılması olarak tanımladı. Hollandalı Tıp ve Botanik Profesörü Hermann Boerhaave de bu görüşü desteklemiştir.¹³ 20. yüzyıla doğru artık aknenin nedenleri daha somut bir şekilde ortaya çıkarılmış ve modern terapiyle aknenin etkin tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır.¹⁴

2.1.3. Epidemiyoloji

Akne, dermatologların karşılaştığı en yaygın ve sıkıntılı cilt hastalıklarından biridir. Bozukluk tipik olarak ergenlikte başlar, ergen erkeklerin % 95-100'ünü ve yetişkin kızların % 83-85'ini etkilemektedir. Vakaların yaklaşık % 12-14'ünde yetişkinliğe kadar devam etmektedir.^{15, 16} Aknenin en şiddetli ve uzun vadeli sonuçlarından biri, hastaların % 95'ini etkileyen yara izidir.^{17, 18} Akne izleri sadece estetik açıdan kötü olmakla kalmaz, aynı zamanda önemli bir sosyal ve toplumsal yüke neden olabilir. İntihar, depresyon, anksiyete, zayıf benlik saygısı, sosyal bozulma, düşük akademik performans ve işsizlik gibi çeşitli psikolojik sorunlar için bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır.^{19, 20}

2.1.4 Etiyoloji ve Patogenezi

Akne vulgarisin patogenezi yağ bezinin sebum olarak bilinen lipid açısından zengin bir karışım ürettiği ve salgıladığı, çok faktörlü bir cilt bozukluğudur. En önemli faktör genetik yatkınlıktır.²¹ Akne, aşağıdaki faktörlerin etkileşimi sonucu olarak gelişir.

- İnflamasyon
- Folikülün tıkanması ile foliküler hiperkeratinizasyon
- Propionibacterium acnesin foliküler kolonizasyonu
- Aşırı sebum üretimi
- Cilt pH değişimi
- Çinko eksikliği

Akne patogenezinin ilerlemesindeki ilk basamak mikrokomedon oluşumudur. Mikrokomedon oluşumu inflamatuvar akneye neden olabilir. Artan sebogenezin de akne patogenezinde önemli olmasının yanı sıra cildi düzensiz inflamatuvar yanıtla yatkın hale getirir.^{22, 23} Sebasöz lipidlerin nicel ve nitel modifikasyonları, komedon olarak adlandırılan, akne lezyonlarına neden olan inflamatuvar oluşumu tetiklemektedir. Bu nedenle akne patogenezi inflamatuvar ve inflamatuvar olmayan olmak üzere iki tipe ayrılır ve her iki tip de bir arada bulunabilir. Araştırmalar, inflamatuvar yanıtların aslında hiperkeratinizasyondan önce meydana geldiğini göstermektedir. Akne patogenezinde inflamasyon oluşumunda rol oynayan esas hücreler lenfositler, keratinositler, sebositler ve makrofajlar olduğu bilinmektedir. Sebositler T lenfositlerine antijen vererek ve CD4⁺, TLR2, TLR4, TLR6 hücrelerini ekspres ederek, inflamatuvar akne oluşumuna neden olmaktadır.

Foliküler hiperkeratinizasyon, artan keratinosit proliferasyonu ve azalan deskuamasyonu içermektedir. Bu da sebum ve keratin dolu mikrokomedonlara yol açar.²⁴ Korneositlerin aşırı üretimi ve kıl folikül duvarında bakteri oluşumu mikrokomedonun komedona dönüşmesinde esas faktör olarak bilinmektedir.²⁵ Ergenlik döneminde androjenler tarafından foliküler korneositler, sebace bezler uyarılır ve bu da sebum üretiminde artışa neden olmaktadır. Bu sebeple yeni oluşan komedonlar en son olarak şekillerini değiştirip, ciltte kürecik şeklinde görünürler.

P.acnes akne lezyonlarında bulunan anaerobik bir organizmadır ve mikrokomedonlardaki sebace foliküllerde kolonize olur. *P.acnes* kolonizasyonu çeşitli mekanizmalar yoluyla iltihabı teşvik eder ve folikül duvarından yayılan proinflamatuvar mediatörler üreterek inflamasyonu uyarmaktadır. Çalışmalar *P.acnes*'in, monositler ve nötrofiller üzerindeki toll-like benzeri reseptör 2'yi (TLR 2) aktive ettiğini göstermiştir.²⁴

Toll-like benzeri reseptör 2'nin aktivasyonu daha sonra interlekin 12 ve 8, tümör nekroz faktörü dahil olmak üzere çoklu proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açar. P.aknelere karşı aşırı olan hassasiyet kişiden kişiye değişmektedir, bu nedenle bazı kişilerde inflamatuvar akne vulgaris görünürken, diğerlerinde görünmeyebilir.²⁶

Ergenlik döneminde ve adet döngüsünde meydana gelen hormonal aktivite de aşırı sebum üretimine ve akne vulgarisin gelişimine yol açar. Sebum üretimi ile atılımı bir dizi farklı hormon ve arac tarafından düzenlenir. Özellikle androjen hormonları olan testosteron, dihidrotestosteron (DHT) ve dehidroepiandrosteron (DHEA) sebum üretimini ve salınımını desteklemektedir.²⁷ Androjenlerin akne vulgarise yol açma mekanizması aşağıdaki gibidir:

Üç baskın steroid metabolize edici enzim yağ bezlerinde eksprese edilir : (1) 3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz; (2) 17 β -hidroksisteroid dehidrojenaz; ve (3) 5 α - redüktaz Yağ bezinde lokalize olduğu kanıtlanmış 3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz, onu androstenediona dönüştürmek için dehidroepiandrosteron (DHEA) üzerinde hareket eder.²⁸

3 β -hidroksisteroid dehidrojenazın 2 formu vardır. Tip I cilt, plasenta ve meme dokusunda aktifken, tip II gonadlar ve adrenal bezlerde yoğunlaşır. Tersinir enzim 17 β -hidroksisteroid dehidrojenaz, androstenedionun testosterona dönüştürülmesinden sorumludur. Testosteron daha sonra hücre tarafından alınır ve tip I 5 α -redüktaz tarafından hızla 5 α -dihidrotestosterona (DHT) dönüştürülür. Testosteron hormonunun dokular üstünde androjenik etki gösterebilmesi ve etkin hale gelebilmesi için 5 α -redüktaz yardımı ile DHT hormonuna dönüşmesi şarttır. 17 β -hidroksisteroid dehidrojenazın doku lokalizasyonlarına androjenleri ve östrojenleri azaltma veya oksitleme yeteneklerine göre

değişen 11 izozimi vardır.²⁸ Bu, androjen ve östrojen metabolizmasında düzenleyici bir noktayı temsil edebilmektedir.

Akne patogeneğinde cildin pH'sı (pH = 4,5 ve 5,5.) da önemlidir. Cilt pH'sını etkileyen sebepler eksojen ve endojen faktörler olarak sınıflandırılır. Eksojen faktörler cilt bakım ürünleri, tıkayıcı pansumanlar, cilt tahriş edici maddeler ve topikal ilaçları içerir. Endojen faktörler ise yaş, cinsiyet farklılıkları veya etnik, anatomik bölgeler, ter, sebum ve cilt hastalıklarını içerir. ²⁹ Ayrıca P. acnes'in kolonizasyonu ve sebum sekresyonu miktarındaki değişiklikler de muhtemelen cilt pH'ını etkilemektedir.

Akne patogeneğinde hastaların %80'inde kaydedilen çinko eksikliği önemli rol oynamaktadır. Çünkü çinko eksikliği sebum atılım hızını artırmaktadır. Çinko, hormon oranını normalleştirmeye yardımcı olan ve sebum salgısında azalmaya yol açan 5α-redüktazın aktivitesini düşürür.

2.1.5. Aknenin Sınıflandırması

Ekzema ve sedef hastalığı gibi akne vulgaris de sık görülen kronik inflamatuvar cilt hastalığıdır. Multifaktöriyel akne patogeneğinde anormal foliküler farklılaşma ve artmış kornifikasyon, androjen aracılı gelişmiş yağ bezi aktivitesi, sebore, bakteriyel hiperkolonizasyon, inflamasyon ve immünolojik reaksiyonlar görülmektedir. Akne çeşitli şekillerde isimlendirilebilirler. Bunlar;

Siyah nokta: Ciltte aşırı yağ ve ölü deri ile dolu açık boşluklar çok olduğu zaman oluşur.

Papüller: İltihaplı hale gelen küçük kırmızı veya pembe yumrulardır.

Püstüller: İrin içeren sivilcelerdir. Kırmızı halkalarla çevrili beyaz dairelere benziyorlar. Alınırsa veya çizilirse yara izine neden olabilirler.

Nodüller: Cildinizin derinliklerinde bulunan katı sivilcelerdir. Büyük ve acı vericidirler.

2.1.6. Akne tedavisi

Akne tedavisi için bir rejim belirlenirken ilk önce bireysel hasta faktörleri dikkate alınmalıdır. Bu faktörler mevcut tıbbi durum, hastalık durumu, lezyonların şiddeti, endokrin öyküsü ve hastanın tercih ettiği tedavi (oral veya topikal) aittir. Diğer tedavi seçenekleri, doğal ürünlerin kullanımını veya örneğin optik terapi gibi ilaç dışı tedavilerin kullanımını içermektedir. Akne patogenezinin birden fazla mekanizmasını hedef alan bir kombinasyon tedavisi genellikle başarılı sayılmaktadır³⁰. Modern çalışmalar, akne gelişim mekanizmalarının, yağ bölgesindeki keratinizasyon bozuklukları, keratinositlerin aşırı yapışma yeteneği, artan sebum üretimi, P. acnes hiperkolonizasyonu ve inflamasyona sebep olduğunu göstermektedir. Yakın zamana kadar, topikal akne tedavileri tek başına veya kombinasyon halinde kullanılmıştır.

2.1.6.1. Topikal Tedavi

Topikal ürünler, doğrudan etkilenen bölgeye uygulanabilme avantajına sahiptir; böylece sistemik absorpsiyonu azaltır ve pilosebace birimlerin tedaviye maruz kalmasını artırır. Bununla birlikte, topikal olarak uygulanan akne önleyici ürünlerin önemli bir yan etkisi cilt tahrişidir. Topikal uygulama kremler, jeller, losyonlar ve solüsyonlar dahil olmak üzere çeşitli formülasyonlar halinde mevcuttur.³¹

Topikal tedavi akne tipine ve şiddetine göre yapılmaktadır. Hafif akne genellikle topikal retinoidlerle veya azelaik asit, salisilik asit ve benzoil peroksit gibi çeşitli tedavilerle tedavi edilir.

Topikal Tedavide Kullanılan Antibiyotikler ve Diğer Maddeler

Topikal antibiyotikler genellikle hafif ila orta dereceli, inflamatuvar akne için kullanılmaktadır. Topikal tedavide kloramfenikol ve tetrasiklinlerin belirli yan etkileri ve daha az etkinliği nedeniyle, bu ilaçlar daha az sıklıkla kullanılır.³² Akne tedavisinde kullanılan en popüler topikal antibiyotiklere eritromisin ve klindamisin örnek verebiliriz.³³

Eritromisin

Eritromisin, bakterinin 50S ribozomal birimine bağlanan ve bakterilerin protein sentezi için gerekli olan, translokasyonu önleyen bir makrolid antibiyotiktir.³⁴ P. acnes'e karşı aktiftir, akne tedavisinde çok etkili bir topikal antibiyotik olarak kabul edilmektedir. Ancak eritromisin son zamanlarda P.acnes'e %60'a kadar dirençli olduğu keşfedilmiştir.³⁵

Klindamisin

Klindamisin bir linkozamid antibiyotik olarak sınıflandırılır ve antimikrobiyal ajan olan lincomycin'in yarı sentetik bir türevidir. Klindamisin, 50S ribozomal alt birimine bağlanır ve bakterilerin protein sentezini inhibe eder. Eritromisinde olduğu gibi aynı zamanda cilt yüzeyindeki P. akneleri de engeller^{36 32}

Benzoil Peroxide

Benzoil Peroxide (BP) akneli hastaları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır. Çeşitli dozlarda (% 2,5-10) ve formülasyonlarda (krem, jel, yıkama, köpük, sulu jel, bırakma ve yıkama) bulunur. BP, antimikrobiyal özelliklere sahip komedolitik, keratolitik, ve anti-inflamatuvar bir ajandır. BP, reaktif oksijen radikallerinin üretimi, doğrudan P. acnes'e karşı bakterisiddir.³⁷ Antibiyotik tedavisine BP eklenmesi akneyi ve antibiyotik direnci gelişimini azaltabilir.³⁸ Farklı formülasyonlardaki topikal BP, tolere edildiği şekilde günde 1 ila 3 kez kullanılmaktadır. BP kullanımı konsantrasyona

bağlı tahriş, kumaşın boyanması ve ağartılması ayrıca nadir temas alerjileri ile sınırlıdır.

³⁹ Hassas cilde sahip hastalarda daha düşük konsantrasyonlar (% 2,5-5), su bazlı ve yıkama maddelerini daha iyi tolere edebilmektedir. ⁴⁰ Bazı klinisyenler, BP'nin tretinoin molekülünün oksidasyonuna ve bozulmasına neden olabileceği ve böylece etkinliğini azaltabileceği ihtimalinden dolayı topikal tretinoin ile eşzamanlı olarak BP reçete etmekte kararsızdırlar.

Salisilik asit

Salisilik asit, etki mekanizması epitel hücrelerini bir arada tutan keratolitik ajan olarak bilinmektedir. Küçük bir anti-inflamatuar etkiye sahiptir, belirli maddelerin konsantrasyonunu artırır, düşük konsantrasyonlarda fungistatik ve bakteriyostatiktir. Salisilik asit, akne tedavisi için iyi bir tedavi aracı olarak bilinmektedir.

Azelaik Asit

Azelaik asit, P. acnes türlerinin protein sentezini engelleyen doğal bir dikarboksilik asittir. ⁴¹ Bakteriyostatik, anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-keratinize edici özelliklere sahip olduğu için etkili bir ajan olarak bilinmektedir. ⁴² Şimdiye kadar, azelaik asit ile P. acnes'in hiçbir bakteriyel direnci mevcut değildir. ⁴³ Azelaik asitin klindamisin, benzoil peroksit veya a-hidroksi asitlerle birlikte kullanılmasının daha etkili olacağı da öne sürülmektedir.

Retinoidler

Topikal retinoidler, inflamatuvar akne için monoterapi olarak, daha şiddetli akne formlarında ise kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Retinoidler mikrokomedonların, komedonların, lezyonların oluşumunu kontrol eder, sebum üretimini azaltır, epitelin pul pul dökülmesini normalleştirir, ayrıca anti-inflamatuar özellikler de göstermektedirler. ⁴⁴ Retinoidler ciltteki yara izini ve hiperpigmentasyonu onarabilir; Topikal

antimikrobiyallerle kombine edildiğinde inflamatuvar akne daha etkilidir. Topikal retinoid tedavisinin ilk birkaç haftasında yaygın yan etki, akne alevlenmesidir. Ancak hasta tedaviye devam ettikçe akne sayısında azalma görülecektir.⁴⁵

Tretinoin,

A vitamininin bir formudur.³⁴ Akne tedavisinde, pilosebace ünitelerin tıkanmasını önleyen, epitelde pul pul dökülmeyi düzenlemek için kullanılan standart bir komedolitik ajandır. Ayrıca anti-inflamatuvar özelliklere sahip gibi görünmektedir. Otuz yılı aşkın süredir akne için topikal bir tedavi olmuştur.

Adapalen

Adapalen, Akne vulgaris için en yaygın olarak birinci basamak topikal retinoid tedavisi olarak kullanılan sentetik bir retinoid analogudur. Foliküler epitelin hücre farklılaşmasını normalleştirir ve komedon oluşumunu engeller. Ayrıca akne lezyonları üzerinde anti-inflamatuvar etki gösterir.⁴⁶

Tazaroten

Tazaroten, keratinositlerde tazarotenik aside dönüştürülen sentetik bir asetilenik bileşik³⁶ ve akne tedavisi için kullanılan yeni retinoidlerden biridir. Epitel dokusunda keratinosit farklılaşmasını ve proliferasyonunu etkiler, ayrıca anti-inflamatuvar özellikler gösterebilir. Akne hastalarında cilt tahrişine neden olabileceğinden, önceki tretinoin veya adapalen tedavisinden sonra yanıt alınamayınca ikinci basamak tedavi olarak kabul edilmektedir.

2.1.6.2. Sistemik Tedavi

Akne topikal tedaviye dirençliyse, nodüler lezyonlar şeklinde ortaya çıkıyorsa veya iz bırakıyorsa oral sistemik tedavi gerekir. Sistemik tedavi inflamatuvar lezyonların tedavisinde tercih edilen seçimdir. Akneden muzdarip kişilerde sosyal utanç ve psikolojik

bozulmayı önlemek için sistemik tedavi de gerekmektedir. En yaygın sistemik tedavi ise izotretinoini, oral antibiyotikleri ve hormonal ajanları içermektedir.⁴⁷

Hormonal tedavi

Yağ bezleri androjene bağımlıdır ve bu nedenle androjenin yağ bezleri üzerindeki etkisi hormon tedavisi ile tedavi edilmektedir. Erişkin kadınlarda hormon tedavisi alternatif olarak kullanılmaktadır ve bu hormonlar en yaygın olarak oral kontraseptif haplar şeklinde alınmaktadır. Doğum kontrol hormonları, başlangıçta androjen tarafından indüklenen sebum üretimini azaltır. Kadın vücudunda biyolojik olarak aktif serbest testosteronu azaltan cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin sentezini artırır. Hormona bağlı akne tedavisinde tüm kontraseptifler kullanılabilse de, androjen aktivitesine sahip olmadıkları için genellikle progestinler tercih edilmektedir.⁴³.

Kadınlarda akne tedavisi için oral kontraseptikler tek başına veya diğer tedavilerle birlikte kullanılmaktadır.⁴⁸ Hormonal anti-androjenlerle akne tedavisi süresi en az 12 ay ve çoğu zaman daha da uzun olmalıdır.⁴⁹ Çünkü hormonal ajanların olumlu etkisi ancak 3-6 aylık tedaviden sonra görülmektedir.⁵⁰ Spironolakton, hormona bağlı akne tedavisinde oral kontraseptiflerle de kombine edilebilen alternatif bir ilaçtır olarak bilinmektedir. Mekanizması androjen reseptör blokleri olmasına dayanmaktadır. Özellikle inflamatuvar aknesi olan hastalarda etkilidir.⁴⁷

2.1.6.3. Fizik Tedavi

Akne tedavisi ek olarak kullanılabilecek çeşitli fiziksel tedaviler vardır. Aknenin patogenezi daha iyi anlaşıldıkça ve teknoloji geliştikçe bu tedaviler akne tedavisinde önemli bir rol oynayabilir.⁵¹

Komedon Ekstraksiyonu

Bazı yazarlar, bu tekniğin makrokomedonları (1 mm'den büyük komedonlar) tedavi etmek için izotretinoin tedavisi ile aynı anda kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu teknik doğru yapılırsa hiçbir iz kalmayabilir.⁵² Komedon ekstraksiyon yöntemi zamanı sırasıyla; Lezyonlar alkolle temizlenmeli ve epidermis geniş çaplı bir iğne veya cerrahi bıçakla hafifçe delinmelidir. Daha sonra, tüm içerikler dışarı atılana kadar lezyonun üzerine hafif ila orta basınç uygulamak için bir komedon çıkarıcı kullanılmalıdır.⁵² Komedonun manuel olarak çıkarılmasından önce, hiperkeratozu azaltmak için enzimatik veya mekanik eksfoliasyon kullanılmaktadır. Tedaviden sonra cilt, bir anti-inflamatuar veya antimikrobiyal madde ile tedavi edilmelidir.⁵³

Cryoslush Terapisi

Katı karbon dioksit ve asetonan oluşan sulu çamur benzeri bir karışım, enfekte olmuş cilt üzerine hafifçe fırçalanabilir.

Kriyoterapi

Kriyoterapi, çok düşük sıcaklıkta bir madde uygulanarak hastalıklı cilt dokusunun düzenli ve hedefli olarak yok edilmesini içermektedir. Kriyojeni uygulamak için kriyoprob, seviye çubuğu yöntemi veya nokta dondurma tekniği dahil olmak üzere farklı teknikler kullanılmaktadır. Kriyoterapi genellikle aseptik koşullar altında lokal anestezi olmadan yapılır ve doğru yapılırsa son derece iyi kozmetik sonuçlarla sonuçlanmalıdır.⁵⁴

Elektrokoterizasyon

Elektrokoterizasyon, çok düşük dereceli termal hasar oluşturarak komedonları yok eder. Bununla birlikte, komedonların çözülmesine yardımcı olduğu kesin mekanizma şimdiye kadar bilinmemektedir.⁵⁵ Elektrokoterizasyonun vücudun savunma

mekanizmasını (inflamatuvar) uyararak çalıştığı veya koterin makrokomedonun içeriğinin deri yüzeyine boşaltılması için bir yol sağladığı düşünülmektedir.⁵⁵

İntralezyonel Kortikosteroidler

İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonları, keloid skar oluşumunu azaltır ve cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra yeniden ortaya çıkmasını önler.⁵⁶ Bu prosedür özellikle inflamatuvar nodüllerin tedavisi için etkilidir. Ancak ağrılı ve muhtemelen kutanöz atrofiye neden olabilir. En sık kullanılan kortikosteroid triamsinolon asetoniddir.⁵⁴

2.2 İzotretinoin (retinoidler)

Cilt kozmetik bakım değil, aynı zamanda tedavi de gerektirir. Uygulanan tedavi sırasında retinoidlerin kendilerini iyi kanıtladığı çeşitli araçlar kullanılmaktadır. Akne tedavisinde de retinoidler en çok kullanılan ilaç grubudur. Retinoidler, retinol - A vitamini ile ilgili bir kimyasal bileşik sınıfıdır. Kendisi de dahil olmak üzere maddenin biyolojik formlarını ve sentetik türevlerini içermektedir. Doğal formlar, A vitamini sentezinin daha fazla gerçekleştiği vücuda besinlerle girer. Sarı, turuncu veya kırmızı renklidirler. Bitki kaynaklarında, örneğin havuç ve domateslere renk veren karoten gibi pigmentler olarak bilinmektedir. A vitamini ve türevleri vücutta birçok fonksiyona sahiptir. Bu fonksiyonlardan bir kaç:

- Yeni hücrelerin ve hücresel yapıların oluşumunu düzenler;
- Yağ bezi hücrelerinin aşırı neoplazmını bloke eder
- Doku çürüme ürünlerinin oluşumunu ve atılımını desteklerler.

Uygulama yöntemine göre retinoid ajanlar 2 gruba ayrılır. Topikal olarak kremler, merhemler ve jeller, sistemik ise ilaç olarak oral kullanılmaktadır. Retinol bileşiklerinin etkisi, yağ bezlerinin normalleşmesinde, enflamatuvar süreçlerin kesilmesinde, cilt

yenilenmesinin hızlanmasında ve kollajen sentezinde kendini gösterir. Hafif akne için topikal retinoidler, orta ve şiddetli aknelerde ise sistemik ilaçlar reçete edilmektedir. Akne tedavisinde retinoidler genellikle diğer ilaçlarla birleştirilir. Gözenekleri temizleyerek, tıbbi kremlerin cildin daha derin katmanlarına nüfuz etmesini kolaylaştırır. Ayrıca ölü hücreler tarafından gözeneklerin tıkanmasını da önlerler.

2.2.1. Retinoidlerin sınıflandırılması

İlk retinoid 1955'te sentezlenmiş izotretinoindir. O zamandan beri, iki binden fazla retinoid sentezlenmiştir. Tipik olarak üç kuşakta sınıflandırılırlar.⁵⁷

Birinci nesil

Birinci nesil retinoidler, aromatik olmayan retinoidlerdir. Bunlar retinol, retinal, izotretinoin (13-cis retinoik asit), tretinoin (all-trans retinoik asit) ve diğerleri arasında alitretinoindir (9-cis retinoik asit). Birinci nesil retinoidler, polar uç grup ve polien yan zincirinde oluşan değişikliklerle A vitamininin siklik yapısını korur.⁵⁸

İkinci nesil

İkinci nesil retinoidler, monoaromatik bileşiklerdir. Bunlar etretinat, asitretin ve motretinat içerir. Yapısal özelliklerinden dolayı birinci nesil retinoidlerle kıyasla daha yüksek biyoyararlanım ve lipofilliğe sahiptirler. Asitretin, etretinatın aktif metabolitidir ve biyolojik olarak da kullanılmaktadır. Asitretin, negatif yüklü bir yan grup içerir, etretinattan daha az lipofilik hale getirir.⁵⁹ Ortalama yarı ömrü eliminasyonu iki gün iken, etretinatın yarı ömrü 120 gündür.

Üçüncü nesil

Üçüncü nesil retinoidler, polien yan zincirinin siklizasyonu ile oluşturulmaktadır. Bu grup, poliaromatik moleküller olan tazaroten, adapalen ve beksaroten içermektedir.

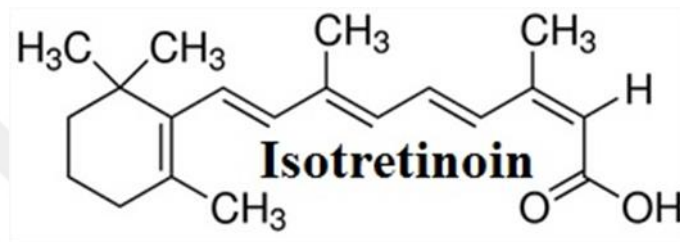
2.2.2. İzotretinoin'in tıbbi kullanımı

İzotretinoin 13- cis - retinoik asit olarak da bilinen bir retinoiddir. Şekil 2.2'de izotretinoin molekülünün kimyasal yapısı görülmektedir.⁶⁰ İzotretinoin , şiddetli, kistik akne ve diğer tedavilere yanıt vermeyen akneler için en çok kullanılan ilaçlardan biridir. Ayrıca belirli cilt kanserlerini (skuamöz hücreli karsinom) önlemek için ölümcül bir cilt hastalığı olan iktiyozis ve lameller iktiyozis tedavisinde kullanılmaktadır. Birçok dermatolog, diğer tedavilere dirençli olduğu kanıtlanan fiziksel, psikolojik yara izi oluşturan ya da daha düşük dereceli akne tedavisi için kullanımını da desteklemektedir.⁶¹ İzotretinoin 12 yaşından küçük çocuklara önerilmemektedir.⁶² İzomeri olan tretinoin de bir akne ilacıdır. İzotretinoin tedavisinin ayrıca deneysel kullanımda genital siğillere karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ancak akne tedavisinde daha etkili olduğu için bu gibi hastalıklarda nadiren kullanılmaktadır.

2.2.3. İzotretinoinin metabolitleri

İzotretinoin, doğal (fizyolojik) retinoidlere aittir ve enterositlerden gelen bariyeri aşmak için retinol türevlerinin yolunu tekrarlar. İzotretinoinin biyolojik olarak önemli en az beş metaboliti vardır: 13- cis -4- okso -retinoik asit (4- okso -izotretinoin), all -trans - RA (tretinoin), all -trans -4 - okso -retinoik asit (4- okso -tretinoin), 9- cis retinoik asit ve 9- cis -4- okso -retinoik asit. İzotretinoin ayrıca 9- cis'ten daha üstündür. Aknenin retinoid tedavisinde önemli olduğu düşünülen reseptör olan RAR-'ye sadece tretinoin ve 4- okso -tretinoine bağlanır. Kan plazmasındaki ve hücrelerin içindeki taşıyıcılar - vücuttaki retinol metabolizmasının düzenlenmesinin fizyolojik mekanizmalarını yanı sıra hedefler. Vücuttaki fizyolojik retinoid seviyesi sıfır değildir ve belirli bir değer aralığında tutulmaktadır. Bunun için endojen düzenleyici mekanizmalar vardır. Bu tür homeostatik mekanizmalar, çözünürlüğü artırma, retinoidleri inaktivasyondan koruma ve aynı

zamanda olası toksik etkilerini önleme görevini yerine getiren retinoid bağlayıcı proteinleri içermektedir.^{63 64} Tretinoin ise (all-trans retinoik asit) aksine, izotretinoinin hücrel retinol bağlayıcı proteinlere veya retinoik asit nükleer reseptörlerine (RAR'ler ve RXR'ler) bağlanma yeteneği çok az veya hiç yoktur. Ancak hücre içi olarak metabolitlere dönüştürülen bir ön ilaç işlevini görebilmektedir.^{63, 65}



Şekil 2.2. İzotretinoin molekülü

2.2.4. İzotretinoinin tarihçesi

Dr. Werner Bollag ilk olarak 1960'larda İsviçre'deki Roche laboratuvarlarında kimyasal bileşik 13-cis retinoik asit üzerinde çalışmıştır. Bollag, bileşiği cilt kanseri tedavisinde test etti ve 1971'de ilacın sivilceleri tedavi etme yeteneğini keşfetmiştir. Ancak Bollag, ilacın ciddi doğum kusurlarına neden olabileceğini de fark etmiştir. Bilinen bir teratojen olan A vitamininden türetilen bileşik kanser tedavisinde etkisiz bulunduğu için projeden vazgeçti. O zamanlar talidomid trajedisinin yarattığı psikolojik ikliminde, böyle yaygın bir cilt şikayeti tedavisi için teratojenik özelliklere sahip bir ajan geliştirmek düşünülemezdi.⁶⁶

1975 yılında, Ulusal Sağlık Enstitülerinden (NIH) iki bilim adamı, Hoffmann-La Roche'un 13-cis retinoik asidi (daha sonra izotretinoin olarak bilinir) lamellar ichtiyoz adı verilen ciddi bir cilt bozukluğunun tedavisi için test etmeye başladı. Araştırmalarında, Dr. Frank Yoder ve Gary Peck yanlışlıkla kimyasalın sivilceleri de temizlediğini keşfetmiştir.

Sivilcelerle kaplı olan denekler ofise temiz bir cilt ile dönmüşlerdir.⁶⁷ 27 Kasım 1976'da Yoder ve Peck bulgularını İngiliz tıp dergisi Lancet'te yayınladılar. İki doktora göre, Hoffmann-La Roche onları Werner Bollag'ın çalışmaları hakkında asla bilgilendirmemiştir. Peck daha sonra Columbus Dispatch'e "1986'ya kadar 1971 çalışmaları hakkında bilgim yoktu" dedi. Yıllar boyunca Yoder ve Peck, akne tedavisi olarak izotretinoini ilk keşfedenlerin kendileri olduğuna inanıyorlardı. Başvurunun sunulmasından dokuz ay sonra, Mayıs 1982'de FDA, Accutane'nin onayını duyurmuştur. İlaç "1A" olarak sınıflandırılmış, en yüksek önceliğe sahip olmuş ve hızlı izleme onayı almıştır. Washington Post'ta alıntılanan bir Hoffmann-La Roche sözcüsüne göre, "Onay o kadar hızlı geldi ki, herkes için oldukça sürpriz oldu. Amerika Birleşik Devletleri Accutane'ı onaylayan ilk ülke olmuştur."⁶⁸

2.2.5 İzotretinoinin farmakolojik etkisi ve etki mekanizması

Retinol, retinal, tretinoin, izotretinoin, kan plazmasındaki, hücre içindeki spesifik olmayan (albümin) ve spesifik taşıyıcılara bağlanır. Hücre içi retinoid bağlayıcı proteinler (CRBP, hücresel retinoid bağlayıcı protein) trans-retinoik asidin tanınmasına ve bağlanmasına aracılık eder. Retinoidlerin genomik olmayan etkisi, hücre içi proteinlerin işlevinin, onlara bir retinoik asit kalıntısı (protein retinoylation) ekleyerek değiştirilme mekanizmalarını içerir.

Metabolit olan 13-cis retinoik asitin yarı ömrü 20 saattir. Kanda başlıca albumin olmak üzere %99 proteinlere bağlanarak taşınır. Karaciğerde metabolize edilerek, enterohepatik dolaşıma katılır, idrar ve feçesle atılır.

İzotretinoinin en önemli etkisi sebosit proliferasyonunu, terminal sebosit farklılaşmasını ve sebace bez büyüklüğünü azaltarak sebum üretimini baskılamasıdır. İzotretinoin akne patogenezinde bilinen tüm faktöre etki ettiği gibi hormonal,

inflamatuvar, immünolojik etkileri de ke fedilmi tir ve bu faktörler üzerinde uzun süreli etkisi ortaya çıkmaktadır.⁶⁹

 zotretinoin forkhead box sınıfı O (FoxO)1'i upregüle ederek doğal bağışıklık sistemini stimüle eder, bununlada T hücre cevabını azaltır ve anti-inflamatuvar etki gösterir.⁷⁰ T lenfositlerden salınan IL-4, IFN- , TNF-  ve IL-17 düzeylerini azaltarak imm noreg latuvar etkilere de sebep olur.⁷¹ Akne patogenezinde matriks metalloproteinazların (MMP) da rol oynadığı bilinmektedir.⁷²  zotretinoin diğer tedavilerden farklı olarak skar oluşumunu azaltmaktadır, Sıçan kanındaki AST enziminin grafikte gösterilmesi bunu MMP-9 ve MMP-13 azaltarak yaptığı  ne sürülmektedir.⁷³ Hormonal etkisinin doz bağımlı olarak ortaya çıktığı, tiroid hormonu, kortizol, büyüme hormon düzeylerini ve ACTH etkilediği de gösterilmektedir.⁷⁴

2.2.6.  zotretinoin metabolizma

Oral uygulamadan sonra plazmada üç ana metabolit tespit edilir: 4-okso-izotretinoin, tretinoin (tam adı trans-retinoik asit) ve 4-okso-retinoin. Bu metabolitler, çeşitli in vitro testlerde biyolojik aktivite göstermiştir. 4-Okso-izotretinoinin, izotretinoinin terapötik aktivitesinde (izotretinoin ve tretinoinin plazma düzeylerinden bağımsız olarak sebum atılımının inhibisyonu)  nemli bir rol oynuyor. Ana metabolit, denge durumunda plazma konsantrasyonları ana ilacın konsantrasyonundan 2.5 kat daha yüksek olan 4-okso-izotretinoindir.⁷⁵ Glukuronid konjugatları dahil diğer metabolitler önemsizdir.  zotretinoin ve tretinoin geri dönüşümlü olarak birbirine d n   t r ld ğ nden, tretinoinin metabolizması izotretinoinin metabolizması ile ilişkilidir. Bir izotretinoin dozunun %20-30'unun izomerizasyon ile metabolize olduğu tespit edilmiştir.⁷⁵ Enterohepatik dolaşım, insanlarda izotretinoinin farmakokinetiğinde önemli bir rol oynamaktadır. In vitro çalışmalar sitokrom P450'nin CYP2C8, CYP2C9,

CYP3A4 ve CYP2B6 izoenzimlerinin izotretinoin metabolizmasında yer aldığı gösterilmiştir. İzotretinoin - 19 saat, 4-okso-izoretinoin 29 saat böbrekler ve safra ile yaklaşık olarak eşit miktarlarda atılır.

2.2.7. İzotretinoinin yan etkileri

İzotretinoin, büyümekte olan genç insanlarda uzun kemik büyümesini durdurmaktadır. Önerilen dozlarda Accutane alan aknesi olan kişilerde erken epifiz kapanması meydana gelebilir.^{27,76}

Cinsel etkileri

İzotretinoin ayrıca cinsel yan etkilerle, yani erektil disfonksiyon ve libido azalmasıyla da ilişkilidir. Ekim 2017'de, Birleşik Krallık MHRA (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency) bu sorunların raporlarına yanıt olarak doktorlara bir "İlaç Güvenliği Güncellemesi" yayınlamıştır.⁷⁷ Bu da Ağustos 2017'de yayınlanan ve bu yan etkilerin makul bir fizyolojik açıklamasının "plazma testosteronunda bir azalma olabileceğini" belirten bir AB incelemesine yanıt olarak gelmiştir.⁷⁸ Yapılan araştırmalarda "ürün bilgilerinin, bilinmeyen bir sıklıkta istenmeyen bir etki olarak erektil disfonksiyon ve libido azalması dahil cinsel işlev bozukluğu'nu içerecek şekilde güncellenmesi gerektiğini" belirtmiştir.⁷⁹

Cilt üzerine etkileri

En sık görülen yan etkiler dudaklar, cilt ve burunda oluşan mukokutanözdir. Diğer yaygın mukokutanöz yan etkiler ise dudakların iltihaplanması ve çatlaması (keilitis), ciltte kızarıklık (eritem), döküntüler, soyulma, egzama (dermatit), kaşıntı (pruritus) ve burun kanamalarıdır (burun kanaması).⁸⁰ Dudaklarda kuruluk olmaması, hemen hemen tüm kişilerde olduğu gibi, tedaviye uyumsuzluğun (ilacın önerildiği şekilde alınmadığının) bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.⁸⁰

Bu sorunları azaltmak için tedavi boyunca düzenli olarak dudak balsamı ve nemlendirici kullanılması önerilir. Bu yan etkilerin şiddetini azaltmak için dozun azaltılması gerekmektedir.⁸¹ Cilt, özellikle sürtünme kuvvetlerine karşı daha kırılgan hale gelir ve yara iyileşmesi gecikir. Bu nedenle İZO kullanan hastalara elektif cerrahi, saç ağdası, dövme, dövme sildirme, piercing önerilmez. Akne izlerinin tedavisi genellikle bir izotretinoin kürü tamamlandıktan sonra 12 aya kadar ertelenir.

Teratojenik etkileri

İzotretinoin, kadınlar tarafından hamilelik sırasında veya hatta gebe kalmadan kısa bir süre önce alındığında doğum kusurlarına neden olma olasılığı yüksek olan bir teratojen ilaçtır. Bu ilacın neden olabileceği daha yaygın doğum kusurlarından birkaçı, işitme, görme bozukluğu, eksik veya bozuk kulak memeleri, yüz dismorfizmi ve beyin işlevindeki anormallikler aittir. İzotretinoin, FDA Gebelik Kategorisi X ve ADEC Kategori X olarak sınıflandırılır ve gebelikte kullanımı yasaktır.⁸² AB'de izotretinoin (oral) gebelikte kontrendikedir ve gebelik önleme programının koşulları karşılanmadıkça çocuk sahibi olabilecek kadınlar tarafından alınmamalıdır.

Üretici, izotretinoinin başlamasından iki hafta önce gebeliğin sonlandırılmasını, izotretinoin tedavisine başlamadan en az bir ay önce, tedavisi sırasında ve en az bir ay boyunca aynı anda iki etkili doğum kontrol hapı kullanmasını önermektedir. İzotretinoin alan kişilerin teratojenitesi nedeniyle tedavinin kesilmesinden sonra en az bir ay boyunca kan bağışlamasına izin verilmez.

Psikolojik etkileri

Nadir görülen psikolojik yan etkilere depresyon, önceden var olan depresyonun kötüleşmesi, saldırgan eğilimler, huzursuz ruh hali ve benzerleri örnek verilebilir. Bu yan etkiler arasında anormal davranış, psikoz, intihar düşüncesi bulunmaktadır.^{83 84 85}

1983'ten başlayarak, izotretinoin kullanımı sırasında veya hemen sonrasında meydana gelen, özellikle depresyon olmak üzere duygu ve durum değişikliğini öne süren izole vaka raporları ortaya çıkmıştır. ⁸⁶

Kas ve iskelet sistemi üzerine etkileri

İzotretinoinin bir takım kas -iskelet sistemi etkileri vardır. Miyalji (kas ağrısı) ve artralji (eklem ağrısı) de bu ilacın bilinen yan etkileridir. ⁸⁰ Yüksek doz etretinat gibi retinoidlerin, özellikle büyümekte olan çocuklar ve ergenlerde en yaygın türü hiperostotik değişiklikler (aşırı kemik büyümesi) olan kemik değişikliklerine neden olduğu iyi bilinmektedir.⁸⁰ Diğer problemler arasında erken epifiz kapanması, bağların kalsifikasyonu sayılabilir. Omurga ve ayak kemikleri en sık etkilenir. İskelet etkileri için risk faktörleri arasında ileri yaş, daha yüksek doz ve daha uzun tedavi süreci yer alır. ⁸⁰

Gastrointestinal sistem üzerinde etkileri

İzotretinoin mide bulantısı, ishal ve karın ağrısı gibi spesifik olmayan gastrointestinal semptomlara neden olabilir. İlaç, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) - ülseratif kolit ile ilişkilidir, ancak Crohn hastalığı ile ilişkili değildir. ⁸⁷ Ayrıca, irritabl bağırsak sendromu (IBS) geliştiren ve mevcut IBS'nin kötüleştiği kişilere ilişkin raporlar bulunmaktadır ⁸⁸

Karaciğer üzerinde etkileri

İzotretinoin kullanımı karaciğerde biyokimyasal değişikliklere neden olabilir. Karaciğer enzimlerinde artış, trigliserid, total kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyleri ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol düzeylerini değiştirmektedir^{89, 90}

Son kanıtlar gösteriyor ki, oksidatif stres oluşumu ve E vitamini tükenmesi, izoindüklenen karaciğer toksisitesini başlatan olaylardan bazılarıdır.⁵ Genel olarak

güvenli kabul edilse de izotretinoin kullanımına bağlı bir takım yan etkiler bildirilmiştir. İzotretinoin, serum lipid düzeylerini artırma potansiyeline sahip olduğundan, hepatositlerde hepatosteatoza yol açan lipid birikimine dolaylı olarak katkıda bulunmaktadır. Hepatotoksisite, izotretinoin kullanan hastalarda endişe verici bir sorundur. Tedavi süresince karaciğer enzimlerinin ve serum lipidlerinin düzenli aralıklarla kontrol edilmesi önerilmektedir.^{5,91}

2.2.8. Aşırı doz

İzotretinoin, A vitamininin bir türevidir. A vitamininin akut toksisitesi düşük olmasına rağmen, aşırı doz durumunda hipervitaminoz belirtileri (kuru cilt ve mukoza zarları, keilit, burun kanaması, ses kısıklığı, konjonktivit, geri dönüşümlü kornea bulanıklığı, intolerans) görülmektedir. Akut A vitamini toksisitesinin tezahürü şiddetli baş ağrısı, mide bulantısı veya kusma, uyuşukluk, sinirlilik ve cilt kaşıntısı ile ifade edilmektedir.

2.2.9 Deneyisel hepatotoksitite modelleri

Hepatoprotektif ve antioksidan maddelerin tespiti için birçok araştırma yapılmaktadır. Bu araştırmaların yapılması için deneysel hayvan modelleri uygulanmaktadır. Bunlar içerisinde parasetamol⁹², izoniazid⁹³, rifampisin, piragallol⁹⁴ ve izotretinoin⁹⁵ modelleri mevcuttur. Bizim tez çalışmamızda araştırdığımız izotretinoinle oluşturulmuş karaciğer hasarında biyokimyasal ve farmakolojik bilgiler incelenmiştir. Diğer ilaçların (parasetamol, rifampisin, izoniazid vb gibi) tedavide kullanılma süreleri izotretinoinden farklı olarak daha kısadır. İzotretinoinle tedavi süresinin daha uzun olması ve bu nedenle karaciğer hasarının oluşması terapide kombine olarak hepatoprotektif maddelerin kullanılmasını gerekli kılmaktadır Yapılan literatür taramalarından ulaştığımız bilgilere göre İZO etkilerini araştırmak için sıçan ve fare

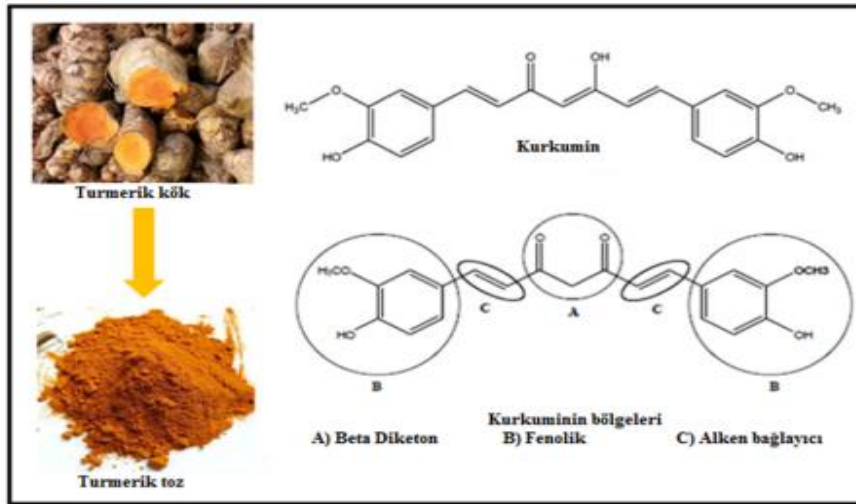
kullanılmıştır. İZO aynı zamanda böbrekler overler, cilt üzerinde ciddi yan etkilere sahiptir ve bu ilacın uygulanması karaciğer ve diğer organlarda oksidatif strese neden olmaktadır. Tez çalışmamızda güçlü antioksidan ve güçlü anti-inflamatuar özelliklere sahip kurkuminden zengin zerdeçal ekstresinin izotretinoin ile indüklenen karaciğer hasarı modelinde, karaciğer hasarının rutin biyokimyasal biyobelirteçleri ve oksidatif stress parametreleri analiz edilerek incelenmiştir.

2.3. Zerdaçal (*Curcuma longa* L.)

Zerdeçal, *Curcuma longa* L. – Zingiberaceae (veya zencefil) ailesine ait Hindistan ve Çin'de yaygın olarak yetiştirilen bir güney Asya tropikal bitkisidir.⁹⁶ Kalın, dallı, etli ve kokulu rizomları olan çok yıllık otsu yapıya sahip kökleri ise genellikle yumrulu kalınlaşmalara sahiptir.⁹⁷ Zerdaçalın tarihi yaklaşık beş bin yıl öncesine dayanmaktadır.^{98, 99} Antik Hindistan'ın özel medikal kaynağı olan Ayurveda tıbbında, çeşitli hastalıkların tedavisi için bir fitoterapötik olarak kullanılmıştır.¹⁰⁰ Rizom ve gövdeleri, uçucu yağlar ve kurkuminden zengin sarı boyalar içermektedir. Bitkinin kökü hem baharat, hem de tıbbi bitki olarak da sıklıkla yetiştirilmektedir. Zerdaçaldan elde edilen drog, zerdaçal rizomlarından elde edilir. Gastronomide farklı yemek türlerinde genellikle renklendirici ve tatlandırıcı olarak kullanılmakta ayrıca depolama sırasında gıda bozulmasını önlemek için stabilizatör olarak kullanılmaktadır. Zerdaçal tozunun kuru ağırlığının yaklaşık %1-6'sı, baskın fito-bileşenleri olan kurkuminoidlerden (kurkumin) oluşmaktadır. Kurkumin kimyasal molekülü şekil 2.3.'de görülmektedir.¹⁰¹ Literatürde genellikle Zerdaçalın dört türünden bahsedilir. Bu bahsedilen türlerin yalnızca üçü beslenme amaçlı, baharatların hazırlanmasında ise uzun zerdaçal (*Curcuma longa*) kullanılmaktadır. İkinci tip - Aromatik zerdaçal (*Curcuma aromatica*) genel olarak uzun zerdaçal türünden daha değerli olduğu için şekerleme endüstrisinde kullanılır. Üçüncü tür

Curcuma zedoaria (*Curcuma zedoaria*) kullanımı genellikle ise küçük dilimler şeklinde tüketilir. Bu türlerin üçü de Hint safranı adı altında anılabilir. Zerdeçalın dördüncü türü olan *Curcuma leucorrhizae* genellikle içeriğinde daha çok nişasta bulundurduğundan endüstriyel bir mahsul olarak da bilinmektedir.

Batı toplumlarında, zerdeçal tüketimi, iltihaplanma ve kansere karşı terapötik özelliklerinin bilinmesi nedeniyle artan bir eğilim göstermektedir.^{102 103} Zerdeçalın güvenli bir diyet takviyesi resmi olarak kabul edilmesi, bu bitkinin yaygın kullanımına ve kozmetik alanlarda da yayılmasına katkıda bulunmuştur. 2013'ten bu yana zerdeçal, Kuzey Amerika'daki en üst sıradaki bitkisel takviyedir ve o yılın satışını %26,2 artırmıştır.¹⁰⁴



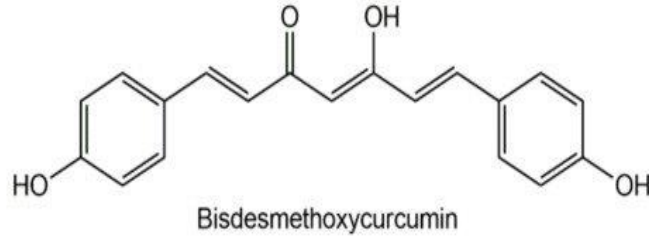
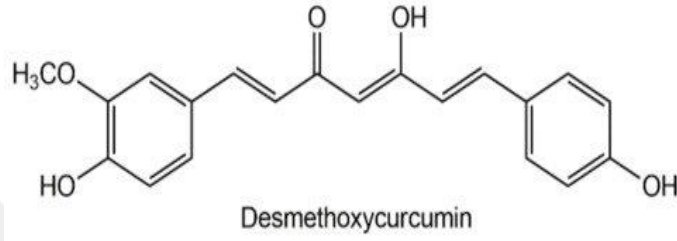
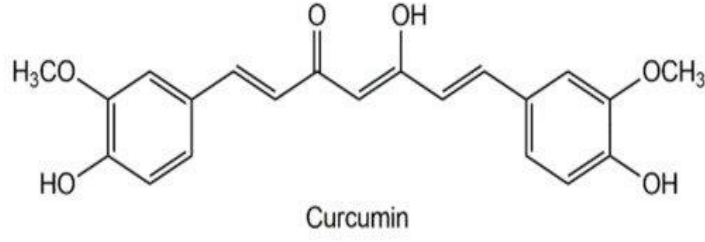
Şekil 2.3. Kurkumin kimyasal molekülü

2.3.1. Zerdeçal kimyası

Zerdeçal içeriğinde karbonhidratlar, proteinler, lipidler, lif, kurkuminoid pigmentler, seskiterpenler (turmeron, atlantone, zingiberone, turmeronol, germakron, α -curcumene, β -sesquiphellanderene, bisacurone, curcumenone, dehidrocurdione, procurcumadiol, bis-acumol, curcumenols, zedoaronediol, bisabolene ve curlone) ve

kafeik asit gibi pekçok etken maddenı barından bir bitkidir.^{105 106} Zerdeçalın kurkuminoid içeriği %2 ile %9 oranında değişmektedir. Genel olarak kurkuminoidlerden (kurkumin, dimetoksi kurkumin ve bisdemetoksi kurkumin pigmentleri dahil %30 ila %45) ve zerdeçal esansiyel yağından (%15 ila %20, eser miktarlarda bulunan diğer bileşiklerin yanı sıra zerdeçal ve zingiberenden) oluşmaktadır. Zerdeçalın esas fonksiyonu ana ürünlerinin (yani zerdeçal tozu, zerdeçal öleroresin ve kurkumin) gıda ve eczacılık alanlarındaki uygulanmasına dayanmaktadır.

Zerdeçalın aktif bileşeni olan kurkumin, sarı-turuncu rengine sahip bir polifenoldür. Kurkumin anti-inflamatuar, antioksidan, antidiyabetik, antikolesterolemik, antihepatotoksik, antikanserojenik, antivenom, antidepresan ve nöroprotektif aktivitelerle ilgili farmakolojik özellikleri ile tanınmakta ve Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından “üçüncü nesil kanser kemopreventif ajanı” olarak adlandırılmaktadır.¹⁰⁷ Kurkumin, zerdeçalda en bol bulunan kurkuminoittir. Fakat öncülleri olan desmethoxycurcumin ve bisdemethoxycurcumin (ŞEKİL 2.4.)¹⁰⁸ eser miktarda mevcuttur.¹⁰⁹ Zerdeçalın yanı sıra curcumin ve benzerleri (*Curcuma mangga*, *Curcuma zedoaria*, *Costus speciosus*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma aromatica*, *Curcuma phaeocaulis*, *Etlingera elatior* ve *Zingiber cassumunar*'da) bileşikleri de bulunmaktadır.¹¹⁰



Şekil 2.4. *Curcuma longa*'da bulunan 2 ana curcuminoid

2.3.2. Kurkumin kimyasal yapı ve özellikleri

Kurkumin kimyasal formülü $C_{21}H_{20}O_6$ uzun bir IUPAC değerine sahip olan diferuloilmetan olarak da adlandırılır: (1 E,6 E) -1,7-bis(4- hidroksi- 3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion. Kimyasal yapısı, çözeltide keto-enol tautomerizmi sergileyen bir α,β -doymamış β -diketon parçasından oluşan yedi karbonlu bir bağlayıcı ile bağlanan o - metoksi fenol gruplarına sahip iki aromatik halka sisteminden oluşur .¹¹¹ Genişletilmiş konjugasyonu nedeniyle, π elektron bulutu, kurkumini hidrofobik yapan molekül boyunca dağıtılmasına sebep olur. ¹¹² Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine (BCS) göre, kurkumin IV sınıf bir ilaç kategorisindedir. Düşük çözünürlüğe ve düşük geçirgenliğe sahip bir bileşiktir.¹¹³

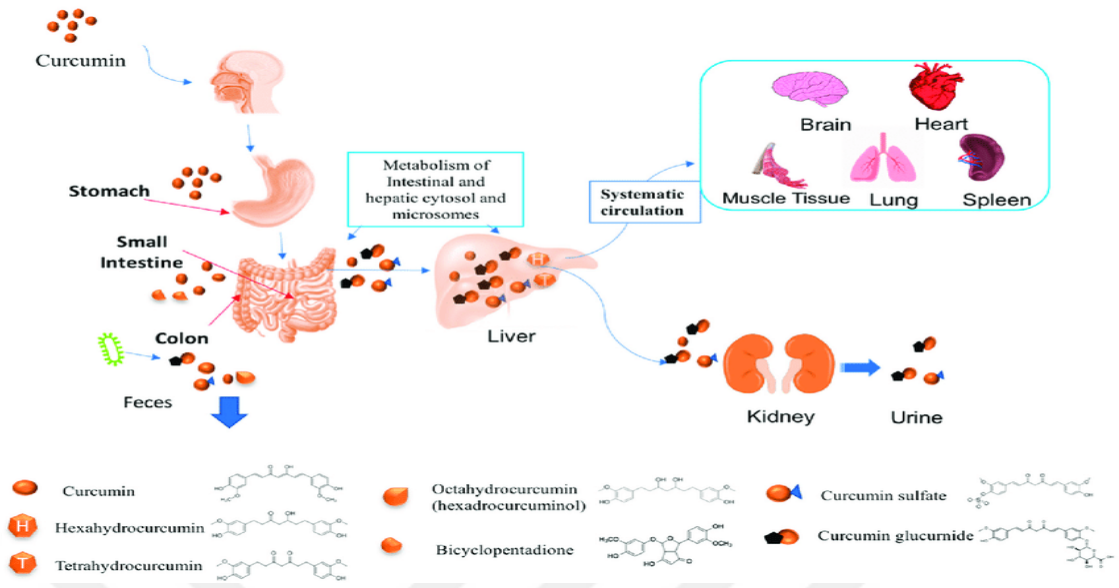
Kurkumin, yapısal stabilizasyonu nedeniyle pH < 7,0'da değerlerde suda makul ölçüde stabildir. Aslında kurkumin, pKa değerleri yaklaşık 8,5 (enolik proton) ve 10–10,5 (iki fenolik proton) ^{114 115} olan üç iyonlaşabilir protona sahiptir.

2.3.3. Kurkumin etki mekanizması

Kurkumin, anti-inflamatuar ^{116 117}, antioksidan ^{118 119, 120 121} ve antitümör aktivitelerine ¹²²⁻¹²⁵ sahiptir. Kurkumin, güçlü bir pleiotropik moleküldür. Hücre proliferasyonu ve apoptoz süreçleriyle ilişkili genlerin ekspresyonunu bile düzenleyebilir.¹²⁶

2.3.4. Kurkumin metabolizması

Yapılan çalışmalar gösterdi ki, kurkumin hayvanlarda oral uygulamadan sonra farklı bileşenlerle metabolizmaya uğrar. Kurkumin metabolizmasının şeması şekil 2.5.'de görülmektedir.¹²⁷ Dozlamadan sonra kurkumin, kurkumin glukuronid ve kurkumin sülfata metabolik O-konjugasyonuna ve tetrahidrokurkumin, heksahidrokurkumin, oktahidrokurkumin ve heksahidrokurkuminole biyolojik olarak indirgenir. İndirgenmiş kurkumin ayrıca kurkumin glukuronid, dihidro-kurkumin-glukuronid, tetrahidrokurkumin-glukuronid ve kurkumin sülfata glukuronidasyona tabi tutulmuştur.¹²⁸ Daha sonra kurkuminin esas metabolitlerinin sıçanlarda tetrahidrokurkumin ve heksahidrokurkumin glukuronidleri olduğunu belirlenmiştir. ¹²⁹



Şekil 2.5. Kurkumin metabolizması

Tetrahidrokurkumin (THC), radyasyona bağlı lipid peroksidasyonunu ¹³⁰ ve in vitro olarak indüklenen antioksidan enzimlerini ¹³¹ inhibe eder. Sıçanlarda, THC'nin diyetle uygulanması, azoksimetan ile indüklenen kolon karsinogenezinde anormal kript odaklarını ve polip oluşumunu azaltır.¹³² Diğer bir metabolit olan heksahidrokurkumin, kurkumin ile karşılaştırıldığında COX-2 ekspresyonunu inhibe etme kabiliyetini azaltmıştır.¹³³ Heksahidrokurkumin ayrıca insan kolorektal kanser SW480 hücrelerinde hücre döngüsünün durmasını indükler.¹³⁴ Pan ve arkadaşları başka bir metabolit olan oktahidrokurkuminin kurkumin ile karşılaştırıldığında daha az NF-KB baskılayıcı aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.¹³⁵ Ancak oktahidrokurkuminin serbest radikal aktivitesi kurkuminden daha yüksektir.¹³⁶ Aynı zamanda kurkumin mono- veya di-glukuronoidlerin hiçbirinin kurkumin ile karşılaştırıldığında anti-inflamatuar veya antiproliferatif aktivite gibi biyolojik aktivite göstermediği belirlenmiştir.¹³⁷ Kurkumin metaboliti olan kurkumin sülfatın, kurkumin ile karşılaştırıldığında ise daha az biyolojik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Kurkumin sülfat, prostaglandin E2 aktivitesini kurkuminden daha zayıf bir şekilde inhibe eder.¹³³ Dolayısıyla bu çalışmalar, farklı

bileşenlerde kurkuminin metabolizmasından sonra, ana kurkuminden farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği açığa çıkmıştır.

2.3.5. Antioksidan ve anti-inflamatuar aktivite

Kurkumin hidroksil ve metoksi gruplarının varlığı ile antioksidan ve anti-inflamatuar etkiye sahiptir. Kurkuminin anti-inflamatuar özellikleri, inflammatuar nötrofillerin aktivitesini inhibe etme yeteneği ile ilişkilidir ve fosfolipaz, siklooksijenaz II ve lipo-oksidaz enzimlerini inhibe etmektedir.¹³⁸ Aynı zamanda araşidonik asitin inflammatuar kaskadının çeşitli basamaklarına da müdahale eder.^{96, 139} Yapılan literatür taramalarında kurkuminin, kasık fıtığı veya hidrosel için cerrahi onarım geçirmiş hastalarda¹⁴⁰ ameliyat sonrası iltihabı azalttığı, artrit^{141, 142}, sedef hastalığı¹⁴³ ve bağırsak gibi kronik inflamasyon patolojilerinin semptomlarını iyileştirdiği gösterilmiştir.

Kurkuminin antioksidan aktivitesi aynı zamanda çok sayıda eylemin sonucudur. Kurkumin, fenolik gruplarının elektron verici özelliklerinden dolayı sadece süperoksit ve hidroksil serbest radikallerini stabilize etmekle kalmaz, aynı zamanda antioksidan enzimlerinin ekspresyonunu da indükler.^{111 144 145} Kurkuminoidlerle inkübe edilmiş insan pankreas adacıklarının beta hücreleriyle yapılan in vitro testler, hem oksijenaz 1, gama-glutamil-sistein ligaz ve NAD(P)H:kinon oksidoredüktaz düzeylerinde artış, bunun sonucunda da glutatyon düzeylerinde bir artışı göstermiştir.¹⁴⁶ Kurkumin diyabetli hastalarda ileri glikasyon son ürünlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağlar ve bir dizi klinik öncesi çalışmalarda yeni diyabet önleyici ilaç adayı olarak değerlendirilmektedir.¹⁴⁷ Ayrıca, metabolitlerin çoğu önemli antioksidan özellikler sunduğundan, kurkuminin antioksidan yararlarının metabolizasyonu ile sona ermediği de vurgulanmaktadır.¹⁴⁸

2.3.6. Kurkuminin karaciğer üzerinde etkisi

Karaciğer hastalıkları tüm dünyada önemli bir tıbbi sorunu temsil etmektedir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da, alkolün kötüye kullanımı, aşırı beslenme karaciğerdeki patolojik durumların (viral hepatitin artmasıyla birlikte) başlıca nedenleri iken, Afrika ve Asya'daki esas endişeler viral ve paraziter enfeksiyonlardır. Ayrıca, diğer ana ölüm nedenlerinden farklı olarak, karaciğer hastalığının oranları azalmak yerine artmaktadır. Karaciğer en büyük iç organdır ve farklı hücre tipleri tarafından desteklenen çok sayıda işlevi yerine getirir.¹⁴⁹ Hepatik parankimde bulunan hepatositler, karaciğer hücre popülasyonunun yaklaşık %70'ini temsil eder. Hepatositler, proteinlere ilaveten safranin salgılanmasında, kolesterol ve glikoz-glikojen metabolizmasında rol oynar. Detoksifikasyon, üre metabolizması, akut faz yanıtı ve kan pıhtılaşması hepatositler tarafından gerçekleştirilen diğer işlevlerdir. Kanal epitelinde kolanjiosit veya safra kanalı hücreleri bulunur. Bu da karaciğer hücre popülasyonunun yaklaşık %3'ünü temsil eder.¹⁵⁰ Çok sayıda in vitro çalışmalar, kurkuminin, kronik karaciğer hastalıklarında koruyucu etkisini açıklayabilecek güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler uyguladığını göstermektedir. Önemli olarak, kronik karaciğer hastalıklarının hayvan modellerinden yapılan birkaç in vivo çalışma kurkuminin, karaciğer hasarına dahil olan farklı süreçlerin inaktivasyonunun aracılık ettiği antifibrojenik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.¹⁵¹ Kurkuminin, sıçanlarda CCl₄ intraperitoneal enjeksiyonunun neden olduğu hem akut hem de subakut karaciğer hasarını, serum aminotransferazlarının aktivitesini ve karaciğer lipid peroksidasyon seviyelerini düşürerek iyileştirildiği gösterilmiştir.¹⁵² Kurkumin SOD, karaciğer lipidlerini, lipid peroksidasyonunu düşürme ve toplam GSH düzeylerini artırır. Önemli olarak, kurkuminin hem deneysel alkolik karaciğer hastalığında, hem de CCl₄'ün neden olduğu hasarda sıklıkla gözlenen GSH

tükenmesini inhibe ettiği bilinmektedir.^{153, 154} Kadmiyum^{154, 155} ve ya parasetamol^{156, 157} tarafından indüklenen hepatoselüler toksisite modellerinde kurkumin takviyesinden sonra artan katalaz, glutatyon peroksidaz ve GSH seviyeleri de geri yüklenir.

Kurkuminin, yüksek yağlı diyet zamanı hepatositlerde lipid depolamasını azalttığı, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hasarını en aza indirmeye katkıda bulunduğu gösterilmiştir.¹⁵⁸

2.4. Karaciğer enzimleri

Karaciğer fonksiyon testleri, hastanın karaciğerinin durumu hakkında bilgi sağlayan kan testi gruplarıdır.¹⁵⁹ Karaciğer transaminazları aspartat transaminaz (AST veya SGOT) ve alanin transaminaz (ALT veya SGPT) , bir dereceye kadar sağlam karaciğer fonksiyonu olan bir hastada karaciğer hasarının yararlı biyobelirteçleridir.^{160 161} En çok karaciğer hastalıkları başlangıçta sadece hafif semptomlara neden olur, ancak bu hastalıkların erken teşhis edilmesi gerekir. Bazı testler işlevsellik (örneğin albümin), bazıları hücresel bütünlük (örneğin transaminaz) ve bazıları safra yolu ile bağlantılı koşullar (gama-glutamil transferaz ve alkalın fosfataz) ile ilişkilidir.¹⁶² Karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastaların değerlendirilmesinde ve yönetiminde çeşitli biyokimyasal testler yararlıdır. Bu testler karaciğer hastalığının varlığını saptamak, farklı karaciğer bozukluklarını ayırt etmek, bilinen karaciğer hasarının boyutunu ölçmek ve tedaviye yanıtı izlemek için kullanılmaktadır.

2.4.1. Alanin aminotransferaz (ALT)

ALT, daha çok karaciğere spesifik olmasının yanı sıra böbreklerde, kalpte ve kaslarda da bulunmaktadır.¹⁶³ Transaminasyon reaksiyonunu katalize eder ve sadece sitoplazmik formda bulunur. Her türlü karaciğer hasarı ALT'de artışa neden olabilir. 300 IU/L'ye varan bir artış karaciğere özgü değildir, ancak böbrekler veya kaslar gibi diğer

organların hasarına bağılı olabilir. ALT, 500 IU/L'nin üzerine çıktığında, nedenler genellikle karaciğerden kaynaklanır. Hepatit, iskemik karaciğer hasarı ve karaciğer hasarına neden olan toksinlerden kaynaklanabilir. Hepatit C'deki ALT seviyeleri, Hepatit A ve B'dekinden daha fazla yükselir. 6 aydan uzun süre devam eden ALT yükselmesi, kronik hepatit olarak bilinir. Alkolik karaciğer hastalığı, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), çocukluk çağı obezitesi sırasında karaciğerde yağ birikmesi, steatohepatit (yağlı karaciğer hastalığının iltihabı) ALT'de bir artış ile ilişkilidir. ALT referans aralığı kadınlarda 7-35, erkeklerde ise 10-40 arasında değişmektedir.¹⁶⁴

2.4.2. Aspartat aminotransferaz (AST)

AST, mitokondride ve sitoplazmada olmak üzere karaciğerden başka kalp, kas, böbrek, beyin, pankreas ve akciğerlerde de bulunmaktadır. Bu nedenle AST karaciğer hasarının spesifik bir göstergesi değildir. Miyokard enfarktüsü, kronik karaciğer ve böbrek hasarı AST artışına neden olabilir. AST referans aralığı kadınlarda 15-42, erkeklerde ise 15-20 arasında değişmektedir¹⁶⁵.

2.5. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki normal biyokimyasal reaksiyonlar, çevreye daha fazla maruz kalma ve daha yüksek diyetel ksenobiyotik seviyeleri, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) oluşmasına neden olmaktadır. ROS ve RNS, farklı patofizyolojik koşullarda oksidatif stresi tetiklemektedir. Yapılan araştırmalar diyet ile alınan antioksidanların hastalıkların önlenmesine yardımcı olduğunu göstermektedir. Antioksidan etkili bileşikler serbest radikalleri etkisiz hale getirmekte ve oksidatif hasarı önlemektedir. Bu nedenle antioksidanların serbest radikallerle reaksiyon mekanizmasını anlamak çok önemlidir. Bu bileşikler serbest radikal reaksiyonlarını engelleyerek hücrel hasarı geciktirmektedir.¹⁶⁶ Antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olmakla

iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlara süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve s. bileşikler aittir. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise serbest radikal zincir reaksiyonlarını durdurmağa çalışır. Enzimatik olmayan antioksidanlara birkaç örnek C vitamini, E vitamini, bitki polifenolleri, karotenoidler ve glutatyonu örnek verebiliriz. Antioksidan enzimler tehlikeli oksidatif ürünlerini, bakır, çinko, manganez ve demir gibi kofaktörlerin varlığında çok aşamalı bir işlemle hidrojen peroksite (H_2O_2) ve ardından suya dönüştürür. Antioksidanları sınıflandırmanın diğer yolu, sudaki veya lipidlerdeki çözünürlüklerine dayanmaktadır. Antioksidanlar suda çözünen ve yağda çözünen antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Suda çözünen antioksidanlar (örneğin C vitamini), sitozol veya sitoplazmik matris gibi hücresel sıvılarda bulunmaktadır. Yağda çözünen antioksidanlar ise (E vitamini, karotenoidler ve lipoik asit) ağırlıklı olarak hücre zarlarında bulunur. Vücudumuzun hücresel bileşenleri oksidatif stres koşullarında değişir ve bu da çeşitli hastalık durumlarına neden olur. Oksidatif stres, antioksidanlar şeklinde hücresel savunmayı güçlendirerek etkili bir şekilde nötralize edilebilmektedir.¹⁶⁷

2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz: Eskiden hemokuprein ve eritrokuprein olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eder .¹⁶⁸ Bu nedenle oksijene maruz kalan çoğu hücrede önemli bir antioksidan savunmadır.

İnsanlarda süperoksit dismutazın üç formu vardır. SOD1 sitoplazmada, SOD2 mitokondride ve SOD3 hücre dışı sıvıda bulunmaktadır. Birincisi bir dimerdir (iki alt birimden oluşur), diğerleri ise tetramerlerdir (dört alt birimden). SOD1 ve SOD3 bakır ve çinko içerirken SOD2'nin reaktif merkezinde manganez bulunur. Genler sırasıyla 21. 6.

ve 4. kromozomları üzerinde bulunur. SOD, hücreyi zararlı süperoksit reaksiyonlarından korur. Süperoksitin radikal olmayan türlerle reaksiyonuna, seçim kurallarına göre spin tarafından izin verilmez. Süperoksit radikal anyonu (O_2^-) kendiliğinden O_2 'ye ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oldukça hızlı bir şekilde dönüşür. SOD biyolojik olarak gereklidir.¹⁶⁹ Çünkü süperoksit, peroksinitrit oluşturan NO radikali gibi bazı hedeflerle daha da hızlı reaksiyona girer. Benzer şekilde, dismutasyon hızı, süperoksitin başlangıç konsantrasyonuna göre ikinci derecedendir. Süperoksitin yarı ömrü çok yüksek konsantrasyonlarda çok kısa olmasına rağmen, düşük konsantrasyonlarda ise oldukça uzundur. Buna karşılık, süperoksitin SOD ile reaksiyonu, süperoksit konsantrasyonuna göre birinci derecedendir. Ayrıca, SOD bilinen herhangi bir enzimin en yüksek devir sayısına sahiptir. Bu reaksiyon sadece enzimin süperoksit ile çarpışma sıklığı ile sınırlıdır.¹⁷⁰ Yani reaksiyon hızı difüzyonla sınırlıdır. Süperoksit, hücredeki ana reaktif oksijen türlerinden biridir ve serbest radikaller için bir süperoksidan katalizör olarak temel bir role sahiptir.

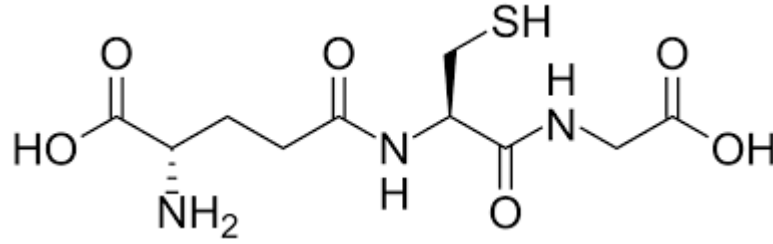
Katalaz enzmi (CAT): Katalaz enzimi tetramerik yapıya sahip olup ferriprotoporfirin grubu içermektedir. Katalaz, moleküler oksijen ve su açığa çıkarmak için H_2O_2 peroksidaz etkisine sahip olan H donörleri ile hızlı şekilde tepkimeye girmektedir.

Glutasyon peroksidaz (GPX): Hidrojen peroksit kullanarak glutasyonun glutasyon disülfide oksidasyon reaksiyonunu katalize eder. Bu enzim selenyumu kofaktör olarak kullanır.¹⁷¹ Glutasyon peroksidazın ana işlevi organizmayı hidroperoksitlerin endojen bozucu etkisinden korumaktır. Omurgalılarda en az dört GPX formu bilinmektedir. Bunlara sitozolik form (GPX1), gastrointestinal form (GPX-GI), salgılanan plazma formu (GPX-P) ve salgılanan epidermal form (GPX-EP) aittir.

2.5.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

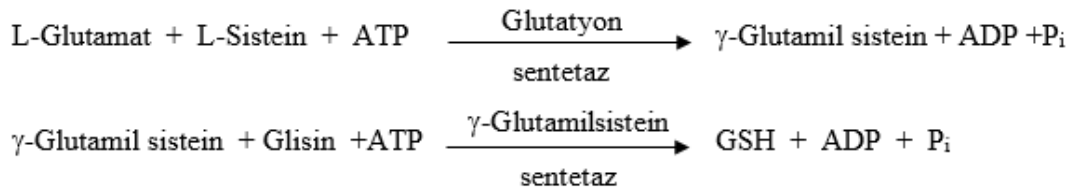
Diyette aldığımız antioksidanların büyük çoğunluğu non-enzimatik antioksidanlardır. Non-enzimatik antioksidanlara vitaminleri, flavonoidleri, glutatyonu ve s. örnek verilebilir.

Glutasyon (GSH): Tüm memeli dokularında 1-10 mM konsantrasyonlarda (karaciğerde) %85-90'ı sitoplazmada, mitokondri, çekirdek, peroksizomlar ve endoplazmik retikulumda da bulunan, oksidatif strese karşı hücreleri koruyan bir tripeptit γ -L-glutamil-L-sisteinilglisinidir. Ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, hayati öneme sahip redoks sinyallemesinin önemli bir belirleyicisi olup, hücre çoğalmasını, apoptozu, bağışıklık fonksiyonunu ve fibrojenez modüle edip, antioksidan olarak faaliyet gösterir.¹⁷² Şekil 2.6.'da Glutasyon molekülünün yapısı görülmektedir.¹⁷³



Şekil 2.6. Glutasyon molekülü

Glutasyon GPX'in katalitik yardımı ile singlet oksijen ve OH'ı yok eder ya da H₂O₂ ile lipid peroksitlerini detoksifiye eder.



C Vitamini: Suda çözünen en önemli antioksidan olarak kabul edilmektedir. Çoğu biyolojik sistemde hücre içi düzeylerde serbest radikallerin lipid membranına saldırmasını önlemekte ve hücreleri oksidatif strese karşı korumaktadır. Peroksit radikali, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalini doğrudan temizleyebilmektedir. Şu anda askorbik asit, dünya çapında en yaygın kullanılan vitamin takviyesidir. Mevcut biyokimyasal, klinik ve epidemiyolojik çalışmalara dayanarak, askorbik asit için mevcut önerilen günlük kabul (RDA) 100-120 olarak önerilmektedir.¹⁷⁴

E Vitamini: (alfa-tokoferol): Normal hücresel aktivite ve çeşitli stres faktörlerinden üretilen zararlı serbest radikalleri inaktive ederek hayvan sağlığında önemli bir rol oynayan, doğal olarak oluşan bir antioksidan besindir. Bu mikro besinin antioksidan işlevi, kısmen önemli bağışıklık hücrelerinin işlevsel ve yapısal bütünlüğünü koruyarak bağışıklığı artırmaktır.¹⁷⁵

Selenyum: Genel olarak hücrelerimizi acılığın zararlı etkilerinden koruyan, insan sağlığı için büyük önem taşıyan bir eser mineral olarak kabul edilmektedir. Se kanser gibi hastalıkların kromozom hasarını önler, viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı direnci artırır.¹⁷⁶ Şekil 2.7.'de antioksidanların sınıflandırılması görülmektedir.¹⁷⁷

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

Şekil 2.7. Antioksidanların sınıflandırılması

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.D. Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı ve Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmalarımızın tüm aşamaları etik kurallara uygun olarak “Atatürk Ü. Hayvan Denylri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 27.12.2021 tarihli ve E-93722986-000-2100359379 sayılı yazısı ile onaylanmıştır.

3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.D. ve Tıp Fakültesi Farmakoloji anabilim dalında bulunan aşağıdaki cihazlarda yapılmıştır.

Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihazın ismi	Üretici Firma
I. Magnetik karıştırıcı:	Wisd WiseStir MSH-20A, Almanya
II. pH metre:	SCHOTT Instruments Lab 850, Almanya
III. Soğutmalı santrifüj:	Hettich Zentrifugen 320 R, Almanya
IV. Otomatik Multikanal pipet	Eppendorf Research Plus
V. Hassas terazi:	Shimadzu ATX224, ABD
VI. Etüv:	Memmert WNB 7-45, Almanya
VII. Elisa Reader:	Epoch Microplate Spect, BioTek, ABD
VIII. Buzdolabı(-80):	Nuaire NU-9483E, ABD
IX. Doku Homejenizatörü:	Qiagen Tissue Lyser II

3.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Laboratuvar deneyimizde kullanılan kimyasallarımız Sigma Chemical Co.'dan (Münih, Almanya) satın alınmıştır. Kurkuminle zengin zerdeçal ekstresi (Kurkumin 40 mg: 30 Softjel) SOLGAR firması (İstanbul, Türkiye) ve İzotretinoin (Roaccutane 20mg:30 mg yumşak jelatin kapsül) ROCHE firması (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan balon joje, deney tüpü, ependorf tüpleri, beherler, cerrahi eldiven, cerrahi makas vb tüm malzemeler steril bir şekilde kullanıldı.

3.3. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması

Kurkumin hazırlanması: 800 mg kurkuminle zengin zerdeçal ekstre kapsülü, sıçanlara uygun ve yeni hazırlanmış günlük dozu uygulayabilmek için hergün 2 kapsül ayçiçek yağında çözülmüştür. 17 ml ayçiçek yağında çözülen 800 mg'lık kapsül, sıçanların ağırlığına göre 5.grup için 0,3 ml, 6.grup için 0,6 ml, 3.grup ve 7. grup için ise 1,2 ml oral olarak verildi. Herbir gün 2 kapsül kullanılmıştır.

İzotretinoin hazırlanması: 20 mg izotretinoin kapsülünü sıçanlara uygun ve yeni hazırlanmış günlük dozu uygulayabilmek için hergün 2 kapsül ayçiçek yağında çözülmüştür. 14 ml ayçiçek yağında çözülen 20 mg'lık kapsüller, sıçanların ağırlığına göre 4-7.gruplar için 0,6 ml izotretinoin oral olarak verildi.

3.4. Kullanılan Hayvanlar

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (ATADEM) üretilen, 200-210 gr ağırlığında 42 adet dişi Wistar albino sıçanları kullanıldı. Deney hayvanları normal oda sıcaklığında, pelet yem ve musluk suyu ile beslenmiştir. Ratlara ön tedavi için 30 gün boyunca sırasıyla 50, 100, 200 mg/kg ayçiçekyağında çözüldürülmüş kurkuminden zengin zerdeçal ekstresi ve aynı süre içerisinde ayçiçekyağında çözüldürülmüş 7,5 mg izotretinoin gavajlama yoluyla ile

uygulandı. Kurkuminin ve izotretinoin ayçiçekyağında çözündürülmesinin amacı etken maddelerin yağda çözünebilme özelliğine sahip olmasıdır.

3.5. Deney Grupları

Albino Wistar 42 adet 200-210 mg ağırlığında dişi ratlar rastgele seçimle her grupta n=6 adet olmak üzere toplam 7 gruba ayrıldı. Bunlar;

Tablo 3.2. Tez Çalışması Deney Grupları

Grup No	Grup isimleri
I. Grup	Sağlıklı kontrol
II. Grup	Ayçiçek yağı
III. Grup	Kurkumin 200 mg/kg
IV. Grup	İZO kontrol (7,5 mg/kg)
V. Grup	Kurkumin 50mg/kg 30 gün + İZO 7,5 mg/kg
VI. Grup	Kurkumin 100 mg/kg 30 gün + İZO 7,5 mg/kg
VII. Grup	Kurkumin 200 mg/kg 30 gün +İZO 7,5 mg/kg

I.grubumuzu sağlıklı kontrol grubu olarak belirlendi. II.gruptaki sıçanlara 1 ml ayçiçek yağı verildi. Biz sıçanlara 50,100 ve 200 mg /kg dozları ayarlayabilmek için 800 mg kurkuminle zengin zerdeçal eksterisi tabletini deney öncesi herbir gün 2 kapsülü 17 ml ayçiçek yağına çözmek suretiyle hazırladık. 3.grupa 1.2 ml ayçiçek yağına çözünmüş kurkumin verildi. İçeriğinde 20 mg izotretinoin barındıran roaccutane tableti 2 adet olmak üzere deneyden önce 14 ml ayçiçek yağına çözündürüldü. 4.grupa 0,5 ml ayçiçek yağına çözünmüş İZO, 5.grupa 0,3 ml ayçiçek yağına çözünmüş kurkumin ve 0,6 ml ayçiçek yağına çözünmüş İZO, 6.grupa 0,6 ml ml ayçiçek yağına

çözünölmüş kurkumin ve 0,6 ml ayçiçek yağında çözünölmüş İZO, 7.grupa ise 1,2 ml ayçiçek yağında çözünölmüş kurkumin ve 0.6 ml ayçiçek yağında çözünölmüş İZO verildi.

Sıçanlara 16 G kalınlığında eğri gavaj (Harvard Apparatus) ile ilaçlar verildi. Bu ilaçlar kimyasal özelliklerine uygun çözücülerde hall edilerek hayvanlara uygulandı. 30. günün sonunda Ketamin ve Ksilazin (80:20), 25 dcm ile anestezi edilmiş bu hayvanlardan intrakardiyak kan ve karaciğer dokusu alındı. Alınan kan 20 dakika bekletildikten sonra 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek serumlar elde edildi. Polietilen tüplere eklenen serum numuneleri biyokimyasal analizler için -80°C derin dondurucuda saklandı. Karaciğerleri serum fizyolojik ile yıkandı ve karaciğer dokuları biyokimyasal incelemeler için -80° C’de saklandı. Sıçanlarda izotretinoin ile oluşan karaciğer hasarında kurkuminin koruyucu etkileri biyokimyasal analiz sonuçları ile belirlendi. Her bir gruptan elde edilen sonuçlar sağlıklı grup ile mukayese edildi.

3.6. Sıçanlarda izotretinoin ile oluşan karaciğer hasarı modeli tasarımı

Tablo 3.3. Deneysel model tasarımı ve gruplar:

Gruplar	1-30 gün
I. Grup Sağlıklı kontrol	Normal beslenme
II. Grup Ayçiçek yağı	Oral 1 ml ayçiçek yağı
III. Grup Kurkumin 200 mg/kg	Oral kurkumin 1,2 ml
IV. Grup İZO kontrol (7,5 mg/kg)	Oral izo 0,6 ml
V. Grup Kurkumin 50mg/kg + İzo 7,5 mg/kg	Oral kurkumin 0,3 ml + 0,6 ml izo
VI. Grup Kurkumin 100 mg/kg + İzo 7,5 mg/kg	Oral kurkumin 0,6 ml + 0,6 ml izo
VII. Grup Kurkumin 200 mg/kg +İzo 7,5 mg/kg	Oral kurkumin 0,9 ml + 0,6 ml izo

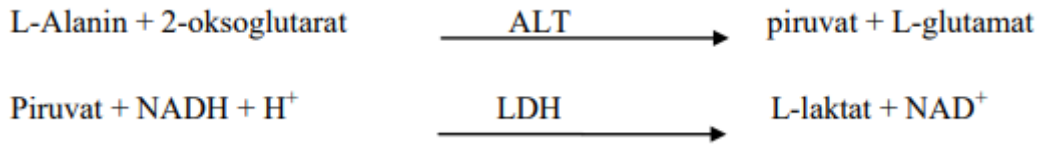
3.7. Örneklerin toplanması

30 günlük kronik deneyden sonra hayvanlar Ketamin ve Ksilazin ile anestezi edildi. Daha sonra kalbin sol ventrikülüne enjektörle girilip antikoagülansız tüplere kanlar alındı. Alınan numuneler yaklaşık yarım saat bekletildikten sonra 10 dakika süreyle 4000 g'de +4°C'de santrifüj edildi ve ALT, AST düzeylerinin analizleri otoanalizörde yapıldı.

3.8. Alanin aminotransferaz tayini

ALT tayini Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkezi Labarutavları Biyokimya kısmında Roche Cobas e-801 otoanalizöründe 3 tekrarlı olmak üzere ölçülmüştür.

Prensip: 2-oksoglutarat ve L-alanin arasındaki reaksiyonu Alanin aminotransferaz kataliz eder. Laktat dehidrojenazın (LDH) katalize ettiği reaksiyonda piruvat, NADH tarafından indirgenerek L-laktat ve NAD^+ oluşur.



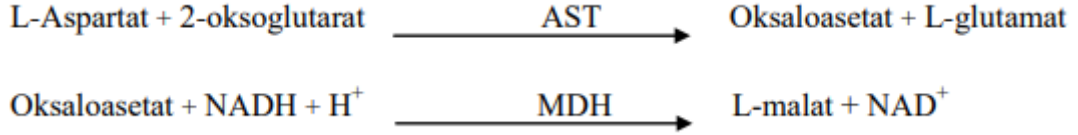
NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik ALT ile doğru orantılı olup, absorbanstaki azalmanın değeri ile belirlenir.

3.9. Aspartat aminotransferaz tayini

AST tayini Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkezi Labarutavları Biyokimya kısmında Roche Cobas e-801 otoanalizöründe 3 tekrarlı olmak üzere ölçülmüştür.

Prensip: Aspartat aminotransferaz , L-aspartat ile 2-oksoglutarat arasında bir amino grubunun transferini katalize eder ve bu reaksiyondan oksaloasetat ve L-glutamat

oluşur. Daha sonra oluşan oksaloasetat malat dehidrojenaz (MDH) varlığında NADH ile reaksiyona girer, bu zaman ise L-malat ve NAD^+ alınır.



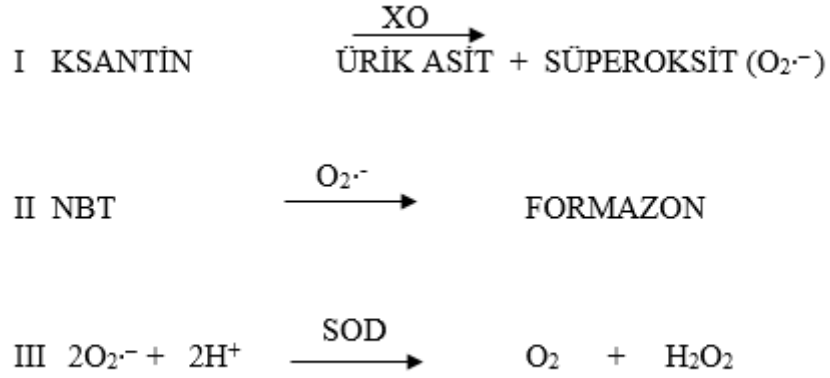
NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik AST ile doğru orantılı olup, absorbanstaki azalmanın değeri ile belirlenir.

3.10. Karaciğer Dokusunun Biyokimyasal İncelenmesi

Siçanların karaciğer dokusu alındıktan sonra biyokimyasal işlemler için -80°C 'de buzdolabında muhafaza edildi. Alınan karaciğer dokularının enzim aktiviteleri ve oksidan-antioksidan seviyelerini ölçmek için her sıçandan alınan karaciğer örnekleri, önce TissueLyser öğütme seti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak sıvı azot ile öğütüldü. Tissue Lyser II kullanılarak yaklaşık 100 mg öğütülmüş karaciğer dokusu, bir eppendorf tüpünde 1 ml PBS homojenat tamponu içinde homojenleştirilerek (30 hz 2 dk) daha sonra santrifüj edildi. Homojenize ve santrifüj edilmiş numunelerin üst fazında glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), protein seviyeleri, malondialdehit (MDA) seviyeleri ELISA cihazında literatürlere uygun olarak oda sıcaklığında 96'lık well plate'e modifiye edilip, üçer kez ölçüldü. Sonra numunelerin ve standartların ortalama absorbansı belirlendi. Standartların absorbansından elde edilerek standart eğrisi çizildi. Dokulardaki GSH, SOD ve MDA seviyelerinin analiz sonuçları, sırasıyla nmol/mg protein, U/mg protein ve nmol/ mg protein olarak gösterildi. Standart eğriye göre elde edilmiş sonuçlar mg protein başına ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verildi.

3.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Deney Prensibi: Bu uygulama Sun ve arkadaşlarının icat ettiği yöntem ile esas alınarak hayata geçirildi. Bu uygulamanın başlıca prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından indirgenmesine bağlıdır. Farmazon oluşması, ksantin oksidaz ile ksantin oksidasyonu sırasında açığa çıkan $O_2^{\cdot-}$ nin Nitroblue Tetrazolium (NBT)' u redüklemesidir. Formazon oluşumu ve NBT ile reaksiyona giren $O_2^{\cdot-}$ miktarı SOD aktivitesi yükseldikçe azalacaktır.



Kullanılan Reaktifler

1. PBS-den homojenat tamponu olarak kullanıldı.
2. 50 mM pH: 0,8 Tris-HCl.
3. SOD standart.
4. Bu ölçüm karışımı içerisinde 0,6 mM EDTA, 150 μ M NTB, 0.4 M Na_2CO_3 , 1.2 g/L BSA ve 0,3 mM Xanthine maddeleri bulunur
5. Xanthine Oxidase.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. Karaciğer dokusu kandan uzaklaştırmak için ilk önce PBS ile yıkandı

2. Homojenizasyon sıvı azot yardımı ile Qiagen-tissue lyser II cihazında yapıldı.
3. Öğütülmüş karaciğer dokularının herbirine 1 ml PBS ilave ederek Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile 30 hz 1 dakika boyunca 2 kez homojenize yapıldı
4. Santrifüj prosesi 15 dakika, +4°C' de 1500 g' de boyunca yapıldı.
5. Numune üste kalan sıvı kısmından yani süpernatant kısmından alınıp ölçümü belirlendi.

Deney 96 kuyucuklu plate' lerde ve aşağıdaki basamaklarla yapıldı;

1. Numune ve standartlardan 50 µl kuyulara ilave edildi.
2. Plate' in kör kısmına 50 µl homojenat tamponu eklendi.
3. Tüm kuyulara 200 µl ölçüm karışımı konuldu.
4. Xanthine Oxidase tüm kuyulara 20 µl konuldu.
5. Kuyulara Xanthine Oxidase ilave edildikten sonra 20 dakika boyunca 25°C' de inkübasyona saklandı.
6. İnkübasyondan çıkarıldıktan sonra Elisa reader da 560 nm' ölçüde okutuldu.

SOD Enzim Aktivitesinin Hesaplanması:

Ortaya çıkan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki absorban 560 nm' de, 96' lık well plate kullanılarak, okundu. Önceden hazırlanmış SOD stok çözeltisi ile oluşturulmuş standart grafikten yararlanılarak ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak ölçümler hesaplanmıştır. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak açıklanmıştır. Her bir karaciğer dokusu faktörünün etkisi 3 tekrar yapılarak sonuçlar verilmiştir.

3.10.2.Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini

Deney Prensipleri: Bu uygulamada Sedlak ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yöntem esas alınmıştır. (129) Ölçüm ortamındaki sülfhidril gruplu bileşikler tarafından

kolayca indirgenir ve DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir. Ortaya çıkan sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Kullanılan Reaktifler

1. PBS homojenat tamponu olarak kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu; 0,2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH: 8,2
3. Standart GSH stok
4. Methanol, 10 mM DTNB,

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. 1 ml PBS 0,1 g (100 mg) dokuya eklendi.
2. Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile bu karışım 30 Hz 3 dakikada homojenize edildi.
3. Oluşan homojenatlar, 15 dk, 12000 rpm' de, +4°C' de santrifüj edildi.
4. GSH ölçümü için süpernatantlar kullanıldı.

Ölçüm 96 kuyucuklu plate' te aşağıdaki basamaklarla yapıldı;

1. 25 µl standartlar ve numune kuyulara ilave edildi.
2. Plate' in kör kısmına 25 µl homojenat tamponu eklendi.
3. 150 µl ölçüm tamponu tüm kuyulara konuldu.
4. Sonra tüm kuyulara 10 µl DTNB pipetlenerek karıştırıldı.
5. Plate'e yüklemeler yapıldıktan sonra 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
6. En son olarak Elisa cihazında 412 nm de ölçüm yapıldı.

GSH Miktarının Hesaplanması:

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm' de, 96' lık well plate kullanılarak okundu.

GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak, ölçümlerin seyreltme

katsayıları dikkate alınarak hesaplandı ve numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tanımlandı. Her bir karaciğerin doku faktörünün etkisi 3 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.10.3. Malondialdehit (MDA) Analizi

Deney Prensipleri: Bu uygulama Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas olarak yapılmıştır. Malondialdehit (MDA) miktarı, lipid peroksidasyonun göstergesi olarak belirtilmektedir. Tiyobarbitürik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre lipid peroksidasyon miktarı ölçüldü. Malondialdehit ile Tiyobarbitürik asit 90-95°C’ de reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturur.

Kullanılan Reaktifler

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

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu;

1. Kapalı tüplere 100 mg karaciğer dokusu alınıp, sonra içine 1 ml PBS konulur.
2. Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile tüplerdeki karışım 30 hz 3 dakika homojenize edilir.
3. Oluşan homojenat 4000 rpm’ de, 15 dk , +4°C’ de santrifüjlenir.
4. MDA ölçümü için tüpteki sıvı kısım (süpernatant) kullanılır.

Ölçüm, 96 well plate’ te aşağıdaki basamaklarla yapıldı;

1. Kuyulara 10 µl standartlar ve 50 µl numune konuldu.
2. Plate’in kör kısmına 10 µl homojenat tamponu ilave edildi.

3. Tüm kuyulara 190 µl ölçüm tamponu konuldu.
4. Oluşan karışım, 60 dk, 100°C' de inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra plate' in biraz soğuması beklendi.
6. En son olarak Elisa cihazında 532 nm de ölçüm yapıldı.

MDA Miktarının Hesaplanması:

100 mM stok standart çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bu standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı. Oluşan pembe renk miktarları 532 nm' de, 96' lık well plate kullanılarak, Elisa cihazında okundu ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen sonuç numunelere uygulanarak MDA miktarı gram, doku başına, yaş nanomol olarak hesaplandı. Daha sonra numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak gösterildi. Her bir doku faktörünün etkisi 3 kez tekrar yapılarak sonuca varıldı.

3.10.4. Protein Tayini

Deneyin Prensibi: Ticari protein standartları (Total protein kiti-TP0300-1 KT; Sigma Chemical Co.(Münih, Almanya)) kullanılarak karaciğer dokusunda protein tayini Lowry metoduna göre ölçüm yapılmıştır. Bu yöntemle göre alkali bakır tartarat ile peptik bağları ayırıcı kompleks oluşturur. Bakır ile işleme tabi tutulmuş karışıma fenol ayırıcı eklendiğinde reng oluşumunun mor- mavi olduğu gözlemlenmektedir ve oluşan bu renk 650 nm' dalga boyunda okutulur.

Kullanılan Reaktifler

1. Protein Standart Hazırlanması: 32 mg BSA 20 ml saf su ile çözülerek hazırlanır
2. Lowry Reagent Solüsyonun Hazırlanması: Bir şişe Lowry Reagent içine 40 ml saf su eklenerek solüsyon hazırlanır ve iyice karıştırılır.

3. Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (Working) Solüsyonun Hazırlanması: 450 µl Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 4.75 ml saf su eklenerek hazırlanır.

Deney Prosedürü

1. 95 µl saf su tüm kuyulara ilve edilir. (standartlar hariç)
2. 5 µl numuneler kuyulara (well)ilave edilir. 100 µl ise standartlar konur
3. plate' i shaker ile 10 dakika sallayarak inkübe edilir.
4. Her kuyuya 50 µl Lowry Reagent solüsyonu kör ve standart dahil karıştırılır.
5. Oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir.
6. Tüm kuyulara Working solüsyondan 50 µl ilave edilir.
7. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.
8. Daha sonra Elisa cihazında 750 nm'de (optimum değer)' da ölçüm yapılır.

Dokuda Protein Hesaplanması:

$$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs./ Std. Abs.}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

3.10.5 İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışma sonucunda karşılaştırmalar ve istatistiksel analizler SPSS 20.0 software programı kullanılarak uygulandı. Deneylerden elde edilen sonuçlar 0.05' in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi ve One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu, aynı harflerin ise anlamsız olduğunu göstermektedir.

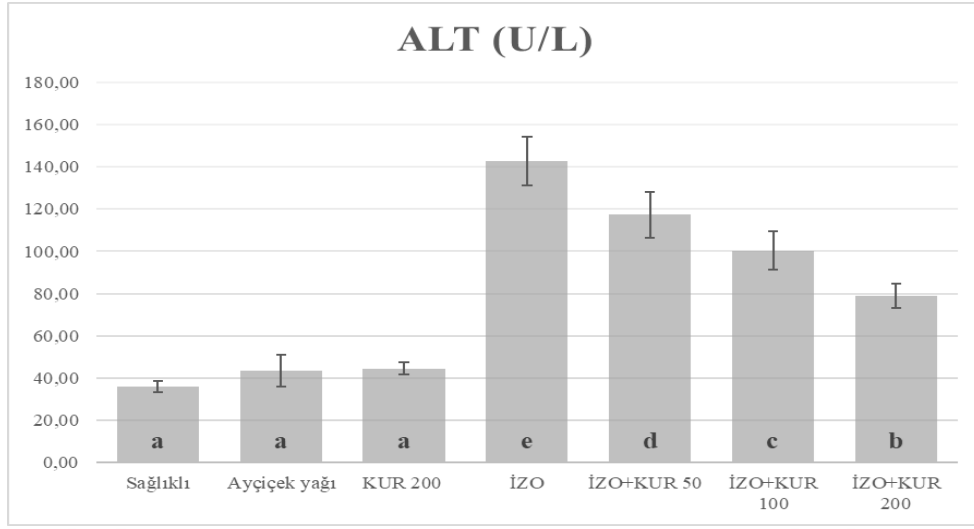
4. BULGULAR

4.1. Sıçan kanındaki Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin sonuçları:

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’den de görülebileceği üzere sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7.5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası ALT aktivitesinde istatistiksel olarak artış belirlenmiştir.($p<0.05$) İZO uygulamasıyla beraber yükselmiş ALT seviyesindeki artış tedavi uygulanmış kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç dozda özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek düştüğü belirlenmiştir. ($p<0.05$) Ayrıca İZO olmaksızın kontrol grupları olan sadece 200 mg/kg dozda uygulanan KUR ve hem KUR’un hemde İZO’nun çözücüsü olan tek başına ayçiçek yağı grubunun ALT aktivitesini etkilememiştir. ($p>0.05$)

Tablo 4.1. Sıçan serum ALT ve AST enzim seviyeleri

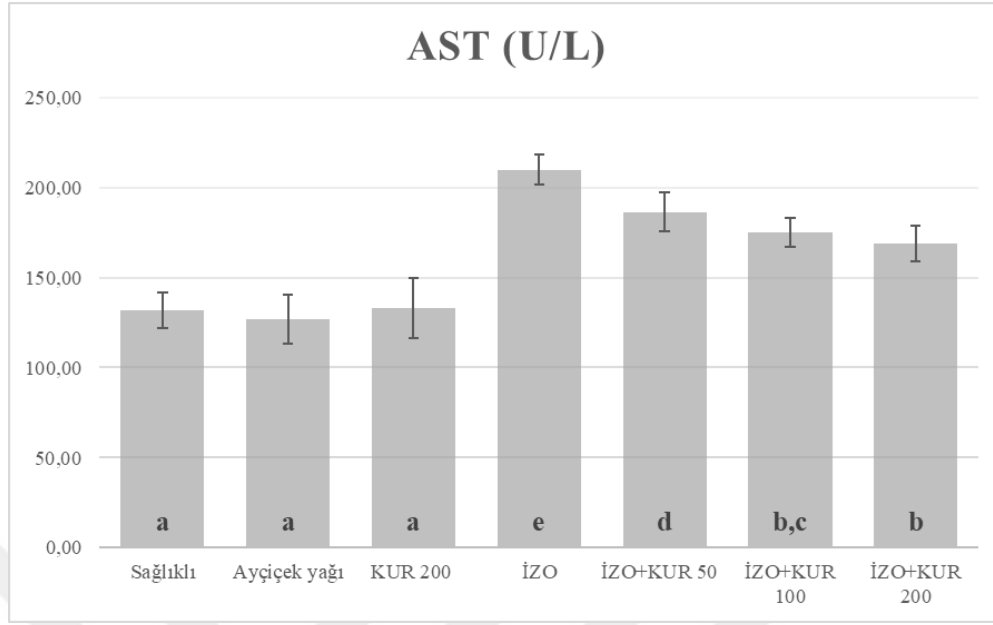
	ALT (U/L)	AST (U/L)
Sağlıklı	35,93 ± 2,67 a	131,92 ± 10,02 a
Ayçiçek yağı	43,43 ± 7,59 a	126,79 ± 13,67 a
KUR 200	44,45 ± 2,80 a	132,92 ± 16,53 a
İZO	142,68 ± 11,45 e	209,88 ± 8,20 e
İZO+KUR 50	117,33 ± 10,93 d	186,40 ± 10,97 d
İZO+KUR 100	100,33 ± 8,98 c	175,10 ± 8,01 b,c
İZO+KUR 200	79,00 ± 5,66 b	168,67 ± 9,85 b



Şekil 4.1. Sıçan serum ALT enzimini seviyesi

4.2. Sıçan kanındaki Aspartat Aminotransferaz (AST) enziminin sonuçları

Tablo 4.1. ve Şekil 4.2.'den de görülebileceği üzere sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7.5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası AST aktivitesinde istatistiksel olarak artışı belirlenmiştir. ($p < 0.05$). İZO uygulamasıyla beraber yükselmiş AST seviyesindeki artış tedavi uygulanmış kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek düştüğü belirlenmiştir. ($p < 0.05$). Ayrıca İZO olmaksızın kontrol grupları olan sadece 200 mg/kg dozda uygulanan KUR ve hem KUR'un hemde İZO'nun çözücüsü olan tek başına ayçiçek yağı grubunun AST aktivitesini etkilememiştir. ($p > 0.05$)



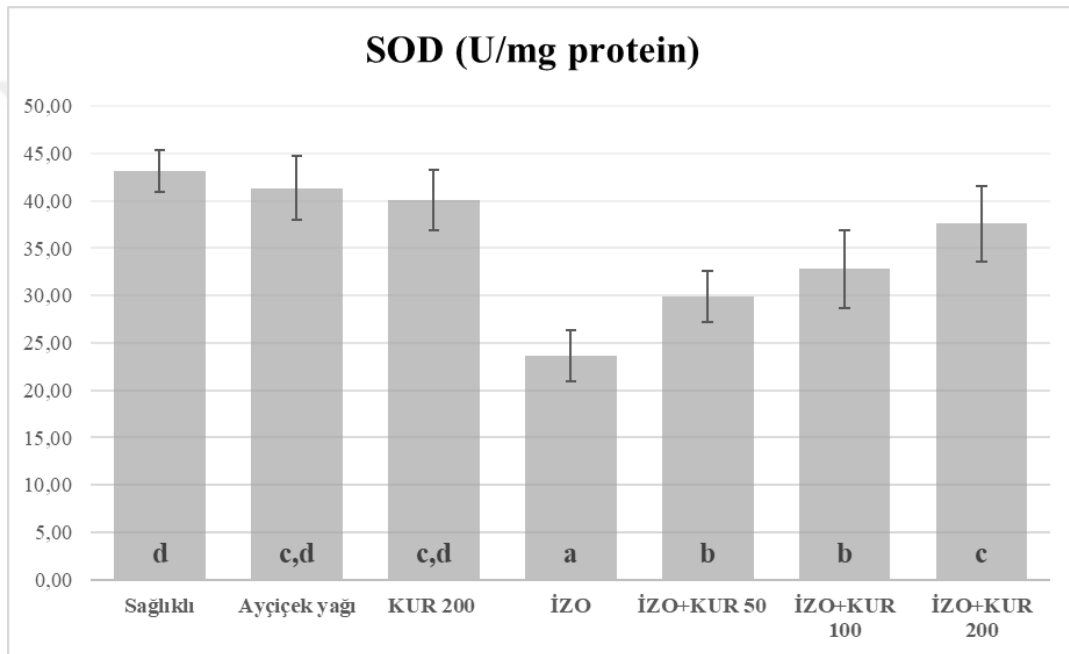
Şekil 4.2. Sıçan serum AST enzim seviyesi

4.3. Sıçan serumundaki Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD) sonuçları

Tablo 4.2. ve Şekil 4.3. 'den de görülebileceği üzere sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7,5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası SOD aktivitesinde istatistiksel olarak azalma belirlenmiştir. ($p < 0.05$) Sağlıklı kontrol grubu ile ayçiçek grupunu karşılaştırıldığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). İZO grubunda azalmış olan SOD aktivitesi kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek SOD aktivitesinde artış belirlenmiştir. ($p < 0.05$)

Tablo 4.2. Sıçan karaciğer dokusu antioksidan seviyeleri

	SOD (U/mgprotein)	GSH (nmol/mgprotein)	MDA (nmol/mgprotein)
Sağlıklı	43,17 ± 2,20 d	3,42 ± 0,13 d	1,46 ± 0,30 a
Ayçiçek yağı	41,33 ± 3,38 c,d	3,31 ± 0,15 c,d	1,56 ± 0,31 a,b
KUR 200	40,08 ± 3,24 c,d	3,71 ± 0,25 e	1,54 ± 0,23 a,b
İZO	23,61 ± 2,71 a	2,59 ± 0,16 a	3,65 ± 0,20 d
İZO+KUR 50	29,88 ± 2,67 b	2,93 ± 0,13 b	2,58 ± 0,55 c
İZO+KUR 100	32,78 ± 4,07 b	3,07 ± 0,38 b,c	2,55 ± 0,68 c
İZO+KUR 200	37,59 ± 4,02 c	3,08 ± 0,20 b,c	1,98 ± 0,16 b

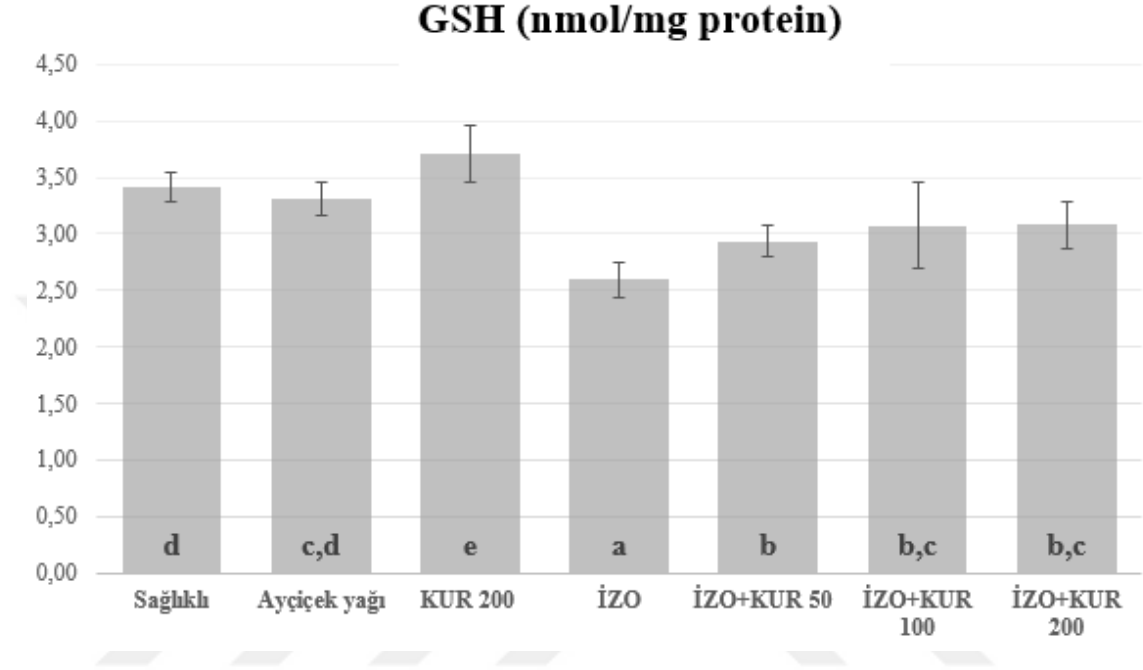


Şekil 4.3. Sıçan karaciğer dokusu SOD aktivitesi

4.4. Sıçan serumundaki Glutatyon (GSH) sonuçları

Tablo 4.2. ve Şekil 4.3.'den de görülebileceği üzere sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7.5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası GSH aktivitesinde istatistiksel olarak azalma belirlenmiştir.(p<0.05) Sağlıklı kontrol grubu ile ayçiçek grupunu karşılaştırıldığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü. (p>0.05) İZO grubunda azalmış olan GSH aktivitesi kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz

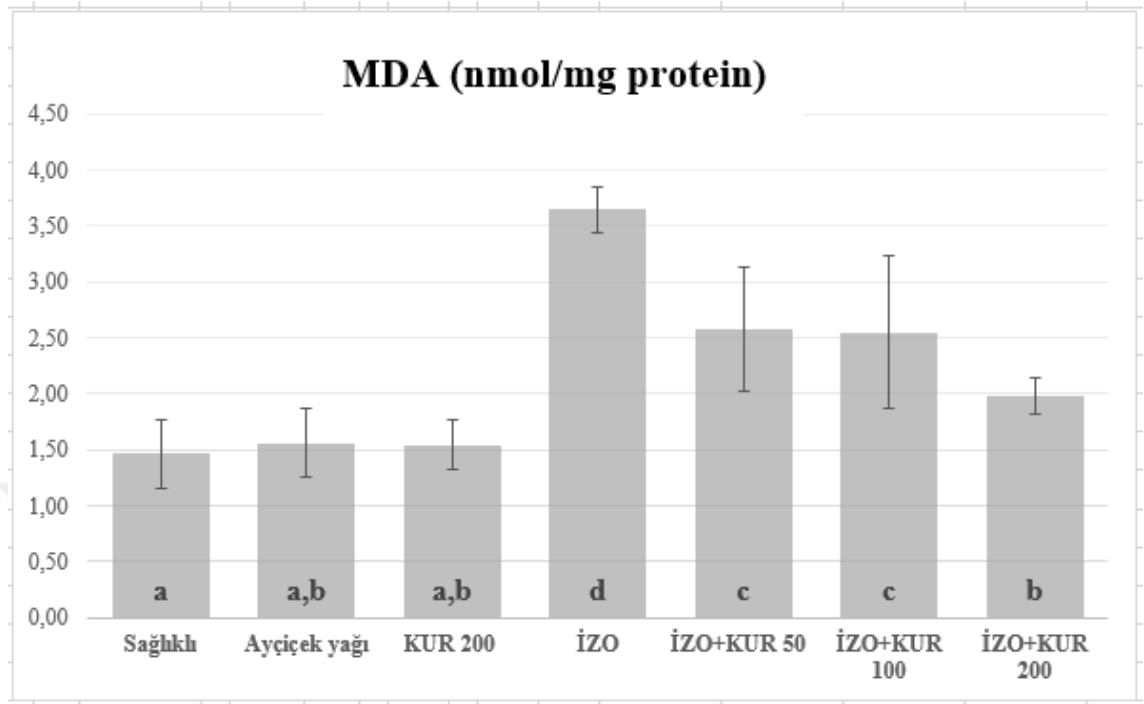
özellikle 100 ve 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek GSH aktivitesinde artış belirlenmiştir. ($p<0.05$)



Şekil 4.4. Sıçan karaciğer dokusu GSH seviyesi

4.5. Sıçan serumundaki Malondialdehit Aktivitesi (MDA) Sonuçları

Tablo 4.2. ve Şekil 4.5.'den de görülebileceği üzere sağlıklı kontrol grubuna göre İZO verilen grubun MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. ($p<0.05$) Sağlıklı kontrol grupumuz ile ayçiçek yağı grupumuzu karşılaştırıldığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü. ($p>0.05$) İZO grubunda artmış olan MDA aktivitesi kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek MDA aktivitesinde azalma belirlenmiştir. ($p<0.05$)



Şekil 4.5. Sıçan karaciğer dokusu MDA seviyesi

5. TARTIŞMA

Akne, (akne vulgaris) günümüzde yağ bezlerini etkileyen yaygın kronik cilt hastalıklarından biri olarak kabul edilmektedir. Aknenin ergenlik döneminde daha sık görmekte beraber son yıllarda özellikle kadınlarda olmak üzere diğer yaş gruplarında hastalığın görülme sıklığında artış mevcuttur.¹⁷⁸ Bazı çalışmalara göre, 20-29 yaş grubundakilerin %50'den fazlasının ve 40-49 yaş aralığındakilerin %26'sında kalıcı akne görülmektedir. Yine bu yaş gruplarında hastaların %15-20'si orta ila şiddetli akneden muzdariptir.¹⁷⁹ Akne gelişimi ergenlik döneminin yanı sıra hormonal dengesizlik (ana neden), yanlış beslenme, gastrointestinal sistem hastalıkları, bakteriler, stres, yanlış seçilmiş bakım akne oluşumlarına neden olur. Akne ile tedavide doğru yolu seçmek için önce oluşum nedenini doğru bir şekilde belirlemek gerekir. Bazen yüzdeki sivilce, altta yatan hastalığın eşlik eden bir semptomu olarak ortaya çıkabilir. Günümüzde akne tedavisi için klindamisin, benzoil peroksit, salisilik asit, azelaik asit ve başkaları kullanılmaktadır. Ancak en etkili ilaçlar sistemik retinoitlerdir ve uzmanlar tarafından tedavide son basamak olarak yaygın olarak önerilmektedir. İzotretinoin, sentetik bir retinoid türevidir. Sebum salgısını azaltır, bakteri çoğalmasını inhibe eder, hücre çoğalmasını engeller, farklı hücre tiplerinde farklılaşma ve apoptozu indükler, lezyonların, mevcut komedonların oluşumunu azaltır ve epitelin pul pul dökülmesini normalleştirir.^{70, 180}

İzotretinoin biyokimyasak mekanizması incelendiğinde forkhead box sınıfı O (FoxO)1'i upregüle ederek doğal bağışıklık sistemini stimüle ettiği ve bununlada T hücre cevabını azaltarak anti-inflamatuar etki gösterdiği belirlenmiştir.⁷⁰ T lenfositlerden salınan IL-4, IFN- γ , TNF- α ve IL-17 düzeylerini azaltarak immünoregülatuar etkilere de sebep olur.⁷¹ 13-cis retinoik asitin (İZO) yarı ömrü 20 saattir. Kanda başlıca albumin

olmak üzere %99 proteinlere bağlanarak taşınır. İlacın bireysel günlük dozu, hastanın vücut ağırlığı, akne şiddeti, diğer kronik hastalıkların varlığı ve devam eden tedavisinin yanı sıra yan etkilerin gelişimine bağlı olarak belirlenir. Bu yüzden günümüzde optimal günlük ve kümülatif izotretinon dozu hala tartışma konusudur. İzotretinoinin önerilen başlangıç dozu 4 haftaya kadar 0,5 mg/kg'dır. İlacın iyi toleransı ile 1.0 mg / kg'a çıkarılır. İlacın kümülatif dozu en az 110-120 mg/kg'dır ve bu oranlarda yaklaşık 5 aylık tedavi süresiyle elde edilir. Yan etki riskini azaltmak için B. Amichai ve ark. ilacı günlük 0,1-0,3 mg/kg'lık düşük dozlarda reçete etmeyi önermiştir.¹⁸¹ Ajanın bir diğer alternatif kullanımı ise 1 dozdan fazla kullanılmasıdır. İZO Karaciğerde metabolize edilerek, enterohepatik dolaşıma katılır, idrar ve feçesle atılır.

İZO ile tedaviye başlandığında doz tam ayarlanamadığı takdirde, baş ağrısı, kulak çınlaması, diplopi, mide bulantısı ve kusmanın eşlik ettiği kafa içi basınç artış gibi semptomlara neden olabilir. Semptomların şiddetli olması durumunda doz azaltılır ya da ilaç kullanımı kesilir. İzotretinoinin yukarıdaki semptomların yanı sıra böbreklere⁴, karaciğere¹⁸², yumurtalıklara¹⁸³ ve başka organlara toksik etkisi vardır. İZO'nun karaciğer toksisitesi sebebi tam olarak bilinmemektedir. Ancak son kanıtlar, oksidatif stres oluşumunun ve E vitamini tükenmesinin, İZO'nun neden olduğu karaciğer toksisitesini başlatan olaylardan bazıları olduğunu göstermektedir.¹⁸⁴ İZO'nun özellikle karaciğere yan etkilerinden ötürü İZO tedavisi alan kişiler belirli aralıklarla karaciğer enzim seviyeli özellikle ALT ve AST sevyeleri takip edilir. Bu takibin yanı sıra hem İZO'nun cilt üzerine koruyucu etkileri faydalanabilmek adına hemde yan etkilerini tolere edebilmek adına pekçok karaciğere faydalı molekül ve bitkisel ilaç çalışmaları devam etmektedir. Örneğin Munisa Daye ve arkadaşlarının sıçanlarda 3 aylık İZO 7.5 mg doz çalışmasında ALT, AST ve antioksidantlar arasında önemli farklılıklar belirlemişlerdir,

ancak herhangi bir koruyucu bir ilaç veya bitki kullanmamışlar. Bu çalışmaya göre İZO kullanım zamanı yan etkileri azaltabilmek için antioksidantların da eklenmesi tavsiye edilmiştir.¹⁸⁵ Başka bir çalışmada kimyon yağının İZO toksisite etkisine karşı etkili olduğu ve etkiyi tersine çevirdiği sonucuna varmıştır. Kimyon yağının antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklerinden dolayı koruyucu etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.⁷⁵ Bizim bu çalışmayı kurkuminden zengin zerdaçalı seçmememizdeki en önemli nedeni zerdaçal içeriğindeki antioksidan, vitamin ve anti-inflamatuar bileşiklerin çok olmasıdır. Bilhassa zerdaçalın içindeki ana etken madde olan kurkuminin serbest radikalleri elimine etme kapasitesi bizi bu çalışmayı yapmaya teşvik etmiştir.¹⁸⁶

Zencefil familyasından olan zerdeçal (*Curcuma longa*) kökleri, yaygın şekilde halk hekimliğinde tıbbi amaçlarla ve baharat pekçok amaçla kullanılmaktadır. Zerdeçal, Hint-Çin tıbbında, sindirim, cilt hastalıkları ve karaciğer bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır.¹⁸⁷ Kurkuminin farmakolojik etkileri arasında antioksidan, anti-inflamatuar ve nükleer faktör-κB (NF-κB) inhibe edici özellikleri vardır. Kurkumin, fenolik gruplarının elektron verici özelliklerinden dolayı sadece süperoksit ve hidroksil serbest radikallerini stabilize etmekle kalmaz, aynı zamanda antioksidan enzimlerinin ekspresyonunu da indükler.¹⁸⁸ Yüksek yağlı diyet zamanı hepatositlerde lipid depolamasını azalttığı, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hasarını en aza indirmeye katkıda bulunduğu gösterilmiştir.¹⁵⁸ Kurkuminin hipolipemik aktivitesine ilişkin ilk veriler Rao ve ark. kolesterol ve kurkumin ile beslenen sıçanların, karaciğerde sadece kolesterol ile beslenen sıçanlara göre daha düşük bir kolesterol içeriği sergilediğini gösterilmiştir.¹⁸⁹ Asai ve Miyazawa, 1.0 g kurkuminoids/100 g diyet ile takviye edilen erkek Sprague-Dawley sıçanlarının, herhangi bir kurkumin takviyesi verilmeyen kontrol sıçanlarına göre, karaciğerde triaçilgliserol ve kolesterol konsantrasyonlarını önemli

ölçüde daha düşük, hepatik açıl-CoA oksidaz aktivitesinin ise önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir.¹⁹⁰ Rukkumani ve ark, alkol kaynaklı ve yüksek yağlı diyetin, karaciğer hasarının erkek sıçan modelinde kurkumin ve sentetik analoglarının hepatoprotektif, hipolipemik etkilerini değerlendirdi.^{191 192} Her iki deneyde de kurkuminin karaciğerdeki histopatolojik değişiklikleri, karaciğer dokusu kolesterol, trigliseritler ve FFA'ları azalttığı gösterilmektedir. Jang ve ark. yaptığı çalışmada hamsterlerde yüksek yağlı bir diyetle kurkumin takviyesinin dolaşımdaki lipid ve hepatik lipid düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir.¹⁹³ Anlamlı bir şekilde, kurkuminin yağ asidi β -oksidasyon aktivitesini arttırdığını ve yağ asidi sentaz, 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA redüktaz ve açıl CoA kolesterol açıltransferaz gibi lipid anabolik enzimlerin aktivitesini azalttığını da göstermişlerdir. KZZ'nin diğer karaciğer toksisitesi modelleri üzerine koruyucu etki içermesi karaciğer dost bir molekül olması bize bu tez çalışmasında İZO'nun karaciğer toksisitesi üzerine KZZ'nin koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Karaciğer transaminazları aspartat transaminaz (AST veya SGOT) ve alanin transaminaz (ALT veya SGPT) hastada karaciğer hasarının en önemli biyobelirteçleridir.^{160, 161} ALT, daha çok karaciğere spesifik olmasının yanı sıra böbreklerde, kalpte ve kaslarda bulunur. ALT'nin referans aralığı kadınlarda 7-35, erkeklerde ise 10-40 aralığında değişir. AST, mitokondride ve sitoplazmada olmak üzere karaciğerden başka kalp, kas, böbrek, beyin, pankreas ve akciğerlerde de bulunmaktadır. AST karaciğer hasarının tam spesifik bir göstergesi değildir. Miyokard enfarktüsü, kronik karaciğer, böbrek hasarında AST artışı beklenen bir durumdur.¹⁵⁸ AST referans aralığı kadınlarda 15-42, erkeklerde ise 15-20 arasında değişiyor. İzotretinoin kullanımı karaciğer enzimlerinin (karaciğer aminotransferazları) artışına, serum seviyelerinde karaciğer

değişikliklerine yol açabilir.^{89, 194} Bu yüzden karaciğer fonksiyon testlerinden ALT ve AST, İZO kullanımında hastanın karaciğerinin durumu hakkında bilgi sağlar ve ona göre doz ayarlanır ya da ilaç kullanımı kesilir.¹⁵⁹

Yapılan çalışmamızda belirtildiği gibi akne tedavisi gören hastalarda İZO kullanımı zamanı karaciğer enzimlerini kontrol etmek ve tedavi protokolünde izlenmesi gerekmektedir. Çünkü İZO oksidatif yolla hepatosit hasarlanmaya yol açar, serum ALT, AST değerlerini artırır, oksidatif stresi ve inflamatuvar reaksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Vieira ve ark. İZO kullanan hastaların çoğunun aminotransferaz düzeyindeki artış olduğunu vurgulamışlardır.¹⁹⁵ Esas olarak ALT yükselmesinin normal üst sınırın iki katından fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Andreia ve arkadaşlarının İZO tedavisi alan hastalar üzerinde yapmış olduğu 3 aylık araştırmadan sonra ALT ve AST seviyyesinde önemli bir artış belirlenmiştir.¹⁹⁵ Bizim tez çalışmasında hayvanlar sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7.5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası ALT ve AST aktivitesinde istatistiksel olarak artış belirlenmiştir. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda da siçanlarda İZO ile oluşturulan karaciğer hasarında ALT, AST seviyesinde artış bizim çalışmamız ile paralel bir şekildedir.¹⁹⁶ İZO uygulamasıyla beraber yükselmiş ALT ve AST seviyesindeki yükselme KZZ 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda doz artışına paralel olarak her üç dozda özellikle 200 mg/kg istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu koruyucu etkinin sebebi olarak KZZ'nin içeriğinde barındırdığı vitamin, antioksidan ve diğer karaciğere dost antioksidan moleküllerden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Oksidatif stres, hücrel süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen moleküllerinin artması, moleküler oksijenin eksik indirgenmesi için peroksil radikallerinin üretimi ile sonuçlanır. Bu radikaller eksojen ajanlar tarafından geliştirilebilir. Oksidatif stres membran lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına, mutajeneze ve hücre ölümüne neden olur. Daha önceki yapılan çalışmalarda da İZO ile oluşturulan karaciğer hasarı modelinde oksidan ve antioksidan sistem arasındaki dengeyi bozularak serbest radikallerin oluşumunun artırdığı ifade edilmiştir. İZO kullanımına bağlı oksidatif strese karaciğer dokusunda reaktif nitrojen türleri, reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonu olduğu belirtilmiştir.¹⁹⁷ Hidroksil radikali başta olmakla diğer radikaller de lipid peroksidasyonunu başlatabilirler ve doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarlar, bunun sonucunda ise hücrel hasar oluşmaktadır.^{198, 199}

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eder. Süperoksit dismutaz (SOD), oksidatif strese ve süperoksit radikallerine karşı ilk savunmayı oluşturan enzimidir.²⁰⁰ Bu nedenle oksijene maruz kalan çoğu hücrede önemli bir antioksidan savunmadır. Yapılan çalışmalarda İZO-nun 3 aylık kullanımı SOD enziminin önemli derecede azalması belirlenmiştir.²⁰⁰ Benzer şekilde Said ve arkadaşları Albino-Wistar sıçanları üzerine 28 gün boyunca yapmış olduğu çalışmada İZO ile beraber selenyum uygulamışlardır. Selenyum tedavisi alan İZO grubunda SOD enzimi aktivitesinin önemli artışları gözükmiştir.⁵ Bizim tez çalışmamız ise İZO ile 30 günlük 7,5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası SOD aktivitesinde istatistiksel olarak azalma belirlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubu ile ayçiçek grubunu karşılaştırıldığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Daha önce çalışmalara paralel bir şekilde İZO grubunda azalmış olan SOD aktivitesi kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz

artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek SOD aktivitesinde artış belirlenmiştir. SOD üzerine bu koruyucu etkinin sebebi olarak KZZ'nin içeriğinde barındırdığı antioksidan moleküllerin İZO ile aktivitesini kaybetmiş SOD enzimi üzerine modölatör etki gösterdiğini düşünüyoruz.

Antioksidan savunma sistemi için iyi bilinen bir diğer önemli parametre GSH'dır. GSH ve onun rejenerasyonu ile ilgili enzimler, hücre içi indirgeme ortamını koruyan ve aşırı zararlı ROS oluşumuna karşı birincil savunma görevi gören önemli bir tripeptittir. Antioksidan aktivitesine ek olarak, GSH, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, redoks tarafından düzenlenen sinyal iletiminin modülasyonu, hücre proliferasyonunun düzenlenmesi ve bağışıklık tepkileri ²⁰¹ dahil olmak üzere birçok fizyolojik fonksiyona sahiptir. GSH eksikliği çeşitli patolojik durumlarda anahtar rol oynayan oksidatif strese katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir.²⁰² İzotretinoin tedavisinden sonra artan oksidatif strese GSH seviyesinin azalması daha önceki bazı çalışmalara da uyumludur. Örneğin Vieira ve ark. 14 gün boyunca antioksidant etki gösteren resveratrol ve İZO ile çalışmışlardır. Bu çalışmada da İZO verilen grupta antioksidant aktivitelerinde GSH düzeyinde azalma, resveratrol verilen grup ise aksine artışa neden olmuştur.¹⁹⁵ Yapılan tez çalışmamızda sağlıklı kontrol grubuna göre İZO ile 30 günlük 7,5 mg/kg oral kronik uygulama sonrası GSH aktivitesinde önceki literatüre uygun olarak istatistiksel olarak azalma belirlenmiştir. İZO grubunda azalmış olan GSH aktivitesi kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 100 ve 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek GSH aktivitesinde artış belirlenmiştir. GSH üzerine bu koruyucu etkinin sebebi olarak KZZ'nin içeriğinde barındırdığı antioksidan moleküllerin İZO ile azalmış GSH seviyesini ve GSH rejenerasyonu artırmak suretiyle etki gösterdiğini düşünüyoruz.

MDA- $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ nominal formülüne sahip organik bileşiktir. Renksiz bir sıvı olan malondialdehit, enol olarak oluşan reaktif bir bileşiktir.²⁰³ Doğal olarak oluşur ve oksidatif stres için özellikle lipid peroksidasyonu için önemli bir belirteçtir. Malondialdehit birçok doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonundan kaynaklanır. İZO kullanımı ile oluşan oksidatif stres MDA seviyesinde de artışa neden olduğu literatürde sıklıkla bahsedilmektedir. Kumaş ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada İZO ile oluşan hasarda MDA seviyesinin artmış olduğu ve silmarin adlı antioksidan molekül tarafından koruyucu etki göstererek MDA seviyesini azlattığı belirlenmiştir.⁴ Bizim tez çalışmamızda diğer çalışmalara paralel şekilde sağlıklı kontrol grubuna göre İZO verilen grubun MDA seviyesini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. Sağlıklı kontrol grupumuz ile ayçiçek yağı grupumuzu karşılaştırıldığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü. İZO grubunda artmış olan MDA aktivitesi Kurkumin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde doz artışına paralel olarak her üç doz özellikle 200 mg/kg olan dozda en yüksek koruyucu etki göstererek MDA aktivitesinde azalma belirlenmiştir. MDA seviyesindeki bu azalmanın sebebi olarak KZZ'nin içeriğinde barındırdığı antioksidan moleküllerden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Özet olarak çalışmamızda kurkuminle zengin zerdeçal eksterisi SOD aktivitesini ve GSH seviyelerini artırarak, MDA seviyelerini azaltarak İZO ile oluşan karaciğer hasarına karşı önlediğini düşünüyoruz. Bu çalışmada ile karaciğer enzimleri ve oksidatif parametreler kurkuminin İZO kaynaklı karaciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkilerine işaret etmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Akne vulgaris, kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve dünya çapında en yaygın dermatolojik durumlar arasındadır. Bu hastalığın giderilmesinde en etkili ilaç izotretinoindir. Yan etkileri nedeniyle bu ilaç son tercih olarak ancak uzman doktor tarafından reçete ile kullanılabilir. İZO'nun yan etkilerinin fazla olması nedeniyle kullanımında dikkat edilmesi gerekmektedir. Yan etkileri kontrol altında tutulmalı, ya da ilaç kullanımı durdurulmalıdır.

Eski bir Hint bitkisi olan Kurkumin (Zerdeçal), kistik fibroz, hemoroid, mide ülseri, kolon kanseri, meme kanseri, ateroskleroz dahil olmak üzere karaciğer, artrit hastalıkları çeşitli tıbbi durumların tedavisi için modern tıpta ve Hint tıp sistemlerinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Diğer pek çok bitkisel ilaçlar gibi, insanlar zerdaçalı önce gıda olarak kullanmışlardır, ancak daha sonra etkileyici tıbbi özelliklere sahip olduğu keşfedilmiştir. Bu çalışma ile İZO kaynaklı karaciğer hasarında KZZ'nin karaciğer fonksiyon enzimlerini iyileştirdiğini ve oluşan oksidatif stres kaynaklı serbest radikallerin oluşumunun inhibisyonu ile gösterilen güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu da kanıtlanmıştır.

Bu çalışmamız İZO ile indüklenen karaciğer hasarının sıçan karaciğer enzimleri, antioksidan dengesi üzerine etkisi kurkuminle zengin zerdeçal ekstresinin koruyucu rolünü ALT, AST enzimleri ile SOD enzim aktivitesi GSH ve MDA seviyesindeki değişiklikler aracılığıyla etki ettiği tespit edilmiştir. İZO ile ortaya çıkan karaciğer hasarında bilhassa 200 mg/kg dozunda istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

İZO'nun karaciğer toksisitesine karşı kurkumin tedavisi, serbest radikallerin temizlenmesi ve antioksidan aktivite artışıyla karaciğer hücre hasarını engeleyerek katkı

sağladığı gösterilmiştir. Kurkumin, fenolik gruplarının elektron verici özelliklerinden dolayı sadece süperoksit ve hidroksil serbest radikallerini stabilize etmekle kalmaz, aynı zamanda antioksidan enzimlerinin ekspresyonunu da indükler. Akne hastalarının İZO kullanımı zamanı karaciğere verdiği yan etki nedeniyle kurkuminle zengin zerdeçal eksterisinin tedavi ilaç gibi kullanılması tavsiye edilebilir.

Bizim tez çalışmasına paralel olarak yeni molekül veya bitkisel katkı maddeleriyle çalışmaların yapılması, aynı zamanda yeni tespit edilecek ilaçların etki mekanizmasının da belirlenmesi son derece önemlidir.

Yaptığımız deneysel hayvan modelinde doğrudan klinik uygulama yapmış olmasakta, çalışmamızın sonuçlarının gelecek için bu konuya ışık tutmasını ümitle bekliyoruz. Literatür taramasında kurkuminin farklı modellerde, farklı çalışmalarda görsek de bu çalışmamızla ilk defa kurkuminin İZO ile indüklenen karaciğer hasarı modelinde koruyucu etkisini literatüre biyokimyasal mekanizma açısından kazandırmış oldu. Bu ve bunun gibi bitki çalışmalarının bilhassa potansiyeli çok yüksek olan KZZ eksenli bitkisel tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde ve ilaç dünyasında insanlığın faydasına sunulabilir.

KAYNAKLAR

1. Aslam I, Fleischer A, Feldman S. Emerging drugs for the treatment of acne. *Expert opinion on emerging drugs*, 2015, 20: 91-101.
2. Полеско И, Осипов Г, Кабаева Т. Микроэкология организма человека при себорее и акне. *Детские инфекции*, 2006, 5: 26-33.
3. Mitchell BL, Saklatvala JR, Dand N, Hagenbeek FA, Li X, Min JL, Thomas L, Bartels M, Jan Hottenga J, Lupton MK. Genome-wide association meta-analysis identifies 29 new acne susceptibility loci. *Nature communications*, 2022, 13: 1-9.
4. Kumaş M, Eşrefoğlu M, Güler EM. Protective effects of silymarin against isotretinoin induced liver and kidney injury in mice. 2018.
5. Saied NM, Hamza AA. Selenium ameliorates isotretinoin-induced liver injury and dyslipidemia via antioxidant effect in rats. *Toxicology mechanisms and methods*, 2014, 24: 433-437.
6. Černý D, Lekić N, Váňová K, Muchová L, Hořínek A, Kmoníčková E, Zídek Z, Kameníková L, Farghali H. Hepatoprotective effect of curcumin in lipopolysaccharide/-galactosamine model of liver injury in rats: relationship to HO-1/CO antioxidant system. *Fitoterapia*, 2011, 82: 786-791.
7. Buzoğlu, H. Hakan Buzoğlu Akne Nasıl Gelişir. <https://www.hakanbuzoglu.com/akne-nasil-gelismektedir-aknenin-atyolojisi> 29.08.2022.
8. Суворова К, Котова Н. Юношеские акне—клиника, патогенез, лечение. *Российский журнал кожных и венерических болезней*, 1999: 67-72.

9. Fritsch M, Orfanos CE, Zouboulis CC. Sebocytes are the key regulators of androgen homeostasis in human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 2001, 116: 793-800.
10. Кубанова АА, Блатун Л. *Рациональная фармакотерапия заболеваний кожи и инфекций, передающихся половым путем*. БаскІ. Изд-во Литтерра, 2005.
11. Grant R. The history of acne. 1951.
12. Mahmood N, Shipman A. The age-old problem of acne. *International journal of women's dermatology*, 2017, 3: 71-76.
13. Zouboulis CC, Katsambas AD, Kligman AM. *Pathogenesis and treatment of acne and rosacea*. БаскІ. Springer, 2014.
14. Ak M. A comprehensive review of acne vulgaris. *J. Clin. Pharm*, 2019, 1: 17-45.
15. Goodman GJ. Postacne scarring: a review of its pathophysiology and treatment. *Dermatologic surgery*, 2000, 26: 857-871.
16. Fabbrocini G, Annunziata M, D'arco V, De Vita V, Lodi G, Mauriello M, Pastore F, Monfrecola G. Acne scars: pathogenesis, classification and treatment. *Dermatology research and practice*, 2010, 2010.
17. Layton A, Henderson C, Cunliffe W. A clinical evaluation of acne scarring and its incidence. *Clinical and experimental dermatology*, 1994, 19: 303-308.
18. Holland D, Jeremy A, Roberts S, Seukeran D, Layton A, Cunliffe W. Inflammation in acne scarring: a comparison of the responses in lesions from patients prone and not prone to scar. *British Journal of Dermatology*, 2004, 150: 72-81.
19. Fife D. Practical evaluation and management of atrophic acne scars: tips for the general dermatologist. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 2011, 4: 50.

20. Tasoula E, Gregoriou S, Chalikias J, Lazarou D, Danopoulou I, Katsambas A, Rigopoulos D. The impact of acne vulgaris on quality of life and psychic health in young adolescents in Greece: results of a population survey. *Anais brasileiros de dermatologia*, 2012, 87: 862-869.
21. Goulden V, Stables G, Cunliffe W. Prevalence of facial acne in adults. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1999, 41: 577-580.
22. Zouboulis C, Eady A, Philpott M, Goldsmith L, Orfanos C, Cunliffe W, Rosenfield R. What is the pathogenesis of acne? *Experimental dermatology*, 2005, 14: 143-143.
23. Zouboulis C, Jourdan E, Picardo M. Acne is an inflammatory disease and alterations of sebum composition initiate acne lesions. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2014, 28: 527-532.
24. Norris J, Cunliffe W. A histological and immunocytochemical study of early acne lesions. *British Journal of Dermatology*, 1988, 118: 651-659.
25. Bergler-Czop B. The aetiopathogenesis of acne vulgaris—what's new? *International journal of cosmetic science*, 2014, 36: 187-194.
26. Webster GF. The pathophysiology of acne. *Cutis*, 2005, 76: 4-7.
27. David M, Hodak E, Lowe NJ. Adverse effects of retinoids. *Medical toxicology and adverse drug experience*, 1988, 3: 273-288.
28. George R, Clarke S, Thiboutot D In *Hormonal therapy for acne*, Seminars in cutaneous medicine and surgery, (editör).^(editörler). WB Saunders: 2008; 188-196.
29. Schmid-Wendtner M-H, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin pharmacology and physiology*, 2006, 19: 296-302.

30. Arora MK, Seth S, Dayal S. The relationship of lipid profile and menstrual cycle with acne vulgaris. *Clinical biochemistry*, 2010, 43: 1415-1420.
31. Bowe WP, Shalita AR. Effective over-the-counter acne treatments. , 27, 3, 2008, 27: 170-176.
32. Gollnick HP, Krautheim A. Topical treatment in acne: current status and future aspects. *Dermatology*, 2003, 206: 29-36.
33. Shaw L, Kennedy C. The treatment of acne. *Paediatrics and Child Health*, 2007, 17: 385-389.
34. Feldman S, Careccia RE, Barham KL, Hancox JG. Diagnosis and treatment of acne. *American Family Physician*, 2004, 69: 2123-2130.
35. Krautheim A, Gollnick H. Transdermal penetration of topical drugs used in the treatment of acne. *Clinical pharmacokinetics*, 2003, 42: 1287-1304.
36. Akhavan A, Bershad S. Topical acne drugs. *American journal of clinical dermatology*, 2003, 4: 473-492.
37. Tanghetti E. The evolution of benzoyl peroxide therapy. *Cutis*, 2008, 82: 5-11.
38. Paller AS, Tom WL, Lebwohl MG, Blumenthal RL, Boguniewicz M, Call RS, Eichenfield LF, Forsha DW, Rees WC, Simpson EL. Efficacy and safety of crisaborole ointment, a novel, nonsteroidal phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitor for the topical treatment of atopic dermatitis (AD) in children and adults. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2016, 75: 494-503. e496.
39. Zaenglein AL, Pathy AL, Schlosser BJ, Alikhan A, Baldwin HE, Berson DS, Bowe WP, Graber EM, Harper JC, Kang S. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2016, 74: 945-973. e933.

40. Cenk H. Sistemik isotretinoin kullanan akne hastalarında kontakt dermatit gelişim riski. 2017.
41. Shemer A, Weiss G, Amichai B, Kaplan B, Trau H. Azelaic acid (20%) cream in the treatment of acne vulgaris. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2002, 16: 178-179.
42. Draelos Z, Kayne A In *Implications of azelaic acid's multiple mechanisms of action: Therapeutic versatility*, Journal of the American Academy of Dermatology, (editör).[^](editörler). MOSBY-ELSEVIER 360 PARK AVENUE SOUTH, NEW YORK, NY 10010-1710 USA: 2008; AB40-AB40.
43. Webster GF, Poyner T, Cunliffe B. Clinical review Acne vulgaris Commentary: A UK primary care perspective on treating acne. *Bmj*, 2002, 325: 475-479.
44. Gollnick H. Current concepts of the pathogenesis of acne. *Drugs*, 2003, 63: 1579-1596.
45. Zaenglein AL. Topical retinoids in the treatment of acne vulgaris. , 27, 3, 2008, 27: 177-182.
46. Bershad SV. The modern age of acne therapy: a review of current treatment options. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 2001, 68: 279-286.
47. Katsambas A, Papakonstantinou A. Acne: systemic treatment. *Clinics in dermatology*, 2004, 22: 412-418.
48. Ebede TL, Arch EL, Berson D. Hormonal treatment of acne in women. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 2009, 2: 16.
49. Zouboulis CC, Piquero-Martin J. Update and future of systemic acne treatment. *Dermatology*, 2003, 206: 37-53.

50. Lavers I. Diagnosis and management of acne vulgaris. *Nurse prescribing*, 2014, 12: 330-336.
51. Kim RH, Armstrong AW. Current state of acne treatment: highlighting lasers, photodynamic therapy, and chemical peels. *Dermatology online journal*, 2011, 17.
52. Wise EM, Graber EM. Clinical pearl: comedone extraction for persistent macrocomedones while on isotretinoin therapy. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2011, 4: 20-21.
53. Steventon K. Expert opinion and review article: The timing of comedone extraction in the treatment of premenstrual acne--a proposed therapeutic approach. *Int J Cosmet Sci*, 2011, 33: 99-104.
54. Sharma VK, Khandpur S. Guidelines for cryotherapy. *Indian Journal of Dermatology, Venereology & Leprology*, 2009, 75.
55. Thomson K, Goulden V, Sheehan-Dare R, Cunliffe W. Light cautery of macrocomedones under general anaesthesia. *The British journal of dermatology*, 1999, 141: 595-596.
56. Levy LL, Zeichner JA. Management of acne scarring, part II. *American journal of clinical dermatology*, 2012, 13: 331-340.
57. Khalil S, Bardawil T, Stephan C, Darwiche N, Abbas O, Kibbi AG, Nemer G, Kurban M. Retinoids: a journey from the molecular structures and mechanisms of action to clinical uses in dermatology and adverse effects. *Journal of Dermatological Treatment*, 2017, 28: 684-696.
58. Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G. Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clinical interventions in aging*, 2006, 1: 327.

59. Wiegand U-W, Chou RC. Pharmacokinetics of acitretin and etretinate. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1998, 39: S25-S33.

60.

[https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB6222631_EN.ht](https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB6222631_EN.htm)

[m](#)

61. Strauss JS, Krowchuk DP, Leyden JJ, Lucky AW, Shalita AR, Siegfried EC, Thiboutot DM, Van Voorhees AS, Beutner KA, Sieck CK. Guidelines of care for acne vulgaris management. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2007, 56: 651-663.

62. Check DVB. Clinical use.

63. Fogh K, Voorhees JJ, Astrom A. Expression, purification, and binding properties of human cellular retinoic acid-binding protein type I and type II. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1993, 300: 751-755.

64. Nelson AM, Gilliland KL, Cong Z, Thiboutot DM. 13-cis Retinoic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in human SEB-1 sebocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 2006, 126: 2178-2189.

65. Ott F, Bollag W, Geiger J-M. Oral 9-cis-retinoic acid versus 13-cis-retinoic acid in acne therapy. *Dermatology*, 1996, 193: 124-126.

66. Prevost N, English III JC. Isotretinoin: update on controversial issues. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 2013, 26: 290-293.

67. Green J. Babies, blemishes and FDA: A history of Accutane regulation in the United States. 2002.

68. Noah L. Too High a Price for Some Drugs: The FDA Burdens Reproductive Choice. *San Diego L. Rev.*, 2007, 44: 231.
69. Dispenza MC, Wolpert EB, Gilliland KL, Dai JP, Cong Z, Nelson AM, Thiboutot DM. Systemic isotretinoin therapy normalizes exaggerated TLR-2-mediated innate immune responses in acne patients. *Journal of Investigative Dermatology*, 2012, 132: 2198-2205.
70. Melnik B. The role of transcription factor FoxO1 in the pathogenesis of acne vulgaris and the mode of isotretinoin action. *Giornale italiano di dermatologia e venereologia: organo ufficiale, Societa italiana di dermatologia e sifilografia*, 2010, 145: 559-571.
71. Karadag A, Ertugrul D, Bilgili S, Takci Z, Akin K, Calka O. Immunoregulatory effects of isotretinoin in patients with acne. *British Journal of Dermatology*, 2012, 167: 433-435.
72. Mollan SP, Woodcock M, Siddiqi R, Huntbach J, Good P, Scott RA. Does use of isotretinoin rule out a career in flying? *British journal of ophthalmology*, 2006, 90: 957-959.
73. Papakonstantinou E, Aletras AJ, Glass E, Tsogas P, Dionyssopoulos A, Adjaye J, Fimmel S, Gouvousis P, Herwig R, Lehrach H. Matrix metalloproteinases of epithelial origin in facial sebum of patients with acne and their regulation by isotretinoin. *Journal of investigative dermatology*, 2005, 125: 673-684.
74. Karadag AS, Ertugrul DT, Tural E, Akin KO. Isotretinoin influences pituitary hormone levels in acne patients. *Acta dermato-venereologica*, 2011, 91: 31-34.
75. Tawfiq P, Sharef TY, Ali KA, Salih LS. Effect of Isotretinoin on Rat's Liver and Aptness of Cumin Oil in Protection. *Diyala Journal of Medicine*, 2020, 18: 32-43.

76. DiGiovanna JJ. Isotretinoin effects on bone. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2001, 45: S176-S182.
77. Medicines, Agency HPR. Drug safety update: Latest advice for medicine users. 2010.
78. Annex I. Marketing Authorisation (s). *Cardiol*, 1990, 66: 679-682.
79. Farcaş A, Măhălean A, Bulik NB, Leucuta D, Mogoşan C. New safety signals assessed by the Pharmacovigilance Risk Assessment Committee at EU level in 2014–2017. *Expert review of clinical pharmacology*, 2018, 11: 1045-1051.
80. Brelsford M, Beute TC. Preventing and managing the side effects of isotretinoin. , 27, 3, 2008, 27: 197-206.
81. Scheinfeld N, Bangalore S. Facial edema induced by isotretinoin use: a case and a review of the side effects of isotretinoin. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 2006, 5: 467-468.
82. van der Hooft CS, Heeringa J, van Herpen G, Kors JA, Kingma JH, Stricker BHC. Drug-induced atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 44: 2117-2124.
83. Bremner JD, Shearer KD, McCaffery PJ. Retinoic acid and affective disorders: the evidence for an association. *The Journal of clinical psychiatry*, 2011, 72: 18228.
84. Kontaxakis VP, Skourides D, Ferentinos P, Havaki-Kontaxaki BJ, Papadimitriou GN. Isotretinoin and psychopathology: a review. *Annals of General Psychiatry*, 2009, 8: 1-8.
85. Borovaya A, Olisova O, Ruzicka T, Sárdy M. Does isotretinoin therapy of acne cure or cause depression? *International journal of dermatology*, 2013, 52: 1040-1052.

86. Goodfield M, Cox N, Bowser A, McMillan J, Millard L, Simpson N, Ormerod A. Advice on the safe introduction and continued use of isotretinoin in acne in the UK 2010. *British journal of dermatology*, 2010, 162: 1172-1179.
87. Crockett SD, Porter CQ, Martin CF, Sandler RS, Kappelman MD. Isotretinoin use and the risk of Inflammatory Bowel Disease: A case control study. *The American journal of gastroenterology*, 2010, 105: 1986.
88. Lowenstein EB, Lowenstein EJ. Isotretinoin systemic therapy and the shadow cast upon dermatology's downtrodden hero. *Clinics in Dermatology*, 2011, 29: 652-661.
89. Bozkurt B, Irkeç M, Atakan N, Orhan M, Geyik P. Lacrimal function and ocular complications in patients treated with systemic isotretinoin. *European journal of ophthalmology*, 2002, 12: 173-176.
90. Zane LT, Leyden WA, Marqueling AL, Manos MM. A population-based analysis of laboratory abnormalities during isotretinoin therapy for acne vulgaris. *Archives of dermatology*, 2006, 142: 1016-1022.
91. Aktas H, Ertugrul G, Parlak M, Unal M. Long-term isotretinoin use does not cause parenchymal liver change: Ultrasonographic study in 50 patients. *Dermatologic Therapy*, 2019, 32: e13012.
92. Mahadevan SB, McKiernan PJ, Davies P, Kelly DA. Paracetamol induced hepatotoxicity. *Archives of disease in childhood*, 2006, 91: 598-603.
93. Metushi I, Cai P, Zhu X, Nakagawa T, Uetrecht J. A fresh look at the mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2011, 89: 911-914.

94. Upadhyay G, Kumar A, Singh MP. Effect of silymarin on pyrogallol-and rifampicin-induced hepatotoxicity in mouse. *European journal of pharmacology*, 2007, 565: 190-201.
95. Varol FI, Selimoglu MA, Karadag N, Gungor S. Isotretinoin Hepatotoxicity or Isotretinoin Induced Autoimmune Hepatitis? *Indian Journal of Paediatric Dermatology*, 2021, 22: 70.
96. Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 2003, 9: 161-168.
97. Tayyem RF, Heath DD, Al-Delaimy WK, Rock CL. Curcumin content of turmeric and curry powders. *Nutr Cancer*, 2006, 55: 126-131.
98. Wang Y-J, Pan M-H, Cheng A-L, Lin L-I, Ho Y-S, Hsieh C-Y, Lin J-K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 1997, 15: 1867-1876.
99. Nabavi SF, Daglia M, Moghaddam AH, Habtemariam S, Nabavi SM. Curcumin and liver disease: from chemistry to medicine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13: 62-77.
100. Mukherjee PK, Wahile A. Integrated approaches towards drug development from Ayurveda and other Indian system of medicines. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 103: 25-35.
101. Banik U, Parasuraman S, Adhikary AK, Othman NH. Curcumin: The spicy modulator of breast carcinogenesis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2017, 36: 1-16.

102. Toda S, Miyase T, Arichi H, Tanizawa H, Takino Y. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chem Pharm Bull* 33, 1985: 1725-1728.
103. Osawa T, Sugiyama Y, Inayoshi M, Kawakishi S. Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1995, 59: 1609-1612.
104. Carvalho Henriques M, Faustino MAF, Santos Braga S. Curcumin innovative delivery forms: Paving the ‘Yellow Brick Road’ of antitumoral phytotherapy. *Applied Sciences*, 2020, 10: 8990.
105. Prasad S, Aggarwal BB. Turmeric, the golden spice. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd edition, 2011.
106. Govindarajan V, Connell D. Ginger—chemistry, technology, and quality evaluation: part 1. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1983, 17: 1-96.
107. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 2007: 105-125.
108. Wilken R, Veena MS, Wang MB, Srivatsan ES. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular cancer*, 2011, 10: 1-19.
109. Kita T, Imai S, Sawada H, Kumagai H, Seto H. The biosynthetic pathway of curcuminoid in turmeric (*Curcuma longa*) as revealed by ¹³C-labeled precursors. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 2008, 72: 1789-1798.
110. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 2007: 1-75.

111. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 2014, 19: 20091-20112.
112. Carvalho DdM, Takeuchi KP, Geraldine RM, Moura CJd, Torres MCL. Production, solubility and antioxidant activity of curcumin nanosuspension. *Food Science and Technology*, 2015, 35: 115-119.
113. Chavda H, Patel C, Anand I. Biopharmaceutics classification system. *Systematic reviews in pharmacy*, 2010, 1: 62.
114. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti F, Torti S. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and molecular life sciences*, 2008, 65: 1631-1652.
115. Bernabé-Pineda M, Ramírez-Silva MaT, Romero-Romo M, González-Vergara E, Rojas-Hernández A. Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2004, 60: 1091-1097.
116. Holt PR, Katz S, Kirshoff R. Curcumin therapy in inflammatory bowel disease: a pilot study. *Digestive diseases and sciences*, 2005, 50: 2191-2193.
117. Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin: getting back to the roots. *Annals of the New York Academy of sciences*, 2005, 1056: 206-217.
118. Subramanian M, Devasagayam TP, Singh B. Diminution of singlet oxygen-induced DNA damage by curcumin and related antioxidants. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1994, 311: 249-255.
119. Iqbal M, Sharma SD, Okazaki Y, Fujisawa M, Okada S. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology & toxicology*, 2003, 92: 33-38.

120. Kuo M-L, Huang T-S, Lin J-K. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1996, 1317: 95-100.
121. Rao M. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1994, 46: 1013-1016.
122. Busquets SI, Carbó N, Almendro V, Quiles MaT, López-Soriano FJ, Argilés JM. Curcumin, a natural product present in turmeric, decreases tumor growth but does not behave as an anticachectic compound in a rat model. *Cancer letters*, 2001, 167: 33-38.
123. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer letters*, 2005, 223: 181-190.
124. Garcea G, Berry DP, Jones DJ, Singh R, Dennison AR, Farmer PB, Sharma RA, Steward WP, Gescher AJ. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 2005, 14: 120-125.
125. Leu T-H, Maa M-C. The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 2002, 2: 357-370.
126. Kim MK, Park JC, Chong Y. Aromatic hydroxyl group plays a critical role in antibacterial activity of the curcumin analogues. *Natural product communications*, 2012, 7: 1934578X1200700120.
127. Zheng B, McClements DJ. Formulation of more efficacious curcumin delivery systems using colloid science: enhanced solubility, stability, and bioavailability. *Molecules*, 2020, 25: 2791.

128. Pan M-H, Huang T-M, Lin J-K. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug metabolism and disposition*, 1999, 27: 486-494.
129. Holder GM, Plummer JL, Ryan AJ. The metabolism and excretion of curcumin (1, 7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3, 5-dione) in the rat. *Xenobiotica*, 1978, 8: 761-768.
130. Khopde SM, Priyadarsini KI, Guha SN, Satav JG, Venkatesan P, RAO MNA. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by tetrahydrocurcumin: possible mechanisms by pulse radiolysis. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 2000, 64: 503-509.
131. Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T. Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. *The Journal of nutrition*, 2001, 131: 2090-2095.
132. Lai CS, Wu JC, Yu SF, Badmaev V, Nagabhushanam K, Ho CT, Pan MH. Tetrahydrocurcumin is more effective than curcumin in preventing azoxymethane-induced colon carcinogenesis. *Molecular nutrition & food research*, 2011, 55: 1819-1828.
133. Ireson C, Orr S, Jones DJ, Verschoye R, Lim C-K, Luo J-L, Howells L, Plummer S, Jukes R, Williams M. Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. *Cancer research*, 2001, 61: 1058-1064.
134. Chen C-Y, Yang W-L, Kuo S-Y. Cytotoxic activity and cell cycle analysis of hexahydrocurcumin on SW 480 human colorectal cancer cells. *Natural Product Communications*, 2011, 6: 1934578X1100601126.

135. Pan M-H, Lin-Shiau S-Y, Lin J-K. Comparative studies on the suppression of nitric oxide synthase by curcumin and its hydrogenated metabolites through down-regulation of I κ B kinase and NF κ B activation in macrophages. *Biochemical pharmacology*, 2000, 60: 1665-1676.
136. Somparn P, Phisalaphong C, Nakornchai S, Unchern S, Morales NP. Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, 30: 74-78.
137. Pal A, Sung B, Prasad BAB, Schuber Jr PT, Prasad S, Aggarwal BB, Bornmann WG. Curcumin glucuronides: assessing the proliferative activity against human cell lines. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2014, 22: 435-439.
138. Antoine F, Simard J-C, Girard D. Curcumin inhibits agent-induced human neutrophil functions in vitro and lipopolysaccharide-induced neutrophilic infiltration in vivo. *International Immunopharmacology*, 2013, 17: 1101-1107.
139. Perrone D, Ardito F, Giannatempo G, Dioguardi M, Troiano G, Lo Russo L, De Lillo A, Laino L, Lo Muzio L. Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Experimental and therapeutic medicine*, 2015, 10: 1615-1623.
140. Satoskar R, Shah S, Shenoy S. Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloyl methane) in patients with postoperative inflammation. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology*, 1986, 24: 651-654.
141. Siviero A, Gallo E, Maggini V, Gori L, Mugelli A, Firenzuoli F, Vannacci A. Curcumin, a golden spice with a low bioavailability. *Journal of Herbal Medicine*, 2015, 5: 57-70.

142. Chandran B, Goel A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phytotherapy research*, 2012, 26: 1719-1725.
143. Heng M, Song M, Harker J, Heng M. Drug-induced suppression of phosphorylase kinase activity correlates with resolution of psoriasis as assessed by clinical, histological and immunohistochemical parameters. *British Journal of Dermatology*, 2000, 143: 937-949.
144. Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Morris-Natschke SL, Lee K-H. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine*, 2008, 3: 1-13.
145. Pulla Reddy AC, Lokesh B. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Molecular and cellular biochemistry*, 1992, 111: 117-124.
146. Balamurugan A, Akhov L, Selvaraj G, Pugazhenth S. Induction of antioxidant enzymes by curcumin and its analogues in human islets: implications in transplantation. *Pancreas*, 2009, 38: 454-460.
147. Chuengsamarn S, Rattanamongkolgul S, Luechapudiporn R, Phisalaphong C, Jirawatnotai S. Curcumin extract for prevention of type 2 diabetes. *Diabetes care*, 2012, 35: 2121-2127.
148. Hatcher HC, Torti FM, Torti SV. Curcumin, oxidative stress, and cancer therapy. İçinde: *Oxidative stress in cancer biology and therapy*, Springer, 2012: 233-256.
149. Vera-Ramirez L, Pérez-Lopez P, Varela-Lopez A, Ramirez-Tortosa M, Battino M, Quiles JL. Curcumin and liver disease. *Biofactors*, 2013, 39: 88-100.
150. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology*, 2006, 44: 521-526.

151. Ghosh N, Ghosh R, Mandal V, Mandal SC. Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharmaceutical biology*, 2011, 49: 970-988.
152. PARK EJ, Jeon CH, Ko G, Kim J, Sohn DH. Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2000, 52: 437-440.
153. Naik SR, Thakare VN, Patil SR. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2011, 63: 419-431.
154. Rong S, Zhao Y, Bao W, Xiao X, Wang D, Nussler AK, Yan H, Yao P, Liu L. Curcumin prevents chronic alcohol-induced liver disease involving decreasing ROS generation and enhancing antioxidative capacity. *Phytomedicine*, 2012, 19: 545-550.
155. Eybl V, Kotyzova D, Koutensky J. Comparative study of natural antioxidants—curcumin, resveratrol and melatonin—in cadmium-induced oxidative damage in mice. *Toxicology*, 2006, 225: 150-156.
156. Girish C, Koner BC, Jayanthi S, Ramachandra Rao K, Rajesh B, Pradhan SC. Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. *Fundamental & clinical pharmacology*, 2009, 23: 735-745.
157. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 3246-3261.
158. S Darvesh A, B Aggarwal B, Bishayee A. Curcumin and liver cancer: a review. *Current pharmaceutical biotechnology*, 2012, 13: 218-228.

159. Lee M. *Basic skills in interpreting laboratory data*. Baskı. ASHP, 2009.
160. Mengel MB, Schwiebert LP. *Family medicine: ambulatory care & prevention*. Baskı. McGraw-Hill, 1996.
161. Preetha S. Estimation of liver function test in hypertension patients. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2016, 8: 869.
162. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG clinical guideline: evaluation of abnormal liver chemistries. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 2017, 112: 18-35.
163. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Avinash AK, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests. *The Pan african medical journal*, 2009, 3.
164. Lala V, Goyal A, Minter DA. Liver Function Tests. İçinde: *StatPearls*, Treasure Island (FL), StatPearls Publishing
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC., 2022.
165. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests. *The Pan african medical journal*, 2009, 3.
166. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, Rowlands CC. Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *Journal of Applied Physiology*, 1999, 87: 2032-2036.
167. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews*, 1979, 59: 527-605.
168. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, 1969, 244: 6049-6055.
169. Hayyan M, Hashim MA, AlNashef IM. Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chem Rev*, 2016, 116: 3029-3085.

170. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*, 1969, 244: 6049-6055.
171. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2013, 1830: 3289-3303.
172. Ookhtens M, Kaplowitz N In *Role of the liver in interorgan homeostasis of glutathione and cyst (e) ine*, Seminars in liver disease, (editör).^(editörler). © 1998 by Thieme Medical Publishers, Inc.: 1998; 313-329.
173. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:Glutathione-skeletal.svg>
174. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium’s health. *International journal of food science & technology*, 2001, 36: 703-725.
175. Chinoy N, Memon M. Beneficial effects of some vitamins and calcium on fluoride and aluminium toxicity on gastrocnemius muscle and liver of male mice. *Fluoride*, 2001, 34: 21-33.
176. Abdou RH, Sayed N. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Nano-Selenium against Cypermethrin-Induced Liver Toxicity. *CellBio*, 2019, 8: 53.
177. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 2016, 1: 65-76.
178. Movita T. Acne vulgaris. *Continuing Medical Education*, 2013, 40: 269-272.
179. Bhate K, Williams H. Epidemiology of acne vulgaris. *British Journal of Dermatology*, 2013, 168: 474-485.
180. Chen W, Obermayer-Pietsch B, Hong JB, Melnik B, Yamasaki O, Dessinioti C, Ju Q, Liakou A, Al-Khuzaei S, Katsambas A. Acne-associated syndromes: models for

better understanding of acne pathogenesis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2011, 25: 637-646.

181. Amichai B, Shemer A, Grunwald MH. Low-dose isotretinoin in the treatment of acne vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2006, 54: 644-646.

182. DeKlotz CMC, Roby KD, Friedlander SF. Dietary supplements, isotretinoin, and liver toxicity in adolescents: a retrospective case series. *Pediatrics*, 2017, 140.

183. Abali R, Yuksel MA, Aktas C, Celik C, Guzel S, Erfan G, Sahin O. Decreased ovarian reserve in female Sprague–Dawley rats induced by isotretinoin (retinoic acid) exposure. *Reproductive biomedicine online*, 2013, 27: 184-191.

184. Erturan İ, Nazıroğlu M, Akkaya VB. Isotretinoin treatment induces oxidative toxicity in blood of patients with acne vulgaris: a clinical pilot study. *Cell biochemistry and function*, 2012, 30: 552-557.

185. Daye M, Belviranlı M, Okudan N, Mevlitoğlu I, Öz M. The effect of isotretinoin therapy on oxidative damage in rats. *Dermatologic Therapy*, 2020, 33: e14111.

186. Tønnesen HH. Chemistry of curcumin and curcuminoids. İçinde: ACS Publications, 1992.

187. Ukil A, Maity S, Karmakar S, Datta N, Vedasiromoni J, Das PK. Curcumin, the major component of food flavour turmeric, reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *British journal of pharmacology*, 2003, 139: 209-218.

188. Oetari S, Sudibyo M, Commandeur JN, Samhoedi R, Vermeulen NP. Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. *Biochemical pharmacology*, 1996, 51: 39-45.

189. Rao DS, Sekhara NC, Satyanarayana M, Srinivasan M. Effect of curcumin on serum and liver cholesterol levels in the rat. *The Journal of nutrition*, 1970, 100: 1307-1315.
190. Asai A, Miyazawa T. Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. *The Journal of nutrition*, 2001, 131: 2932-2935.
191. Rukkumani R, Balasubashini MS, Vishwanathan P, Menon V. Comparative effects of curcumin and photo-irradiated curcumin on alcohol-and polyunsaturated fatty acid-induced hyperlipidemia. *Pharmacological research*, 2002, 46: 257-264.
192. Rukkumani R, Aruna K, Varma PS, Viswanathan P, Rajasekaran K, Menon V. Protective role of a novel curcuminoid on alcohol and PUFA-induced hyperlipidemia. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2005, 15: 227-234.
193. Jang E-M, Choi M-S, Jung UJ, Kim M-J, Kim H-J, Jeon S-M, Shin S-K, Seong C-N, Lee M-K. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. *Metabolism*, 2008, 57: 1576-1583.
194. Kaymak Y, Ilter N. The results and side effects of systemic isotretinoin treatment in 100 patients with acne vulgaris. *Dermatology nursing*, 2006, 18: 576-581.
195. Vieira AS, Beijamini V, Melchior AC. The effect of isotretinoin on triglycerides and liver aminotransferases. *Anais brasileiros de dermatologia*, 2012, 87: 382-387.
196. Ahmad HM. Analysis of clinical efficacy, side effects, and laboratory changes among patients with acne vulgaris receiving single versus twice daily dose of oral isotretinoin. *Dermatologic Therapy*, 2015, 28: 151-157.
197. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1995, 1: 57-63.

198. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002, 18: 872-879.
199. Yu L, Nguyen H. Plant Molecular Genetics Laboratory, Department of Plant and Soil Science and Institute for Biotechnology. *Texas Tech University*, 1994, 87: 668-672.
200. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. *Sports medicine*, 2006, 36: 327-358.
201. Santangelo F, Witko-Sarsat V, Drüeke T, Descamps-Latscha B. Restoring glutathione as a therapeutic strategy in chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2004, 19: 1951-1955.
202. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica chimica acta*, 2003, 333: 19-39.
203. Gawęł S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 2004, 57: 453-455.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum Tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans:
Yabancı Dil Bilgisi
Türkçe: İngilizce: Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler
Kitap, Yüzme, Müzik, Dans, Satranç.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük



Sayı : E-75296309-050.01.04-2200006510
Konu : HADYEK Kararı.

10.01.2022

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 27.12.2021 tarihli ve E-93722986-000-2100359379 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.12.2021 tarihli ve 11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 284 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

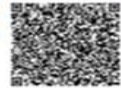
Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 85049566F38
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/atauni-universitesi-ebys>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



TOPLANTI TARİHİ : 28.12.2021

TOPLANTI SAYISI : 11

KARAR N0 284: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Sıçanlarda İsoetretinoin İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Kurkuminden Zengin Zerdeçal Ekstresi Etkilerinin Araştırılması”** isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 27.12.2021 tarihli ve E-93722986-000-2100359379 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 85049566F38

Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/ata Turk-universitesi-ebys>

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vettak@atauni.edu.tr



EK-3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Nubar NURİYEVA	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Biyokimya	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 7	% 35
III. Materyal ve Metod	% 35	% 35
IV. Bulgular	% 15	% 15
V. Tartışma	% 5	% 20
<i>Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.</i>		
Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı	
Nubar NURİYEVA	Prof. Dr. Yasin BAYIR	
2		
İ		