

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABETLİ RATLARDA TİMOKİNON
UYGULANMASININ NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B (NF-κB) ve
DNA HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Kimyager Ayşe USTA
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE

VAN 2014

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABETLİ RATLARDA TİMOKİNON
UYGULANMASININ NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B (NF-κB) ve
DNA HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Kimyager Ayşe USTA
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE

VAN 2014

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
tarafından 2013-SBE-D046 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABETLİ RATLARDA TİMOKİNON
UYGULANMASININ NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B (NF-κB) ve DNA HASARI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Kimyager Ayşe USTA
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

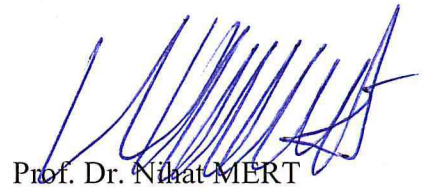


Jüri Başkanı

Prof. Dr. Fatmagül YUR



Prof. Dr. Semiha DEDE



Prof. Dr. Nilat MERT



Prof. Dr. Mustafa CEMEK



Doç. Dr. Tuğba BİNGÖL

TEZ KABUL TARİHİ

22 / 10 / 2014

TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde yol gösteren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tezin yapılmasında büyük katkıları olan bilgi ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın Hocam Prof. Dr. Semiha DEDE'ye sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Doktora eğitimim sırasındaki değerli katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fatmagül YUR'a ve diğer öğretim üyeleri hocalarıma, tezin deneme ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı Emine Kurt, Ufuk Kömüroğlu ve Nebi Çetin'e teşekkür ederim. Ayrıca öğrenim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve her zaman yanımda olan eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için destek sağlayan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER	III
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Diabetes Mellitus	2
2.1.1. Tanımı	2
2.1.2. Pankreas	3
2.1.3. İnsülin	4
2.1.4. Diyabetin sınıflandırması.....	6
2.1.5. Diyabetin tanısı	9
2.1.6. Diyabetin komplikasyonları.....	10
2.1.7. Diyabette biyokimyasal parametreler	13
2.2. Timokinon: Nigella Sativa'nın Biyoaktif Komponenti	16
2.2.1. Timokinonun kimyasal yapısı.....	17
2.2.2. Metabolizması ve görevleri	18
2.2.3. Timokinonun klinik kullanımı	19
2.3. 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin	29
2.3.1. DNA, yapısı ve önemi	30
2.3.2. Guanin.....	31
2.3.3. Guanosin	31
2.3.4. DNA hasarı, nedenleri ve önemi.....	32
2.3.5. 8-OHdG oluşum mekanizması.....	34
2.3.6. 8-OHdG'in oluşum nedenleri	35
2.3.7. 8-OHdG düzeylerinin klinik önemi	36
2.4. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)	36
2.4.1. Tanımı ve yapısı.....	36

2.4.2. NFκB'nin aktivasyonu.....	37
2.4.3. NFκB aktivasyonunun hücre biyolojisine etkileri	40
2.4.4. NFκB ve diyabet	42
2.4.5. NFκB ve timokinon	45
2.4.6. NFκB ve DNA hasarı.....	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. Gereçler.....	49
3.1.1. Hayvan materyali.....	49
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	49
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	50
3.2. Yöntem.....	50
3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması.....	50
3.2.2. Örneklerin toplanması.....	51
3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi	51
3.2.4. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü	51
3.2.5. NFκB düzeylerinin ölçülmesi	51
3.2.6. Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi	53
3.3. İstatistik Analiz	54
4. BULGULAR.....	55
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	66
ÖZET	79
SUMMARY	80
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	99
EKLER.....	100

SİMGELER VE KISALTMALAR

8-OHdG	: 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin
Akt	: Serin treonin protein kinaz B
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
Bcl-xl	: Bazal hücre lenfoma-extra büyük;
COX	: Siklooksijenaz
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksribonükleik asit
DSB	: Çift dal kırıkları
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme-linked immuno sorbent assay
GGT	: Gama glutamil transferaz
HbA1c	: Glikozillenmiş hemoglobin
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IKB	: İnhibitör kappa B
IKK	: İnhibitör kappa B kinaz
IL	: İnterlökin
i.p	: İntraperitoneal
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz;
MAPK	: Mitojen aktiviteli protein kinaz
NEMO	: NF-κB essential modulator
NF-κB	: Nükleer faktör-kappa B
NO	: Nitrik oksit
NS	: Nigella sativa
ROS	: Reaktif oksijen türleri
STZ	: Streptozotosin
TNF	: Sitokin tümör nekroz faktör
TQ	: Timokinon
U/l	: Ünite/litre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Dünyada diyabetli kişi sayısı (20-79 yaş arası).....	2
Şekil 2. Pankreasta insülin ve glukagon üretimi.....	3
Şekil 3. İnsülinin yapısı, aminoasit sırası	4
Şekil 4. İnsülin sentezi ve etkisi	5
Şekil 5. İnsülinin etki mekanizması.....	5
Şekil 6. Diyabetik komplikasyonların oluşum basamağı	12
Şekil 7. Çörek otu tohumu	16
Şekil 8. Timokinonun kimyasal yapısı	17
Şekil 9. TQ'nun muhtemel etki mekanizması	18
Şekil 10. Kanser ve inflamatuvar hastalıklarda timokinon hedefleri	20
Şekil 11. TQ'nun antiinflamatuvar aktivite basamağı.....	22
Şekil 12. Oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması.....	26
Şekil 13. Guanin	31
Şekil 14. Guanin ve bağlı nükleosit ve nükleotid.....	31
Şekil 15. DNA hasar cevabı sinyal iletim yolağı genel taslağı	32
Şekil 16. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG).....	34
Şekil 17. Oksijen radikalleri ile 8-OHdG oluşumu	34
Şekil 18. 8-OHdG oluşum mekanizması	35
Şekil 19. Transkripsiyon faktörü protein üretimini düzenler	37
Şekil 20. NFκB aktivasyon yolağı.....	38
Şekil 21. IKB'nin parçalanması.....	38
Şekil 22. NFκB klasik ve alternatif aktivasyon yolağı	39
Şekil 23. Transkripsiyonel cevapların merkezi olarak NFκB.....	40
Şekil 24. NFκB'yi aktive edici sinyaller	41
Şekil 25. NFκB tarafından düzenlenen genler.....	41
Şekil 26. Diyabet oluşumunun mekanizması	43
Şekil 27. Diyabetik komplikasyonlarda süperoksit ve peroksinitritin rolü	44
Şekil 28. Timokinonun NFκB aktivasyonuna inhibisyon mekanizması	46
Şekil 29. DNA hasarı ve NFκB	47
Şekil 30. DNA hasarı ve tamiri üzerine NFκB'nin etkisi.....	47

Şekil 31. NFκB standart eğrisi.....	53
Şekil 32. 8-OHdG standart eğrisi	54
Şekil 33. Çalışma gruplarındaki ortalama kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması	56
Şekil 34. Çalışma gruplarındaki ortalama HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması	57
Şekil 35. Çalışma gruplarındaki ortalama ALT düzeylerinin karşılaştırılması	58
Şekil 36. Çalışma gruplarındaki ortalama AST düzeylerinin karşılaştırılması	59
Şekil 37. Çalışma gruplarındaki ortalama GGT düzeylerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 38. Çalışma gruplarındaki ortalama üre düzeylerinin karşılaştırılması.....	61
Şekil 39. Çalışma gruplarındaki ortalama ürik asit düzeylerinin karşılaştırılması.....	62
Şekil 40. Çalışma gruplarındaki ortalama kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması.....	63
Şekil 41. Çalışma gruplarındaki ortalama 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması.....	64
Şekil 42. Çalışma gruplarındaki ortalama NFκB düzeylerinin karşılaştırılması	65

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. Diyabet tanı kriterleri.....	9
Tablo 2. Diyabet tanısı	9
Tablo 3. HbA1c'nin ortalama glukoz ile korelasyonu	10
Tablo 4. Diyabetin komplikasyonları.....	11
Tablo 5. NFκB proteinin sınıflandırılması	37
Tablo 6. Çalışma gruplarından elde edilen sonuçlar	55
Tablo 7. Kan glukoz düzeyleri (mg/dl)	56
Tablo 8. HbA1c düzeyleri (%)	57
Tablo 9. Alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri (U/l).....	58
Tablo 10. Aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri (U/l)	59
Tablo 11. Gama glutamil transferaz (GGT) düzeyleri (U/l)	60
Tablo 12. Üre düzeyleri (mg/dl).....	61
Tablo 13. Ürik asit düzeyleri (mg/dl).....	62
Tablo 14. Kreatinin düzeyleri (mg/dl)	63
Tablo 15. 8-OHdG düzeyleri (ng/ml).....	64
Tablo 16. NFκB düzeyleri (ng/ml).....	65

1. GİRİŞ

Diyabet, başta kalp, göz, sinir sistemi, damar ve böbreklerle ilgili olmak üzere birçok organda ciddi komplikasyonların oluşmasına neden olan bir hastalıktır. Gelişen teknolojiye bağlı olarak sedanter yaşam ve obezitenin yaygınlaşması, diyabet hastalığının tüm dünyada sıklığının giderek artmasına neden olmuştur ve 2013 verilerine göre dünyada 382 milyon diyabet hastası olduğu bildirilmiştir. Bu kadar yaygın ve önemli olan bir hastalığın önlenmesi veya oluştuğunda tedavi edilmesi çok önemlidir (Anonymous, 2013).

Modern ilaç üretiminin olmadığı devirlerde, hastalıkların tedavisinde bitkilerin çeşitli kısımlarındaki etkin madde ayrıştırılmadan bütün olarak kullanılırdı. Günümüzde ilaç, kozmetik ve gıda sektöründe bitki kaynaklı ürünler, saflaştırılarak ve her maddenin hususiyetleri bilinerek kullanılmakta ve ham maddesi bitki olan ürünlere talep sürekli artmaktadır. Dünya Sağlık Teşkilatının (WHO) tahminlerine göre dünya üzerinde 20.000'den fazla bitki türü tıbbi maksatlı kullanılmaktadır (Wagner ve Fransworth, 1990). Tıbbi maksatla kullanılan bitkilerden biri olan çörek otu ve çörek otu etkin maddesi timokinonun kan şekerini düşürdüğü tespit edilmiş ve diyabete bağlı gelişen insan hayatını olumsuz yönde etkileyen nöropati, nefropati ve hiperlipidemi gibi durumları da tedavi ettiği gösterilmiştir.

NF- κ B transkripsiyon faktörü, birçok insan hastalığı ile ilişkili olması nedeniyle, geniş ölçüde ilgiyi üzerinde toplamıştır. NF- κ B aktivasyonu diyabetin patolojisinde erken tanıda anahtar bir olaydır. Diyabetik durumlarda oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin yapımında artış olur (Rösen ve ark., 1998). SOR, nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'yi etkinleştirerek doku hasarına neden olur (Aras, 2008). Bu hasarın önlenmesinde SOR'nin etkisini azaltan NF- κ B inhibitörleri yani antioksidanlar tedavide kullanılmıştır (Montilla ve ark., 2005). DNA oksidasyonunun bir ölçüsü olarak 8-OHdG'nin ortaya çıkışı, oksidatif DNA hasarının takibinde yeni bir yol açmıştır. Bu çalışmada, deneysel diyabete bağlı olarak meydana gelmesi muhtemel komplikasyonların saptanmasında Nükleer faktör kappa B ve DNA hasarı oluşumunun etkisi ve bu komplikasyonların önlenmesi ve tedavisinde pek çok tedavi edici ve yararlı etkisi olduğu bilinen timokinonun, olası rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

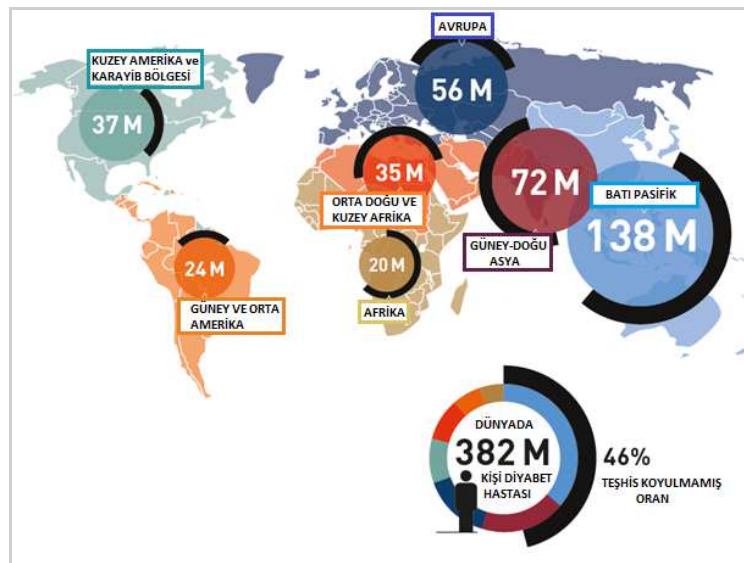
2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Tanımı

Diabetes mellitus; Latince diabetes: idrara geçen, mellis = tatlı ya da bal anlamına gelmektedir. Sıklıkla yalnızca diyabet olarak adlandırılan, genellikle kalıtsal ve çevresel etkenlerin birleşimi ile oluşan ve kan glukoz seviyesinin aşırı derecede yükselmesiyle sonuçlanan metabolik bir bozukluktur (Tierney ve ark., 2002).

Diabetes mellitus ya insülin salgılanmasındaki yetersizlik ya da insülinin etkisindeki bir bozukluk sonucunda ortaya çıkan yüksek kan şekerinin yol açtığı birkaç grup hastalığı tanımlamak için kullanılan ortak bir terimdir. Halk arasında şeker hastalığı olarak da bilinmektedir (Rother, 2007).

Yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan diabetes mellitus morbiditesi, mortalitesi ve topluma ekonomik yükü yüksek kronik metabolik bir hastalıktır (Onat ve ark., 2006). Yanlış beslenme alışkanlıkları ve obezitenin yaygınlaşması, diyabet hastalığının tüm dünyada sıklığının giderek artmasına neden olmuştur ve bu artış hızla devam etmektedir (Neşe ve Ovayolu, 2006).



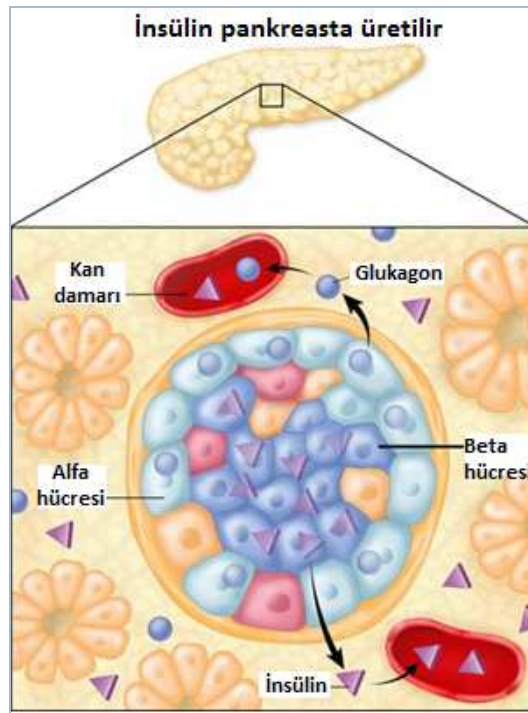
Şekil 1. Dünyada diyabetli kişi sayısı (20-79 yaş arası) (Anonymous, 2013)

Diyabetin prevalansının dünyada %8.3 olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda prevalansta görülen önemli artışlara hemen hemen tüm ülkelerde her iki cinsiyette ve yaşta da rastlanmaktadır (Anonymous, 2013).

Diyabet Atlasına göre, 2010 itibarı ile Türkiye erişkin (20-79 yaş) nüfusta diyabet prevelansı %7.4'tür (Anonim, 2014a).

2.1.2. Pankreas

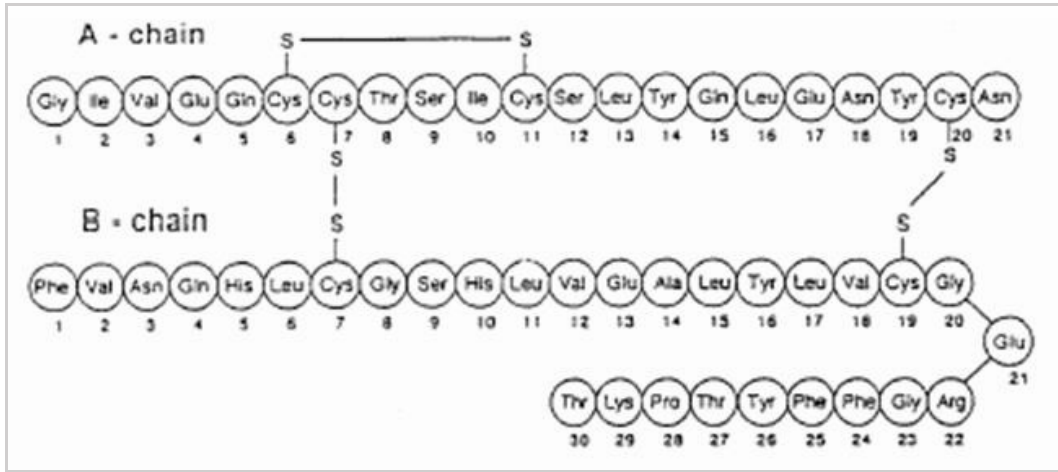
Pankreas, karın boşluğunda, omurganın birinci ve ikinci bel omurlarının önünde yer alan bir salgı bezidir. Pankreasın i  ve dış salgı görevleri vardır.    salgı görevini, hormonal salgı birimleri olan Langerhans adacıkları denen salgı hücreleri yapar, kan şekerini dengeleyen insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptit hormonlarını üretir. Langerhans adacıkları   hücrelerinden insülin,   hücrelerinden glukagon sentezlenir. Bu iki hormon, esas olarak karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesine katılır ve diğer birçok olayları da etkiler (Murray ve ark., 2004).



şekil 2. Pankreasta insülin ve glukagon  retimi (Anonim, 2014b)

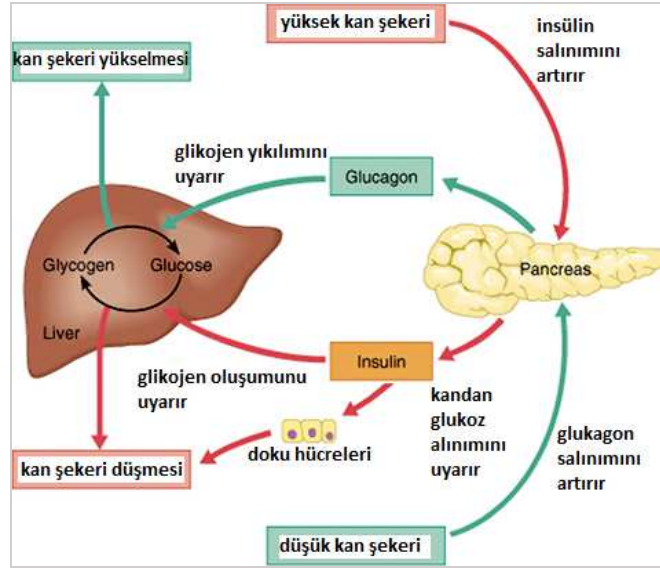
2.1.3. İnsülin

İnsülin, moleküler ağırlığı 5.7 kilodalton (kDa) olan, disülfid bağlarıyla bağlı iki polipeptid zincirinden oluşan 51 aminoasitlik bir proteindir. Aktif hormon, A zinciri 21, B zinciri 30 aminoasit taşıyan iki zincirden oluşmuş bir polipettir. Polipeptit zincirleri arasında, A7'yi B7'ye ve A20'yi B19'a bağlayan iki tane zincirler arası disülfid köprüleri bulunmaktadır. Yanı sıra üçüncü bir disülfid köprüsü A zincirinin 6. ve 11. aminoasitlerini birbirlerine bağlamaktadır (Onat ve ark., 2006).



Şekil 3. İnsülinin yapısı, aminoasit sırası (Murray ve ark., 2004)

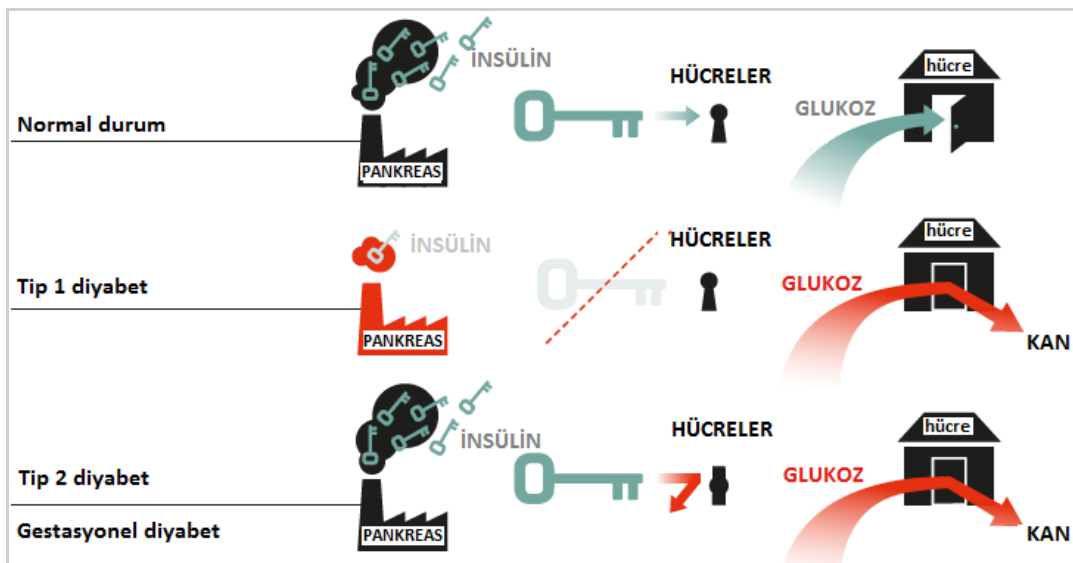
İnsülinin en çok üzerinde durulan özelliği organizmanın tek hipoglisemik etkili hormonu olmasıdır. İnsülin, karbonhidrat metabolizması üzerine olan etkisini, kan glukoz seviyelerini düşürerek gösterir. Başta glukoz olmak üzere bazı şekerleri fosfor ile bağlayarak, hücre membranından taşınmasını kolaylaştırır. Glukozun hücre içine alınmasını kolaylaştırdığı gibi, kullanılmasını da etkiler. Bu etkisini glukokinaz, fosfofruktokinaz ve piruvat kinaz gibi glikolizitik enzimleri aktive ederek gösterir. Hedef hücre membranında immunoglobulin benzeri, yaklaşık olarak 20.000 kadar insülin reseptörü bulunur. Glukoz, glukoz-6-fosfat halinde iken plazma membranını geçemez. İnsülin, bu formun membranı geçişini sağlayarak, kas ve karaciğerde glikojen yapımını uyararak glukoz seviyelerini düşürür (Dede, 1999; Özmutlu, 2011).



Şekil 4. İnsülin sentezi ve etkisi (Anonymous, 2013)

Kan şeker düzeylerinin yükselmesi insülin hormonunun salınımını stimüle eder. %80-100 mg arasındaki glukoz, insülin salınımı için eşik değerdir (Kalaycıoğlu ve ark., 2006).

Diabetes mellitusun esas göstergesi hiperglisemi olup, glukozun hücre içine girişinde azalma, glukozun çeşitli dokular tarafından kullanımında azalma ve karaciğer tarafından aşırı glukoz üretilmesi (glukoneogenez) sonucu gelişir (Murray ve ark., 2004).



Şekil 5. İnsülinin etki mekanizması (Anonymous, 2013)

Glukoz başta beyin olmak üzere vücudun tüm organlarının önemli bir besin kaynağıdır. İnsülin, hücrelerin ihtiyacı olan glukozu fosforillenmek üzere hücre içine kolaylaştırılmış difüzyon ile taşınmasını sağlamaktadır. (Anonim, 2014c; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2008).

2.1.4. Diyabetin sınıflandırması

En sık başvurulanan sınıflandırma; Tip 1, Tip 2, Gestasyonel diyabet, diğer diyabet türleri şeklindedir (Anonymous, 2014a).

1. Tip 1 diyabet
2. Tip 2 diyabet
3. Gestasyonel diyabet
4. Diğer diyabet türleri

Tip 1 diyabet: Tip 1 diyabet, sıklıkla çocukluk ve gençlik yaşlarında ortaya çıktığı için “Juvenil diyabet” adını da alır. Çocuklukta en sık görülen kronik hastalıklardandır. Yakın zamana kadar diyabetin bu tipi yalnızca çocuklarda görülmekte iken günümüzde yetişkin yaşlarda da görülmeye başlanmıştır (Anonim, 2014c).

İnsülin hormonlarının eksikliği sonucu ortaya çıkan bu diyabet için risk faktörleri iyi tanımlanmamıştır. Ancak Tip 1 diyabetiklerin birinci derece akrabalarında genetik ve çevresel faktörlerin hastalığı tetiklediği gösterilmiştir. Tip 1 diyabet, bu hastalığa genetik yatkınlığı olan kişilerde genellikle viral enfeksiyonlar, stres veya travma gibi bir olay sonrasında tetiklenmektedir (Anonim, 2014d). Bu hastalık, pankreasın β -hücrelerinin ağır bir otoimmün atak nedeniyle hasarlanması ve insülinin tamamen eksikliği ile karakterizedir. Bu atak β -hücre popülasyonunu kademeli olarak tüketir ve harabiyet %80-90'ı bulduğunda semptomlar birden ortaya çıkar. Buna bağlı olarak insülin üretimi azalır veya tamamen ortadan kalkar (insülopeni) ve hiperglisemi meydana gelir (Champe ve ark., 2007).

Tip 1 diyabeti olan bireyler için insülin yaşam için elzem olan, vazgeçilmez bir ilaçtır. Hastalar, mutlak veya göreceli bir insülin yetersizliği olduğundan dolayı ömür

boyu insülin hormonunu dışardan almak zorundadırlar. Bu nedenle Tip 1 diyabet, İnsüline Bağımlı Diyabet (Insulin Dependent Diabetes Mellitus-IDDM) olarak da isimlendirilmektedir (Anonim, 2014c).

Genel olarak toplumdaki diyabet vakalarının yaklaşık %10'unu Tip 1 diyabet vakaları oluşturmaktadır (Champe ve ark., 2007; Anonymous, 2014a).

İnsülinin 1921 yılında kullanıma girmesinden bu yana diyabetin tüm türleri tedavi edilebilmektedir ancak kesin bir tedavisi yoktur. Tip 1 diyabette, insülin yapımından sorumlu pankreas beta hücrelerinin harabiyetine bağlı olarak gelişen, mutlak insülin eksikliği olan bu hastalarda günlük enjeksiyonlarla insülin eksikliğin telafi edilmesi gereklidir (Anonim, 2014e).

Tip 2 diyabet: Tip 2 diyabetli kişiler insülin üretir fakat üretilen insülini hedef dokularda etkili olarak kullanamazlar. Tip 2 Diyabet ise üç şekilde ortaya çıkmaktadır; periferik dokularda insülin direnci, pankreastan insülin salınımı kusuru ve karaciğerde glukoz üretiminin artması. Bu durumda açlık hiperglisemisi meydana gelir (Örnek Diker, 2009).

Tip 2 diyabet, Tip 1 diyabete kıyasla daha sık görülür; Geçmişte "insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM)", "erişkin diyabet" veya "Tip II diyabet" olarak da isimlendirilen hastalık, en yaygın görülen diyabet formudur. Tüm dünyada tanı konulan diyabet vakalarının yaklaşık %90'dan fazlasını Tip 2 diyabet oluşturmaktadır (Anonymous, 2014a).

Tip 2 diyabet genetik zeminde genellikle obezite, sağlıksız diyet ve fiziksel aktivite azlığı, ilerleyen yaş, ailede diyabet geçmişi, genetik yatkınlık, bozulmuş glukoz toleransına bağlı olarak görülmektedir. Kontrol edilemeyen hepatik glukoz üretimi, kas ve yağ dokusu tarafından azalmış glukoz alımıyla karakterizedir (Champe ve ark., 2007).

Tip 2 diyabet diyet, antihiperglisemik (şeker düşürücü) ilaçlar ve insülin takviyesi ya da bunları bir arada kullanarak kontrol altında tutulur (Champe ve ark., 2007).

Gestasyonel diyabet: Gebelik esnasında özellikle gebeliğin 2. yarısından sonra kan şekeri yükselebilmekte ve doğum sonrasında tekrar normal düzeyine dönmektedir. Gebelik esnasında diyabetin ortaya çıkması durumuna gestasyonel diyabet denir (Anonim, 2014c).

Gebelerin yaklaşık %3'ünde gestasyonel diyabet ortaya çıkar ve doğumdan sonra ortadan kaybolabilir. Gestasyonel diyabet tedavi edilebilir bir durumdur ancak tüm hamilelik süresi boyunca dikkatlice izlenmesi gerekir (Anonim, 2014e; Onat ve ark., 2006).

Diğer diyabet türleri: Çeşitli faktörlere bağlı olarak diyabet oluşabilir. Bu faktörler aşağıdaki gibi özetlenebilir (Molitch, 1990; Anonymous 2014a).

- Beta hücre fonksiyonlarında genetik bozukluk, glukokinaz üretimindeki bozuluktan kaynaklanan insülin salgılanmasındaki düzensizlik ile karakterize, çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir.
- İnsülin faaliyetindeki genetik bozukluklar, insülin reseptörlerinde bulunan mutasyonların neden olduğu genel pediyatrik sendrom,
- İnsülin üreten beta hücrelerinin yokluğu veya yıkımlanmasının katıldığı ekzokrin pankreas hastalıkları,
- Endokrin bozukluklar (akromegali veya Cushing sendromu) aşırı hormon düzeylerinden kaynaklanan diyabetojenik etkiler,
- İlaç veya kimyasal (bazı diüretikler veya glukokortikoidler) kaynaklı diyabet, bunlardan kaynaklanan beta hücrelerinin toksik yıkımları, insülin direnci, düzensiz insülin salgısı veya adacık hücre antikorlarının üretimi,
- Enfeksiyon (rubella, sitomegalovirus) kaynaklı ve otoimmün cevabın beta hücre yıkımına bağlı oluşan diyabet,
- Diyabet aracılı bağışıklığın olağandışı formları (Stiff-man syndrome, Anti-insülin reseptör antijenler ve diğerleri)

- Konjenital bozukluklar (Down, Turner ve Klinefelters sendromları), kromozomal bozukluklar gibi durumlar ilgili glukoz toleransı ile sonuçlanır (Anonymous, 2014a).

2.1.5. Diyabetin tanısı

Diyabeti olmayan bir birey kan şekeri düzeyi açlık halinde 120 mg/dl, tokluk halinde (yemeğe başladıktan iki saat sonra) 140 mg/dl'nin üstüne çıkmaz. Açlıkta veya toklukta ölçülen kan şekeri düzeyinin bu değerlerin üstünde olması diyabetin varlığını gösterir (Anonim, 2014c).

Tablo 1. Diyabet tanı kriterleri (Anonim, 2014e)

Açlık Kan Şekeri (mg/dL)	75 g glukoz yüklemesinden 2 saat sonraki kan şekeri (mg/dL)		
	<140	140- <200	≥200
<110	NORMAL	BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI	DİYABET
≥110 - <126	BOZULMUŞ AÇLIK GLUKOZU		
<126			
≥126			

Diyabet tekrarlayan ya da kalıcı hiperglisemi ile karakterizedir. Teşhisi aşağıdaki ölçütlere göre yapılır.

Tablo 2. Diyabet tanısı (Anonymous, 2006)

Tanı	Açlık glukozu (mg/dl)	2. saat glukozu (mg/dl)
Diabetes mellitus	>126	>200
Bozulmuş glukoz toleransı	<126	140-200
Bozulmuş açlık glisemisi	110-126	<140
Sağlıklı	<110	<140

Diyabette Glikozile Hemoglobin: Hemoglobin A1c (HbA1c) diğer ismiyle glikozillenmiş hemoglobin, şeker hastalığında tedavinin etkinliğini ölçmek, kimi zaman da şeker hastalığı tanısı koymak için kullanılan bir kan tahlilidir. Şeker hastalığı tedavisinde geçmiş iki-üç aya ait kan şekeri profili hakkında bilgi verdiği için geçtiğimiz yıllarda artan sıklıkla kullanılmaya başlamıştır (Kurt, 2003).

Alyuvarlarda bulunan hemoglobin, kan şekere maruz kaldığında glikozillenme reaksiyonu gerçekleşir. Tahlil yaptırmadan önceki aylarda kan şekeri değerleri yüksek seyretmişse, hemoglobin moleküllerinin glikozillenme oranı da artar ve dolayısıyla hemoglobin A1c seviyesi artar (Anonim, 2014f).

Tablo 3. HbA1c'nin ortalama glukoz ile korelasyonu (Anonymous, 2014b)

HbA1c %	Ortalama plazma glukozu		Sonuç
	mg/dl	mmol/L	
6	126	7.0	Non- diyabetik aralık
7	154	8.6	Diyabetik hastalarda tedavi hedefi
8	183	10.2	Diyabetik hastalarda hedefin üzeri
9	212	11.8	Diyabetik hastalarda hedefin üzeri
10	240	13.4	Diyabetik hastalarda hedefin üzeri
11	269	14.9	Diyabetik hastalarda hedefin üzeri
12	298	16.5	Diyabetik hastalarda hedefin üzeri

2.1.6. Diyabetin komplikasyonları

Kronik hiperglisemi, başta göz, böbrek, kalp gibi organlar olmak üzere damar ve sinirlerde de hasara neden olarak, yaşam kalitesi ve süresini olumsuz yönde etkilemektedir. Çoğu durumda, tanı konulmadan, uzun süre önce ortaya çıkan hiperglisemi, organlarda hasara neden olabilmektedir. Bu nedenle Diabetes mellitus'lu olgularda erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi önemlidir (Borodaco, 2007; Anonymous, 2014b).

Diyabetin kendisi ve diyabette kullanılan tedavi yöntemleri pek çok komplikasyonlara yol açabilir. Diyabete bağlı komplikasyonları temel olarak iki başlıkta toplamak mümkündür.

1-Diyabetin akut (hızlı gelişen) komplikasyonları,

2-Diyabetin kronik (müzmin) komplikasyonları (Anonim, 2014d).

Tablo 4. Diyabetin komplikasyonları (Özmutlu, 2011)

Akut (metabolik) komplikasyonlar	Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar	
Diyabetik ketoasidoz	Makrovasküler komplikasyonlar	Mikrovasküler komplikasyonlar
Hiperosmolar non-ketotik koma	Kardiyovasküler hastalıklar	Diyabetik nefropati
Laktik asidoz koması	Serebrovasküler hastalıklar	Diyabetik retinopati
Hipoglisemi koması	Periferik damar hastalığı	Diyabetik nöropati

Diyabetin Akut Komplikasyonları: Eğer hastalık iyi kontrol edilmezse hiperglisemi, ketoasidoz ya da nonketotik hiperozmolar koma gibi akut komplikasyonlar gelişebilir. Diyabetin akut komplikasyonları:

1-Diyabetik ketoasidoz koması: Kan ve idrardada keton cisimcikleri saptanır. Hastanın kanında asidoz oluşur.

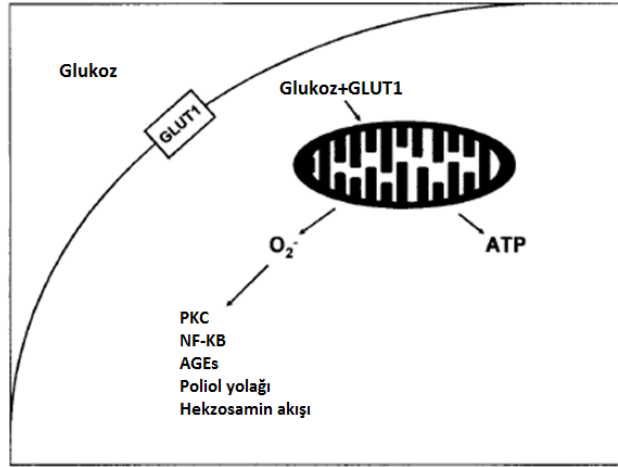
2-Hiperosmolar non-ketotik koma: Kandaki sıvı kaybı daha fazladır.

3-Laktik asidoz koması: Özellikli bir koma tipidir.

4-Hipoglisemi koması: Hipoglisemi ya da anormal derecede düşük kan şekeri, diyabet tedavisinde kullanılan pek çok tedavi yönteminin akut bir komplikasyonudur ve çok hızlı gelişir. İnsülin ve ağızdan şeker düşüren bazı ilaçlarla daha fazla gelişir (Anonim, 2014d).

Kronik Komplikasyonlar: Kan glukoz konsantrasyonlarının uzun süre yüksek kalması sonucu ortaya çıkan kronik komplikasyonlarının başlıcaları; hipertansiyon, kalp yetmezliği ve ateroskleroz gibi dolaşım sistemi hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği (nefropati), körlüğe sebep olabilen retina hasarı (retinopati), çeşitli tiplerde sinir

hasarları (periferik nöropati) ve yara iyileşmesini geciktiren ve impotense sebep olan mikrovasküler bozukluklar sayılabilir (Champe ve ark., 2007).



Şekil 6. Diyabetik komplikasyonların oluşum basamağı (Ceriello, 2003)

Kardiyovasküler Hastalıklar: Diyabetlilerde kalp damar hastalığı görülme ihtimali sağlıklı bireylere göre 2-5 kat kadar artar (Anonim, 2014d). Kan şekerinin uzun süre yüksek seyretmesi kan damarlarına zarar verir (anjiyopati). Kan damarlarının iç yüzeylerini kaplayan endotel hücreleri normalden daha fazla miktarda glukozu hücre içine alırlar çünkü bu hücrelere glukoz girişi insülininden bağımsız olarak gerçekleşir. Hücre içine giren yüksek miktarda glukoz bu hücrelerde proteinlerin glikozillenmesine ve yüzey glikoproteinlerin birikmesine yol açar. Sonuçta damarların bazal membranı kalınlaşır ve zayıflar (Anonim, 2014e).

Diyabetik Ayak Ülserleri: Diyabetlilerde hem periferik noropati hem de iskemi sebebiyle oluşan özellikle ayaklarda gelişen dolaşım bozukluklarının sonucu olarak ortaya çıkan yara iyileşmesinin gecikmesi ve nihayetinde amputasyonlar (parmak ya da ayakların cerrahi olarak kesilip alınması) sık görülür. Diyabetik ayak, genellikle nöropati (uyuşukluk ya da hissizlik ile karakterize) ve damarlarda oluşan hasarların birleşimi sonucunda oluşur. Bu durum ayak derisinde yaralar oluşmasına ve bu yaraların enfekte olmasına yol açar (Anonim, 2014d).

Diyabetik Retinopati: Diyabet körlüğe neden olan ilk üç hastalık içinde yer almaktadır. Diyabetin bu komplikasyonu retinadaki küçük damarların uzun süreli hiperglisemiye bağlı olarak tahrip olması sonucu gelişir (Anonim, 2014d).

Diyabetik Nefropati: Diyabet, en önemli kronik böbrek yetersizliği nedenlerindendir. Diyaliz ünitelerinde tedavi gören hastaların %50'si diyabetlidir (Anonim, 2014d).

Diyabetik Nöropati: Hissetme duyusunun normal olmaması ya da azalması, “eldiven-çorap” tarzı his dağılımı (hastalar giymedikleri halde ellerinde eldiven, ayaklarında çorap varmış gibi hissederler), ayaklardan başlayan ancak tüm sinirleri etkileyebilme potansiyeli olan, yaygın bir diyabet komplikasyonudur. Uzun süreli diyabetin periferik ve otonom sinirlerde yol açtığı bozukluklardır. En sık görülen belirtiler ayaklarda (ve bazen ellerde) uyuşma, yanma, karıncalanma, ağrı ve güçsüzlüktür (Anonim, 2014e).

Sıkı şeker kontrolü sağlamanın yanısıra kan basıncı ve lipidlerin de hedef düzeylere düşürülmesi ve sigara içmemek ve kilo kontrolü yapmak gibi hayat tarzının iyileştirilmesi bu komplikasyonların azaltılabileceği klinik çalışmalarla ortaya konulmuştur (Li ve ark., 2008).

2.1.7. Diyabette biyokimyasal parametreler

Glukoz: Kandaki serbest glukoz konsantrasyonu tüm yaşam boyunca fertlere göre sabit bir düzeydedir ve bu düzey 12 saatlik bir oruç halinden sonra yaş ve cinsiyete bağlı olmaksızın 60-100 mg/100 ml dolayındadır. Karbonhidrattan zengin bir öğünden sonra, yaklaşık 1-1.5 saat içinde bu değer 120-130 mg/dl'ye yükselir. Kan glukoz düzeyleri çok hassas bir kontrol mekanizmasına sahiptir. Bu kontrolün temeli karaciğerin fazla glukozu kandan alması, glikojen halinde depo etmesi ve kan şekeri düşmelerine karşı bunu hazır tutmasına dayanır. Bu kontrol mekanizmalarına insülin ve bunun karşıtı görev yapanlar (Glukagon, adrenalin, glikokortikoidler, STH ve tiroksin) katılırlar (Kalaycıoğlu ve ark., 2006). İnsülin metabolizmasındaki bozukluklara bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları gelişir. Kan glukoz seviyesinin aşırı derecede yükselmesine bağlı hiperglisemi ile karakterize metabolik bir bozukluk olan diabetes mellitus meydana gelir.

HbA1c: HbA1c Diabetes mellitus'un uzun dönemli glisemik kontrolünün değerlendirilmesinde kullanılan ve bu hastalarda komplikasyon gelişme olasılığını gösteren değerli bir testtir.

Kanda çok yükselmiş olan glukoz proteinlerle enzimatik olmayan yollarla birleşir. Glikozillenen proteinlerin en önemlisi de hemoglobindir. HbA1c son 2-3 aylık dönemdeki ortalama kan glukozuyla orantılı olarak artacağından kronik hipergliseminin bir göstergesidir. HbA1c ölçümleri diyabetin rutin takibinde ve plazma glukoz kontrolü ile komplikasyonların gelişmesi arasındaki ilişkinin incelenmesinde son derece değerlidir (Buyuran, 2007).

ALT: Serumdaki enzim analizleri karaciğer hastalıklarının teşhisi ve hastalığın seyrinin kontrolünde mutlaka yapılmalıdır. Karaciğer paransim hücreleri içinde fonksiyon yapan ve sadece hücre bozukluklarında kana geçen enzimlerdir (Kalaycıoğlu ve ark., 2006). Karaciğer hücrelerinin parçalanması ile kana karışır. Karaciğer hasarını tespit etmek amacıyla en sık kullanılan testtir. ALT yüksek olması demek karaciğerde hasar var demektir.

Sitozolik bir enzim olan alanin amino transferaz (ALT), karaciğer spesifik enzim olarak tanısal değerdedir. Plazma yarı ömrü 60 saat civarındadır. Referans değerler değişkendir. Hepotosellüler permeabilitede değişikliklerle serum ALT aktivitesi artar (subletal bozukluk ve nekroz). Serum ALT artışı hepatositte enzim indüksiyonu sonucu olabilir (Karagül ve ark., 2000; Mert, 1996).

AST: Aspartat amino transferaz (AST), sitozolde ve mitokondride lokalize enzimin iki veya daha fazla izoenzimi vardır. Enzim tüm hücrelerde görülür, fakat karaciğer ve kas hastalıkları için tanısal önemde kabul edilir. Çünkü bu dokularda yüksek aktivitededir. Plazma yarı ömrü yaklaşık olarak 12-18 saat kadardır. Plazma AST artışı karaciğer ve kas hücre permeabilitesinde değişikliklerle gerçekleşir. Karaciğer hücrelerinin parçalanmasıyla kana karışır ve miktarı yükselir (Karagül ve ark., 2000; Mert, 1996).

GGT: Gama glutamil transferaz (GGT), bir karboksi peptidazdır. C-terminal glutamil gruplarını kopararak ve diğer peptidlere veya glisil gibi diğer sektörlere

transfer eder. Glutasyon metabolizmasına katılır. Mikrozomol membranda (sellüler GGT aktivitesinin %95'i) ve sitozolde (%5) yerleşmiş durumdadır. Serum GGT aktivitesi primer olarak karaciğer kaynaklıdır (Karagül ve ark., 2000).

Serum GGT aktivitesi kolestazisde ve akut hepatik nekrozda yükseldiği bildirilmektedir. Kandaki enzim aktivitelerinde oluşan değişiklikler birçok hastalığın klinik teşhisinde faydalı olmaktadır. Kan proteinlerinin konsantrasyonu dağılımı ya da sentez hızları, yıkımı veya atılması pek çok hastalıklardan etkilenir (Karagül ve ark., 2000).

Klinik laboratuvarlarda GGT enziminin aktivitesi serum veya plazmada sensitif fakat çok spesifik olmayan karaciğer fonksiyon testi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Wannamethee ve ark., 1995).

Üre: Böbrek fonksiyon testlerinden biridir. Klinik teşhiste üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri önemlidir (Kalaycıoğlu ve ark., 2006). Protein metabolizmasının primer son ürünü, vücuttan nitrojen atılımının en önemli formudur. Üre, karaciğerde aminoasit deaminasyonu ile salınan NH_3 'tan sentezlenir. Plazma üre (BUN) düzeyi, sebeplere göre yüksek prerenal, renal ve postrenal olarak değişebilir. Kanama, su-elektrolit kayıpları (ishal) plazma üre artışına yol açabilir. Böbrek kan akışı, konjestif kalp yetmezliğinde ve damar içi hacim azaldığında da düşer. Yüksek protein diyeti, protein yıkımı artışı (travma, büyük operasyon, şiddetli açlık), üst sindirim kanalı kanamaları sonra da artış görülebilir. Üremi akut veya kronik böbrek yetmezliği ile ilgili olabilir (Karagül ve ark., 2000; Mert, 1996).

Ürik asit: Ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin) oksitlemesi ile oluşur. Pürin metabolizmasının son ürünüdür. Kanda ürik asit artışına, karaciğer hastalıkları, hepatosellüler sarılıkta rastlanır (Karagül ve ark., 2000; Mert, 1996).

Kreatinin: Kan üre azotu (BUN) ve serum kreatinin (SK) tayinleri böbreğin uzaklaştırdığı azotlu artıkların miktarları ile ilgilidir. Serum kreatinin ve üre analizlerinden böbrek fonksiyon testi olarak klinik biyokimyadan yararlanılmaktadır (Karagül ve ark., 2000). Serum BUN düzeylerindeki artış böbrek doku hasarını, serum

kreatinin düzeylerindeki artış ise böbrek yetmezliğini gösteren parametrelerdir (Erdem ve ark., 2000).

Evcil türlerin çoğunda serum üre ve kreatinin miktarları, glomeruler filtrasyon hızının kabaca göstergeleridir. Kreatinin, üreden daha iyi bir göstergesidir. Karaciğer, böbrek ve pankreasda sentezlenen kreatinin, azot metabolizmasının bir ürünüdür. Glomeruluslar tarafından plazmadan değişikliğe uğramadan serbestçe filtre edilir. Anormal düşük değerlere yıkım hastalıklarında ve açlıkta, kortikosteroid uygulanmış bireylerde (protein yıkımını yüzünden) rastlanır. Artan kas hacmi, fazla et tüketimi, egzersiz, bazı ilaçlar (salisilatlar, simetidin v.s.), böbrek perfüzyonunu bozan herhangi bir hastalık (kan basıncının düşmesi, sıvı kaybı, böbrek arterinde stenoz), fonksiyonel nefron sayısında azalmaya neden olan hastalıklar (akut ve kronik glomerulonefritis), nefronun tubuler kısmında basıncı arttıran hastalıklar (prostat büyümesi) gibi durumlar plazma kreatinin değerlerinde artışa yol açarlar. Böbrek işlevlerini değerlendirmede serum üre ve kreatinin değerlerinin bilinmesi çok önemlidir (Karagül ve ark., 2000; Mert, 1996).

2.2. Timokinon: *Nigella Sativa*'nın Biyoaktif Komponenti

Çoğunlukla Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yetişen ve ülkemizin de neredeyse tüm bölgelerinde yetişmekte olan ince yapraklara sahip, boyu yaklaşık olarak 40 cm'yi bulan otsu bir bitkidir. Halk arasında bilinen adıyla çörek otu, *Nigella sativa* (NS) türü bitkilerin dallarında kapsül içerisinde oluşan tohumudur (Baytop, 1984).



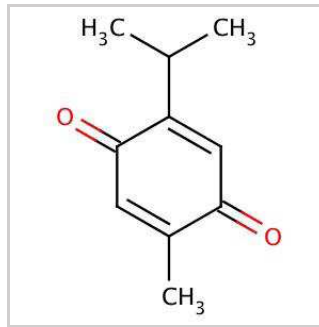
Şekil 7. Çörek otu tohumu (Anonim, 2014g)

Çörek otunun kimyasal bileşimi, bitkinin hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime göre farklılık arz eder. Tohumları; uçucu yağ (%0.4-2.5), sabit yağ

(%32-40) proteinler (%16-19.9), arjinin, glutamik asit, lösin, lisin, metionin, trosin, prolin ve treonin gibi amino asitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler (%5.5), karbonhidratlar (%33.9), mineraller (%1.79-3.44 (Fe, Ca, Na, Cu, Zn, P, K)), askorbik asit(C), tiamin (B₁), niasin (PP), pridoksin (B₆), folik asit (B₉) ve su (%6) içermektedir. Uçucu yağı; trans anetol, nigellon, karvakrol, p-cymene, d-limonen, α ve β -pinen de içermektedir (Nickavar ve ark., 2003; Hajhashemi ve ark., 2004). Ayrıca uçucu yağda bulunan farmakolojik aktif bileşenler ise timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol'dür (Randhawa ve Al-Ghamdi, 2011). Timokinon (TQ) uçucu yağda %27.8 - 57.0 oranında bulunur (Hosseinzadeh ve Parvardeh, 2004).

2.2.1. Timokinonun kimyasal yapısı

Nigella sativa'nın uçucu yağı Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile analizlenmiş ve temel bileşenlerinin timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol olduğu saptanmıştır (Ghosheh ve ark., 1999). Tanımlanan bileşikler arasında timokinon toplam bileşimde %30–48 oranıyla en bol bulunanıdır. Bu kinin bileşeni NS'da farmakolojik olarak en potansiyel aktif bileşiktir (Shuid ve ark., 2012).

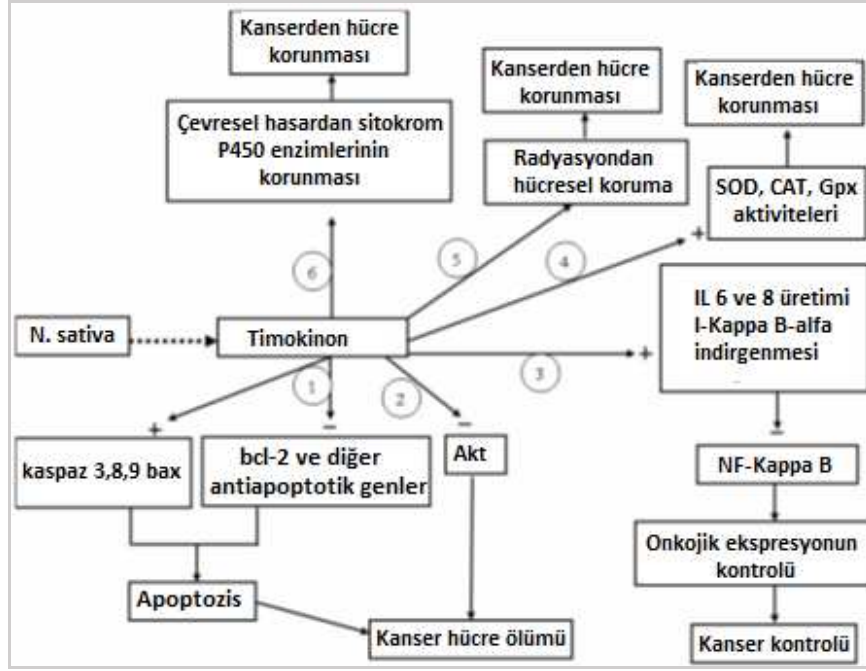


Şekil 8. Timokinonun kimyasal yapısı (Kundu ve ark., 2013)

Timokinon, 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon (C₁₀H₁₂O₂) yapısında, 164.2 g/mol molekül ağırlığında, koyu sarı renkli kristallere sahip uçucu bir monoterpen kinondur (Demirci ve ark., 2008). *Nigella sativa* tohumlarının majör bileşiği olan timokinon ilk olarak 1959 yılında sentez edilmiştir (Al-Ghamdi, 2001).

2.2.2. Metabolizması ve görevleri

Terpen ve terpenoidler, çoğu bitki ve çiçekteki uçucu yağların başlıca bileşenleridir. Timokinon molekülü de üzerinde çok araştırma yapılmış bir monoterpendir. Monoterpenlerin hücre düzeyinde enerji metabolizmalarına etki ettikleri gösterilmiştir (Demirci ve ark., 2008).



Şekil 9. TQ'nun muhtemel etki mekanizması (Khan ve ark., 2011)

TQ, kanser hücresi üzerine çeşitli moleküler yollarla onları öldürülmesine yardımcı olur. Bu yollar aşağıda özetlenmiştir: (Şekil 9)

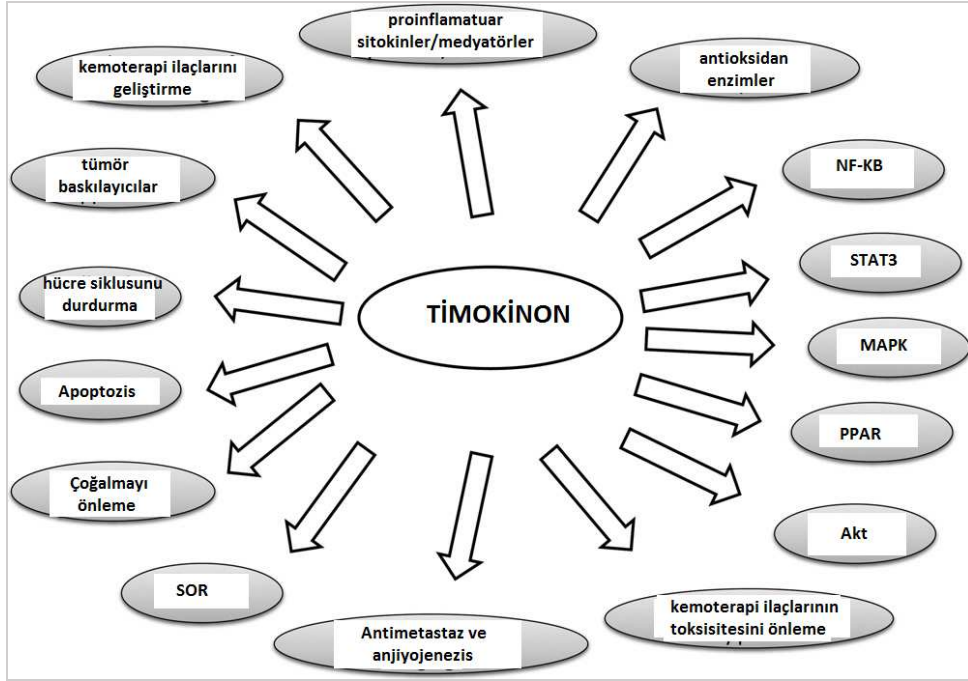
1. TQ, apoptotik gen (kaspaz ve bax) ekspresyonunu artırarak ve antiapoptotik gen (bcl-2) ekspresyonunu azaltarak kanserli dokularda apoptotik hücre ölümünü uyarır;
2. TQ, defosforilasyonla Akt (serin treonin protein kinaz B) aktivasyonunu baskılar ve böylece kanser hücresinin hayatta kalmasını bloke eder;
3. TQ, sitokin üretimini uyararak NF-kappa B yolağını deaktive eder ve böylece onkojenik ekspresyonu kontrol eder;
4. TQ, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırır ve kansere karşı hücreleri korur;

5. TQ, kanser tedavisinde iyonize radyasyonun neden olduğu harabiyete karşı normal hücreleri korur;
6. TQ, sitokrom P450 enzimlerini hasardan korur (Khan ve ark., 2011).

2.2.3. Timokinonun klinik kullanımı

Güncel yaşamı yaygın olarak risk altında tutan kanser, kardiyovasküler sorunlar, hipertansiyon, hormonal bozukluklar ve diyabet gibi sorunların çözümünde izoflavonlar, ellagik asit, fitatlar, indoller, flavonoidler, terpenler, fenolik asit, kumarinler, polifenoller, likopenler, glissirizin, izotiyosiyanatlar, karotenoidler, sülfidler fitokimyasallar olarak çeşitli bitkiler aracılığıyla besinlerde yer alarak önemli görevler yüklenmektedirler (Dündar, 2001).

Yapılan çalışmalarda timokinonun pek çok kanser türünde hücre çoğalmasını durdurucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir; kemik, göğüs, yumutalık (Shoieb ve ark., 2003), kalın bağırsak (Gali-Muhtasib ve ark., 2004a), prostat (Kaseb ve ark., 2007), kemik (Roepke ve ark., 2007). Ayrıca antidiyabetik (Fararh ve ark., 2005; Al-Enazi, 2007; Kanter, 2009a, 2009b), antioksidan (Attia ve ark., 2010), antihistaminik (Ali ve Blunden, 2003; Ragheb ve ark., 2009), hepatoprotektif (Mansour, 2000; Alsaif, 2007) ve antiinflamatuvar (El-Dakhakhny ve ark., 2002; El Gazzar ve ark., 2007), immun sistemi güçlendirici (El-Mahmoudy ve ark., 2002; Salem, 2005), gastroprotektif (El-Abhar ve ark., 2003; Kanter ve ark., 2005), etkileri çeşitli çalışmalarda aydınlatılmaya çalışılmıştır.



Şekil 10. Kanser ve inflamatuvar hastalıklarda timokinon hedefleri (Woo ve ark., 2012)

Özetleyecek olursak, Timokinon;

1) Antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri

- a) Bağışıklık sistemi hastalıklarına karşı; diyabet, artrit, astım
- b) Serbest radikal süpürücüsü olarak
- c) Antioksidan enzimlere modülasyonu
- d) NF-κB (nükleer faktör kappa B) ve STAT3 (signal transducer and activator of transcription) transkripsiyon faktörlerine
- e) Proinflamatuar etki, sitokinler ve diğer büyüme medyatörlerine

2) Antikanser etkileri

- a) Hızlı çoğalmayı önleme
- b) Kanser hücrelerinde hücre siklusunu durdurma, tümörü baskılama
- c) Kanser hücrelerinde apoptozisi uyarma (kaspaz aktivasyonu)
- d) SOR üretimi; Akt (serin treonin protein kinaz B)
- d) Daha büyük kemoterapik etki sağlar

e) Kemoterapik etkisi ve kemoterapik ilaçların yan etkisine karşı koruyuculuğu (toksisiteyi azaltır)

f) Antimetaztaz (başka dokulara yayılımına engeller) ve antianjiyogenezi (damar genişlemesini) sağlar

g) MAPK (mitogen activated protein kinase: mitojen aktiviteli protein kinaz) ve diğer PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptors gamma: peroksizom çoğalmasını aktive eden reseptör gama) potansiyel geçitlere etkisi

3) Toksik ilaçlar üzerine koruyucu etkisi (Woo ve ark., 2012).

Antioksidan Etkisi: Ortaklanmamış elektronları nedeniyle oldukça kararsız bir yapı gösteren serbest radikallerin biyolojik yapılarda meydana getirdiği oksitleyici hasarlar, özellikle kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Serbest radikaller elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranı içinden geçerek vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girer ve yıkım oluştururlar (Salem, 2005).

Timokinon, serbest radikal, süperoksit radikali yakalayıcısı olarak hareket eder. Katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitesini korur (Woo ve ark., 2012).

Rat hipokampusde geçici önbeyin iskemisine karşı TQ'nun nöroprotektif etkisi araştırılmış ve iskemik ratlara TQ verilmesiyle yüksek MDA seviyesinde azalma ile normal seviyedeki GSH, katalaz, SOD aktivitelerinde artma görülmüştür. TQ'nun koruyuculuğu, oksidatif strese dayanıklılığı artıran metabolit içeriğidir. Non enzimatik lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Al-Majed ve ark., 2006).

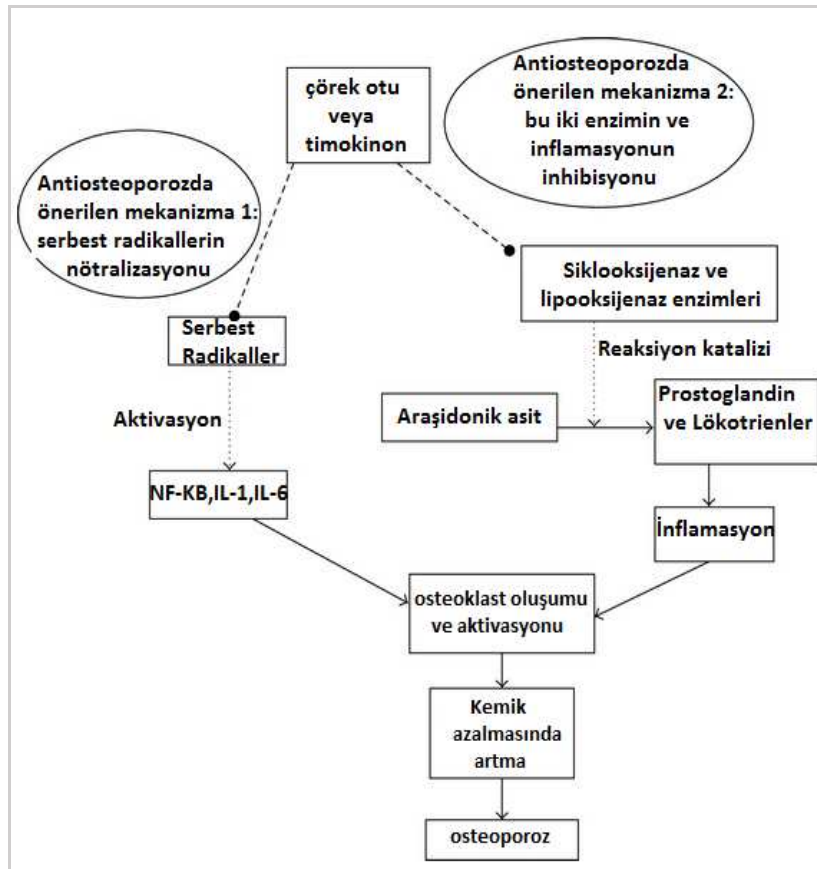
Yapılan bir çalışmada TQ'nun rat kası periferik iske mi reperfüzyon hasarlarında, oksidatif stresi önemli derecede azalttığı ve kas iskemik yaralara karşı koruyucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Hosseinzadeh ve ark., 2012).

Antialerjik Etkisi: TQ, alerjik hastalıkların tedavisinde de kullanılmıştır. Nigella sativa tohumunun bileşenlerinin antialerjik özellikleri antihistaminik etkileriyle ilişkilendirilebilir. Histidin esansiyel bir aminoasittir ve dekarboksilaz ile piridoksal

fosfat aracılığıyla histamine dönüşür. Histaminin aşırı salgılanması vücutta alerjik reaksiyonlara sebep olur (Yanaroğlu, 2011).

Timokinon, kobaydan izole edilen trakeal ve ince bağırsak düz kaslarında histamin ve serotoninin baskılayıcı etkilerini tamamen kaldırmıştır. Timokinonun bu etkilerinin en azından kısmen araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz üretiminin inhibisyonu ve belki de histamin ve serotonin reseptörlerinin non selektif blokajı aracılığıyla olabileceği düşünülmüştür (Ali ve Blunden, 2003; Al-Majed ve ark., 2001; Kanter ve ark., 2003a; Salem, 2005; Ragheb ve ark., 2009).

Antiinflatuar Etkisi: İnflamasyon, siklooksijenaz (COX) ve lipooksijenaz (LO) olmak üzere başlıca iki enzim tarafından düzenlenmektedir. Bunlardan COX yolunda prostaglandinler sentezlenirken, lipooksijenaz yolunda ise lökotrienler sentezlenmektedir ki bunlar alerji ve inflamasyonda görev almaktadırlar (Güllü ve Avcı, 2013).



Şekil 11. TQ'nun antiinflatuar aktivite basamağı (Shuid ve ark., 2012)

TQ'nun antiinflamatuvar aktivitesi, kemik erimesi tedavisinde oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkili olarak rol oynar. Nükleer faktör kapa B İnterlökin 1 ve 6 gibi inflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği görülmüştür. İnflamasyon ve serbest radikallere ait iki geçit, kemik resorpsiyon aktivasyonu ile osteopozun sebebini göstermektedir. NS veya TQ ile bu iki yolağın inhibisyonu, osteoporozun önlenmesinde gerekli mekanizma sayılabilir (Shuid ve ark., 2012).

TQ, apoptozisi uyarır ve pankreatik kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe eder. TQ hatta p21, WAF1 ekspresyonunu artırır, histon deasetilaz (HDAC) aktivitesini inhibe eder, histon hiperasetilasyonu uyarır. HDAC inhibitörlerinin kanserle ilgili inflamasyonu iyileştirdiğini göstermektedir. TQ'nun pankreatik kanser hücrelerinde (PDA) antiinflamatuvar potansiyelinin incelendiği çalışmada, TQ'nun, NFκB'nin inhibisyonuna paralel olan pankreatik kanser hücrelerinde antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur. Proinflamatuvar yolağın yeni bir inhibitörü olarak TQ, proapoptotik durumun aktivasyonu antiinflamatuvarla birleşmesiyle ümit verici strateji sağladığı bildirilmektedir (Chehl ve ark., 2009). TQ, NFκB'nin sitozolden çekirdeğe taşınımını azaltır. Pankreatik kanser hücrelerinde NFκB'nin TNF-α aracılı aktivasyonunu inhibe eder. TQ, MCP-1, TNF-α, interlökin (IL)-1β ve Cox-2'nin PDA hücrelerinde sentezini azaltır. TQ bu sitokinlerin ekspresyonunu tamamiyle ortadan kaldırır (Chehl ve ark., 2009).

Timokinon analjezik etkisini siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yolağının inhibisyonu ile sağlar (Mutabagani ve ElMahdy, 1997; Swamy ve Tan, 2000; Salama, 2010).

İmmunolojik Etkisi: Yapılan in-vitro araştırmalar, timokinonun yılan ve akrep zehirlerinin hemolitik etkisini önlediğini; eritrositleri lipit peroksidasyonuna, protein denatürasyonuna, H₂O₂'nin sebep olduğu artan ozmotik kırılabilirliğe karşı koruduğunu ve laringeal karsinoma hücrelerini, lipopolisakkarit veya kortisol tarafından indüklenen apoptosisten koruduğunu göstermiştir (Salem, 2005).

Mohany ve ark. (2012), yaptığı çalışmada TQ takviyesinin, immun etkiyi artırdığı, oksidatif stresi azaltarak böcek ilacı toksisitesinde iyileşme sağladığı gösterilmiştir.

Timokinin, IL4, IL5 ve IL13 inhibisyonunda önemli ölçüde etki gösterir. Timokininin, Th2 sitokinlerinin inhibisyonu yoluyla alerjik havayolu ile bulaşan inflamasyonu ve havadaki eozinofil infiltrasyonunu azalttığı ileri sürülmektedir. Bu durum timokininin akciğerlerdeki alerjik cevap sırasındaki potansiyel antiinflamatuvar rolünü göstermektedir (El Gazzar ve ark., 2006).

Medenica ve ark. (1993), çörek otu tohum ekstraktının CD3, CD4 ve CD8 yüzey antijenlerini artırdığı kadar immun sistem ile ilgili hücrelerin sayılarını da artırdığını göstermişlerdir.

Antitümöral ve Antikanserojenik Etkisi: Hücrelerinin sürekli ve kontrolsüz olarak çoğalması olarak tanımlanan kanser, hücrelerin çoğalmasından, farklılaşmasından ve hücre döngüsünü kontrol eden genlerde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır (Güllü ve Avcı, 2013). N. sativa tohumları, yağları veya TQ gibi aktif içerikli maddeler farklı kanser türlerine karşı etkilidir (Khan ve ark., 2011).

Woo ve ark. (2012), timokininin antikanser etkisini incelemek için kolon, prostat, pankreas ve akciğer kanserli rat tümör modellerinde moleküler hedefleri üzerine araştırma yapmışlar ve temel olarak üç kısma ayırarak incelemişlerdir; TQ'nun;

- 1) Antioksidan ve antiinflamatuvar (iltihap giderici) etkisi
- 2) Antikanser ve kemoterapi yan etkisine karşı
- 3) Toksik ilaçlar üzerine koruyucu etkisi mevcuttur.

Timokininin antikanser etkisi; hızlı çoğalmayı önleme, apoptosisi başlatma, hücre siklusunu durdurma, ROS üretimi, yayılmayı önleme, damar genişlemesini içeren değişik şekillerle kendini gösterir. Ayrıca timokinin p53, p73, PTEN (phosphatase and tensin homolog: fosfataz ve tensin homolog), STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3: sinyal iletilici ve transkripsiyon 3 aktivatörü), PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptors: peroksizom çoğalmasını aktive eden reseptör), kaspaz aktivasyonu ve ROS (reactive oxygen species: reaktif oksijen türleri) üretimini içeren

çoklu moleküler hedefleri geçişi sayesinde antikanser aktivite sergilediği bulunmuştur. TQ'nun, P53 yolaklarında apoptozisi uyardığı görülmüştür (Woo ve ark., 2012).

P53, PTEN, STAT3'ün, TQ ile apoptotik uyarma etkisinde gerekli olduğu bulunmuştur. STAT3 (sinyal iletili ve transkripsiyon 3 aktivatörü), çoğalma, apoptozis, anjiyogenez, metastaz ve bağışıklık yanıtında hücrelerde farklılığa neden olan transkripsiyon faktörlerini düzenler (Johnston and Grandis, 2011).

Yapılan çalışmalarda timokinonun pek çok kanser türünde hücre çoğalmasını durdurucu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Araştırmalar; TQ'nun göğüs ve yumurtalık adenokarsinomu (Shoieb ve ark., 2003), kolorektal kanser (Gali-Muhtasib ve ark., 2004a), neoplastik keratinositler (Gali-Muhtasib ve ark., 2004b), insan osteosarkomu (Roepke ve ark., 2007), fibrosarkoma, akciğer karsinomu, prostat kanseri (Kaseb ve ark., 2007) gibi pek çok kanser çeşidinde hücrelerin proliferasyonu üzerine inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (Kaseb ve ark., 2013).

Akciğer, karaciğer, kolon, melanoma tümörlerinden türetilen hücreler, artan TQ konsantrasyonuna maruz kalması ile DNA hasarına yol açan Akt fosforilasyonu inhibisyonuna, proapoptotik yolağın mitokondriyal sinyal aktivasyonu sayesinde çoğalması önemli bir engellemeyle sonuçlanmıştır. Sonuç olarak TQ'nun nontoksik konsantrasyonları kanser hücrelerinin yayılma potansiyellerini engeller. Tümör büyüme inhibisyonu kaspaz-3 aktivasyonunda önemli bir artışla ilişkilidir (Attoub ve ark., 2012).

Antidiyabetik Etkisi: Diyabetik hastalara, diyabete bağlı olarak uzun dönemde oluşan komplikasyonlardan korumak amacıyla vitamin tedavisi yapılmakta, bununla birlikte özellikle antioksidan özelliği olan gıdaların tüketilmesi önerilmektedir. Antidiyabetik etkisi bilinen bu bitkisel ilaçlardan birisi de çörek otu uçucu yağının temel biyoaktif bileşeni olan timokinondur (Yanaroğlu, 2011).

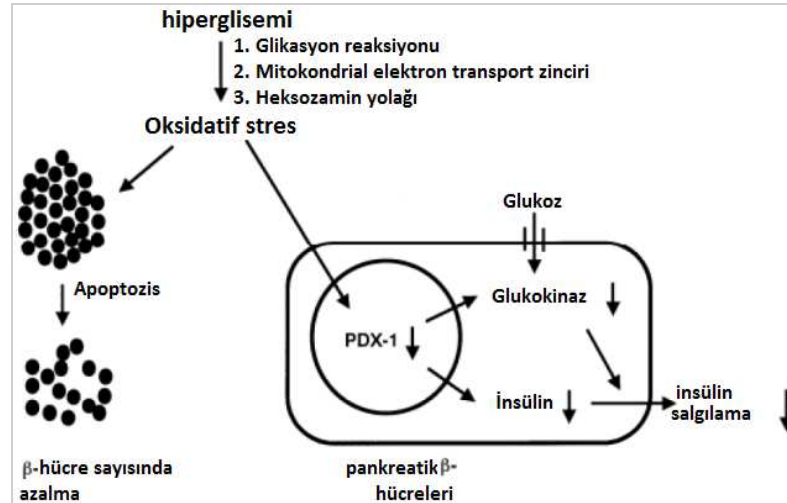
Timokinon tedavisinin oksidatif stresi azaltarak ve pankreatik β -hücre yoğunluğunu koruyarak diyabete terapötik açıdan koruyucu etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Kanter ve ark., 2004).

Nigella sativa yağının temel bileşeni timokinon, kademeli olarak pankreatik β -hücre çoğalması ve yenilenmesini sağlayarak insülin sekresyonunu artırarak glukoz kullanımında artışa ve hepatik glukoz üretiminde azalışa sebep olur (Kanter ve ark., 2003b).

TQ ile muamele edilen diyabetik farelerin plazma glukoz konsantrasyonlarında ve HbA1c değerlerinde önemli ölçüde düşüş ve insülin düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, hegzokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrojenaz, glukoz 6-fosfataz ve fruktoz 1,6-bisfosfataz gibi karaciğer enzimlerinde de olumlu değişikliklere neden olmuştur (Pari and Sankaranarayanan, 2009).

N. sativa'nın temel etken maddesi timokinonun antidiyabetik etkisinin kısmen hepatik glukoneogenez aracılığıyla olduğu gösterilmiştir. Hepatik glukoneojenezde bir azalma gözlenmiştir (Fararh ve ark., 2005).

TQ, potansiyel glikasyon ajanlarına karşı diyabetik komplikasyonların azalmasında koruyucu etkiye sahiptir (Khan ve ark., 2014). TQ, antioksidan mekanizması yoluyla serum/glukoz yoksunluğu sitotoksitesine karşı PC12 hücrelerini koruduğu sonucuna varmışlardır (Mousavi ve ark., 2010).



Şekil 12. Oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması (Kajimoto ve Kaneto, 2004)

Diabetes mellitusun uzun süreli komplikasyonlarının çok iyi tanımlanmış bir patojenik faktörü olan hiperglisemi, sadece daha fazla ROS üretmekle kalmaz, aynı

zamanda, antioksidan süpürücü enzimlerin glikasyonu ile antioksidatif mekanizmaları da zayıflar. Hiperglisemi ile ilişkili oksidatif stres için önerilen mekanizmalar; glukoz otooksidasyonu, ileri derecede glikozilasyon son ürün oluşumu ve hiperglisemiden kaynaklanan metabolik strestir (Ha ve Kim, 1999). Diyabette glukoz toksisitesine bağlı olarak gelişen oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması görülmektedir. Diyabetik şartlarda, nonenzimatik glikozilasyon reaksiyonları, mitokondride elektron transport zinciri, heksozamin yolağı gibi çeşitli işlemlerle reaktif oksijen türleri üretilir. Oksidatif stres, diyabette bulunan pankreatik beta hücre fonksiyon bozukluğunun ilerlemesine yol açar (Kajimoto ve Kaneto, 2004).

Çörek otunun etken maddesi olan timokinonun enerji metabolizması üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada 4 haftalık TQ uygulaması sonrasında kan şekeri, kolesterol ve trigliserid düzeylerinin önemli derecede düştüğü, insülin düzeyinin de yükseldiği tespit edilmiştir. Timokinonlu diyabetik ratların lökositlerinde sitozolik ve mitokondriyal malat dehidrojenaz aktivitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir (Fararh ve ark., 2010).

TQ'nun diyabetin neden olduğu oksidatif stresin azalmasında ve β -hücre bütünlüğünün korunmasında tedavi edici etki gösterdiği ve bunun sonucunda da TQ'nun oksidatif strese karşı β -hücrelerinin korunmasında klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (Kanter, 2009b).

TQ'nun (3 mg/kg, 3 gün) insüline bağlı diyabette (Tip 1) STZ'nin toksik etkisini indirgeyerek patojenik prosesi azaltmada etkili olabileceği, insüline bağlı olmayan diyabette (Tip 2) ise yüksek glukoz düzeylerini normalize ederek iyileştirici etkiye sahip olabilecekleri belirtilmiştir. TQ'nun bu etkisi serbest radikalleri toplayıcı ve sitoprotektif özelliklerine bağlanmaktadır (El- Mahmoudy ve ark., 2005a).

STZ'li diyabetik ratlarda serum insülin ve glukoz konsantrasyonları üzerine N. sativa su ekstraktı, N. sativa yağı ve timokinonun etkisi araştırılmıştır. Biyokimyasal bulgularda farklı miktarlarda Nigella sativa ekstraktı ve timokinonun oksidatif stresi azalttığını, diyabete karşı koruyucu ve terapik etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. Böylece Nigella sativa ve timokinonunun, oksidatif strese karşı β -hücrelerinin

korunmasında ve diyabet tedavisinde kliniksel olarak yararlı olduğu kanıtlanmıştır (Abdelmeguid ve ark., 2010; Abdelmeguid ve ark., 2011).

Badr ve ark. (2013), ratlarda yaptıkları çalışmada, gebelik ve laktasyon süresince diyabete maruz kalan annelerin yavruları diyabetik olmayan annelerden doğan yavrularla kıyasla yavruların sonraki yaşamlarında yedi kat fazla sağlık komplikasyonlarına maruz kaldıklarını tespit etmişlerdir.

Gebelik ve laktasyon süresince diyabetli annelere besinsel timokinon verilmesiyle yavrularında etkili T hücre bağışıklık yanıtı gözlemlenmiş ve diyabetik komplikasyonlarında düzelme ve yavruların sonraki yaşamlarında koruyucu bir etki sağladığını tespit etmişlerdir. Doğum öncesi TQ takviyesi sıçan yavrularında diyabetik komplikasyonları azaltmış ve T hücre immün yanıtlarını geliştirmiştir (Badr ve ark., 2011).

TQ'nun Tip 1 ve Tip 2 diyabette makrofaj türevi sitokin ve nitrik oksit profillerine etkisini incelemişler. Tip 2 diyabette makrofaj inflamatuvar ürünlerinde azalma, Tip 1 diyabette artma eğilimi olduğu ve TQ bu inflamatuvar medyatör seviyelerini yükselterek normalize yeteneğine sahip olduğu sonucuna varmışlardır (El-Mahmoudy ve ark., 2005a).

Klinik çalışmalarda, gelecekte TQ'nun diyabetin kontrolü ve önlenmesinde sentetik analoglarının üretilmesinde potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır. (Mathur ve ark., 2011). Nitrik oksit (NO), STZ ile Tip 1 diyabet geliştirme esnasında β -hücrelerinin yıkımına neden olur. Diyabetlilerde serum ve pankreatik nitritler artar. Bu ratlara TQ verildiğinde serum ve pankreatik nitritleri azalttığı görülmüş. Sadece NF κ B aktive etmez aynı zamanda p44/42 ve p38 mitojen aktiviteli protein kinazı (MAPKs) önemli derecede inhibe eder. Nitrik oksit sentaz ve NO üretiminde transkripsiyonel mekanizmaya katkı sağlar. NO sentaz uyarılarını baskılamıştır. Bu veriler timokinonun NO inhibitör geçidi yoluyla Tip 1 diyabetin gelişimine karşı koruyucu etkisi ile antioksidan etkiye sahip olduğunu vurgular. Böylece diyabet tedavisinde TQ'nun hipoglisemik etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir (El-Mahmoudy ve ark., 2005b).

Antihepatotoksik Etkisi: N. sativa, timokinon hepatositlerde insülin sekresyonunu aktive eder (Mathur ve ark., 2011).

Timokinonun hayvan deneylerinde kimyasal olarak oluşturulan hepatik hasara karşı etkili bir sitoprotektif ajan olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (Al-Shabanah ve ark., 1998; Daba ve Abdel-Rahman, 1998; Kanter ve ark., 2003b).

Asetaminofen uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ratlarda TQ tedavisinin etkisi araştırılmış ve antioksidan sistemi artırıcı önemli terapötik etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır (Aycan ve ark., 2014).

Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkisi: N. sativa tohumları gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Ali ve Blunden, 2003). Başka bir çalışmada tohumların sulu ekstresinin, asetil salisilik asit verilen ratlarda mide özsuynun asidik içeriğini azaltarak (%36) antiülser aktivite gösterdiği saptanmıştır (Akhtar ve ark., 1996). Tohum yağı ve timokinonun gastrik mukozal durumu korumayla bağlantılı olarak gastrik lezyonlara karşı gastroprotektif etkiler gösterdiği bulunmuştur (El-Abhar ve ark., 2003). Etanol uygulanmış ülserli ratlarda N.sativa musin içeriği ve glutasyon seviyesinde önemli bir artış, mukozal histamin içeriğinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (El-Dakhkhny ve ark., 2000).

2.3. 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG); serbest radikaller aracılığıyla ve doğrudan fotodinamik aksiyonla oluşan, oksidatif olarak hasara uğramış bir DNA ürünüdür. 8-OHdG, en yaygın oksidatif DNA hasarı biyomarkındır. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin mutasyona yol açan, deoksiguanozinin oksidasyonu ile üretilir. Guanozinin hidroksilasyonu; hem normal metabolik süreçlere hem de bir dizi çevresel faktörlere cevaben meydana gelir. 8-OHdG miktarının artışı; yaşlanma sürecinin yanında, kanser, diyabet ve hipertansiyon dâhil birçok patolojik duruma bağlı olarak meydana gelebilir. Muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA, serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atak için en önemli hedeftir (Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Shen ve ark., 2007).

8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kabul edilmektedir (Dizdaroğlu, 1992).

Serbest radikaller, hücresel metabolizma sırasında veya ekzojen ajanlarla meydana gelen kimyasal ürünlerdir. Bu ürünler hücrelerde DNA, protein, lipid, karbonhidratlar gibi biyomoleküllerle etkileşime girmekte ve sonuçta meydana gelen oksidatif DNA hasarı mutajenite, karsinojenite ve yaşlanmaya yol açmaktadır. Bu hasar mekanizması, karbon merkezli şeker radikallerinin ve OH- veya H- bağlanmış heterosiklik baz radikallerinin oluşumuna yol açan, serbest radikallerin ayrılma ve birleşme tepkimelerinden ibarettir (Atmaca ve Aksoy, 2009).

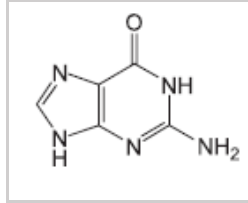
Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır. Genomik DNA’nın bütünlüğü çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli olarak tehdit altındadır. DNA da oluşan başlıca hasarlar; kromatin yapısının bozulması, DNA bazlarının oksidasyonu, yanlış eşleşmesi ve tubulin polimerizasyonunun baskılanması, bazların kimyasal olarak değişmesi, kromatin yapısındaki anomaliler, DNA zincirinin kırılması, DNA-DNA ve DNA-protein çaprazlaşmaları, DNA da mutasyonlar gibi bir takım yapısal bozulmalardır (Turner ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007).

2.3.1. DNA, yapısı ve önemi

Deoksiribonükleik asit (DNA), kalıtım molekülüdür. Çok sayıda deoksiribonükleotid birimlerinden oluşmuş çok uzun ipliğimsi bir makromoleküldür. DNA moleküllerinin nükleotid monomer sayıları ve dizilişleri canlı türüne göre farklılık gösterir. Zincir yapısı verilen DNA’nın değişken kısmı baz sırasıdır. DNA dört çeşit baz ihtiva eder; adenin(A) ve guanin (G) pürinleri ile timin (T) ve sitozin (C) pirimidinleri (Keha ve Küfrevioğlu, 2010).

2.3.2. Guanin

Pirimidin halkasına bir imidazol halkasının bağlanmasıyla pürin bazlar oluşur. Nükleik asitlerin yapısında bulunan en önemli pürin bazları adenin ve guanindir (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2008).



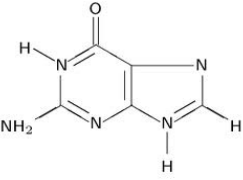
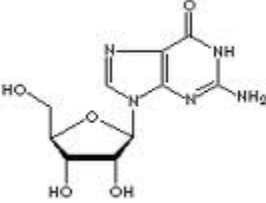
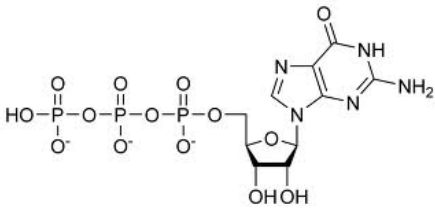
Şekil 13. Guanin (Wu ve ark., 2004)

2.3.3. Guanosin

Pürin veya pirimidin bazlarının, bir riboz veya bir deoksiriboz şekerine bağlanmasıyla nükleositler oluşur. Bir nükleositte pentozun anomerik 1 no'lu karbonu, pirimidinin 1 no'lu, pürinin ise 9 nolu azotuna N-glikozit bağı ile bağlanmıştır.

Nükleositler ihtiva ettikleri pentozun cinsine göre nükleositler ve deoksiribonükleositler olmak üzere ikiye ayrılır. Başlıca nükleositler; adenozin, guanozin, timidin ve sitidindir (Keha ve Küfrevioğlu, 2010).

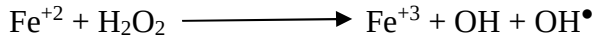
Nükleositler içerdikleri baza göre isimlendirilirler. Guanin pürin bazı ile oluşan nükleosite guanozin denir (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Baz	Nükleosit	Nükleotid
Guanin	Guanozin	Guanozin trifosfat GTP
		

Şekil 14. Guanin ve bağlı nükleosit ve nükleotid (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2008)

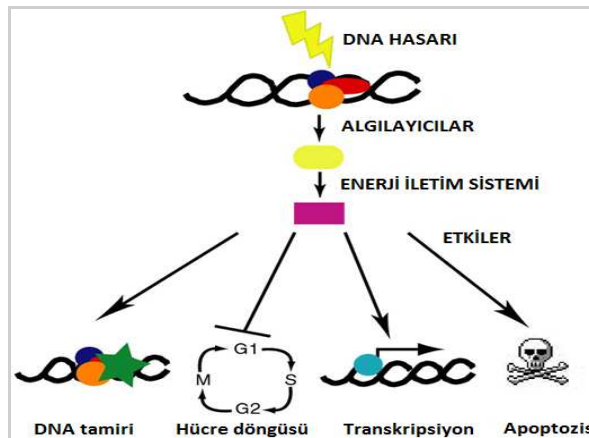
2.3.4. DNA hasarı, nedenleri ve önemi

Yapılan çeşitli araştırmalarda, süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) ve onun dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) doğrudan DNA ile eşleşerek baz oksidasyonuna ve zincir kırıklarına yol açmadığı, ancak geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oluşan ve en reaktif ve zarar verici bir serbest radikal olan hidroksil radikalinin DNA hasarı oluşturduğu gösterilmiştir (Aruoma ve ark., 1989).



$OH^{\bullet}$ aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiğinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna sebep olur. Bununla beraber $OH^{\bullet}$, DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olur (Dizdaroğlu, 1991).

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen, mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca hücre metabolitler (ROS) ve ekzojen ajanlar tarafından sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Bu değişimler sonuçta tek hücreli organizmalarda hücre ölümüne veya çok hücreli organizmalarda dejenerasyon ve yaşlanmaya sebep olabilir (Sancar ve ark., 2004). Bu yüzden, bütün canlı hücreler, süreçleri boyunca nesillere değişmeden aktarılması gereken DNA molekülünü koruma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir (Müftüoğlu, 2003).



Şekil 15. DNA hasar cevabı sinyal iletim yolağı genel taslağı (Zhou and Elledge, 2000)

Bu yolaklar, hücre siklusunu durdurma (Gatei ve ark., 2000), apoptozis (Hirao ve ark., 2000), DNA tamir ağı aktivasyonu (Martin ve ark., 1999), transkripsiyonal program aktivasyonu (Elledge, 1996), şeklinde cevapları düzenler.

Oksidatif DNA hasar belirtici olarak sıklıkla baz hasarlarının analizi yapılmaktadır. ROS'un DNA'da yaptığı bu baz hasar ürünlerinden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG'dir (Atmaca ve Aksoy, 2009).

Çeşitli nedenlerle reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması sonucu oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif stres sonucu serbest radikaller, özellikle de OH• radikali farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003).

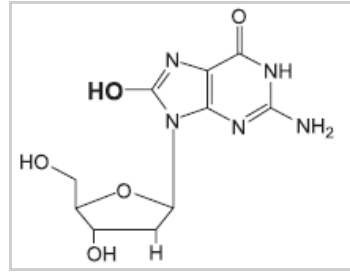
DNA oksidasyonunun bir ölçüsü olarak 8-OHdG'nin ortaya çıkışı, genellikle şeker hastalığı, kalp damar hastalıkları ve kanserde sıklıkla gözleendiğinden oksidatif DNA hasarının takibinde yeni bir yol açmıştır. Nükleer ve mitokondriyal DNA, oksidatif hasarın ortak bir hedefidir. Guanin, molekülün 8. karbon atomuna bir hidroksil grubunun katılmasıyla oksidasyona en meyilli nükleik asittir (Prabhakar ve ark., 2007).

Diyabetli bireylerde lipid peroksidasyonunun arttığı bilinmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda; 8-OHdG, malondialdehit (MDA) gibi biyomarkırların ölçümü, organizmalardaki oksidatif stres durumunu belirlemek için önemlidir (Piconi ve ark., 2003). Tip 2 diyabet hayvan modellerinde yanı sıra Tip 2 diyabetik hastalarda oksidatif stres markırı 8-OHdG'nin kan seviyesi artar (Dandona ve ark., 1996).

Mitokondriyal oksidatif stres yaşlanma sırasında apoptozun intrinsik yolunun aktivasyonunda anahtar rol oynamaktadır. Apoptoz veya programlı hücre ölümü çok hücreli organizmalarda normal gelişme ve homeostaz için gereklidir. Reaktif oksijen molekülleri DNA'da 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açar (Dizdaroğlu, 1998). Bu hasara uğrayan bazlar arasında 8-OHdG oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirticidir (De Martinis ve De Lourdes, 2002).

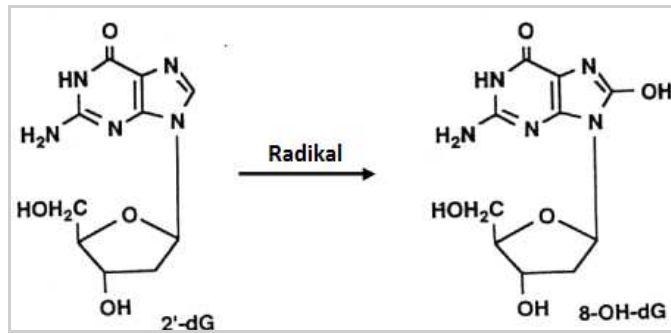
2.3.5. 8-OHdG oluşum mekanizması

Reaktif oksijen türleri DNA'da 100'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşumuna neden olmakla beraber, en sık bozukluk guanozin biriminde gözlenir. 8-OHdG, adenin ile yanlış eşleşir ve yüksek sıklıkta G-T transversiyonuna neden olur (Williams ve Jeffrey, 2000; De Martinis ve De Lourdes, 2002; Cooke ve ark., 2003; Turner ve ark., 2004).



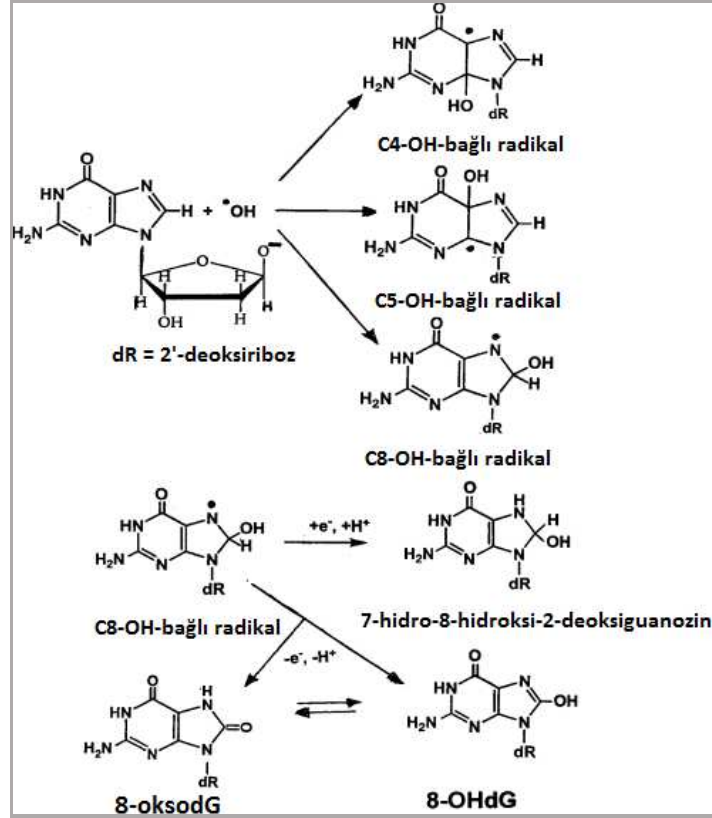
Şekil 16. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) (Wu ve ark., 2004)

8-OHdG modifiye bir bazdır. Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır (McDorman ve ark., 2005). Oksidatif yıkım sonucu deoksiguanozin oluşur, dG (deoksiguanozin) dört doğal nükleotid içinde en kolay okside olandır. Belirlenen bölgelerde lezyonlar içeren oligonükleotidlerin biyokimyasal, biyofiziksel ve biyolojik incelenmesi, DNA lezyonlarının etkileri için bir moleküler temel oluşturmaktadır (Greenberg, 2004; McDorman ve ark., 2005). Serbest radikallerden en yüksek reaktiviteye sahip hidroksilin guaninin 8. karbon atomuna radikal atakları sonucu oluşur (şekil 17).



Şekil 17. Oksijen radikalleri ile 8-OHdG oluşumu (Ercan ve Fidancı, 2012)

OH radikali, guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerini oluşturur. OH- radikalının C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8-OH) bir elektron ve proton kaybederek 8-OHdG'e okside olur (De Martinis ve De Lourdes, 2002; Yokuş ve Çakır, 2002).



Şekil 18. 8-OHdG oluşum mekanizması (Valavanidis ve ark., 2009)

2.3.6. 8-OHdG'in oluşum nedenleri

DNA sürekli ekzojen kaynaklı ve endojen oksidanlardan gelen oksidatif hasara maruz kalır. Bu nedenle endojen ve ekzojen kaynaklı, oksidatif hasara yol açabilen her tür etkenin DNA hasarına ve dolayısı ile 8-OHdG oluşumuna neden olması beklenebilir. Nitekim çeşitli kimyasal maddelerin 8-OHdG düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmektedir. Etil alkol, 3-metilalkol-4-dimetilaminoazobenzen, demir nitrilotriasetat (Fe-NTA), asbestos gibi kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulanmasından sonra, yemek borusu, karaciğer, böbrek ve akciğerde, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Kasai, 2002). Doku DNA'sında 8-OHdG oluşumunun, oksidatif stresin karsinogenezisin oluşum mekanizmalarından biri olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca sigara, kadmiyum, mazot (dizel) gibi günlük hayatta sıkça maruz kalınan kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulandığı çalışmalarda da 8-OHdG düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Kasai, 2002).

2.3.7. 8-OHdG düzeylerinin klinik önemi

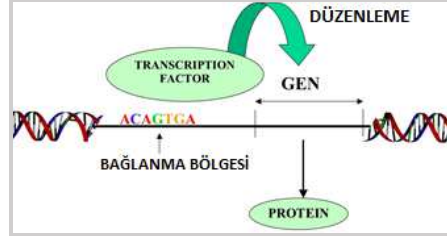
DNA hasarı, yaşlanma ve kanser gibi pek çok farklı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır (Greenberg, 2004). Bağırsak kanseri, diyabet, Alzheimer hastalarında, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (Kasai, 2003; Nakano ve ark., 2003).

Oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarının bir belirteci olan 8-OHdG'in, artan miktarına bağlı olarak idrarla da atıldığı bilinmektedir. Üriner 8-OHdG ölçümü oksidatif hasarın bir indikatörü olarak yararlı olabilir (Shigenaga ve ark., 1989; Chiou ve ark., 2003).

2.4. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)

2.4.1. Tanımı ve yapısı

İlk kez 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından keşfedilen Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür (Baldwin, 2001). NF-κB başlangıçta, farelerde B lenfositlere özgü immunoglobulin κ hafif zincir (light chain) geninin ekspresyonunu düzenleyen bir protein olarak tanımlanmıştır (Sen ve Baltimore, 1986). Transkripsiyon faktörleri, kısa ömürlü regülatör proteinlerdir. Aktiviteleri ubiquitin sistem aracılı proteoliz tarafından kontrol edilir. Bunlardan birisi de NF-κB'dir (Güney ve Bilgihan, 2002). Transkripsiyon faktörleri DNA'daki genetik bilgiyi okuyup yorumlayan protein gruplarından biridir. Transkripsiyon faktörleri DNA'nın belli bölgelerine bağlanarak genin ekspresyon seviyelerine etki ederler ve genlerin etkileşimi için oldukça önemlidirler. DNA'ya bağlanırlar ve gen transkripsiyonunun artması veya azalmasına yol açarlar. Bu bakımdan pek çok önemli hücresel süreçte hayati bir konuma sahiptirler (Anonim, 2014h).



Şekil 19. Transkripsiyon faktörü protein üretimini düzenler (Stower, 2013)

NF- κ B, bir protein kompleksidir. NF- κ B ailesinin üyesi olan beş protein saptanmıştır:

Tablo 5. NF κ B proteinin sınıflandırılması (Anonim, 2014ı)

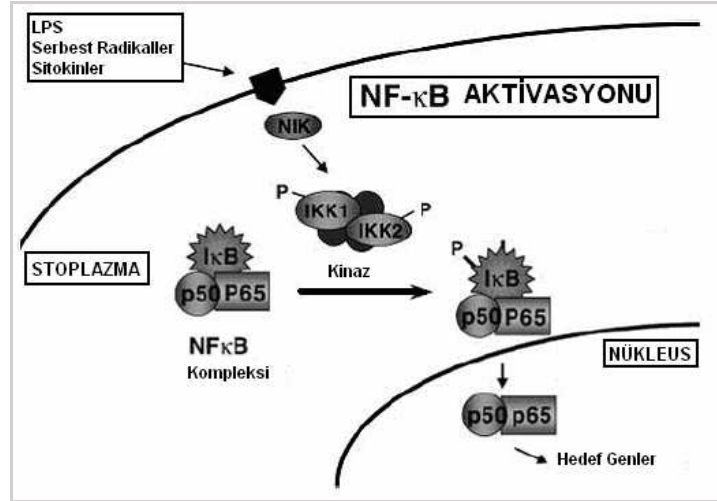
Sınıf	Protein	Diğer isimleri	Gen
I	NF- κ B1	P105- p50	NFKB1
	NF- κ B2	P100-p52	NFKB2
II	RelA	P65	RELA
	RelB	-	RELB
	C-Rel	-	REL

Sentez edilme şekilleri, yapıları ve fonksiyonları itibarı ile protein ailesi iki grupta incelenmektedir. Birinci grupta p50 (NF κ B1) ve p52 (NF κ B2) adı verilen ve proteolitik bir prosesle üretilen Rel homodimerleri yer almaktadır. Burada Rel A (p65), Rel B, c-Rel adı verilen proteinler bulunmaktadır (Schoonbroodt ve Piette, 2000).

Beş adet NF- κ B polipeptidi homo- ve hetero-dimerizasyon yoluyla 15 adet transkripsiyon faktörü oluşturabilir (Hoffmann and Baltimore, 2006).

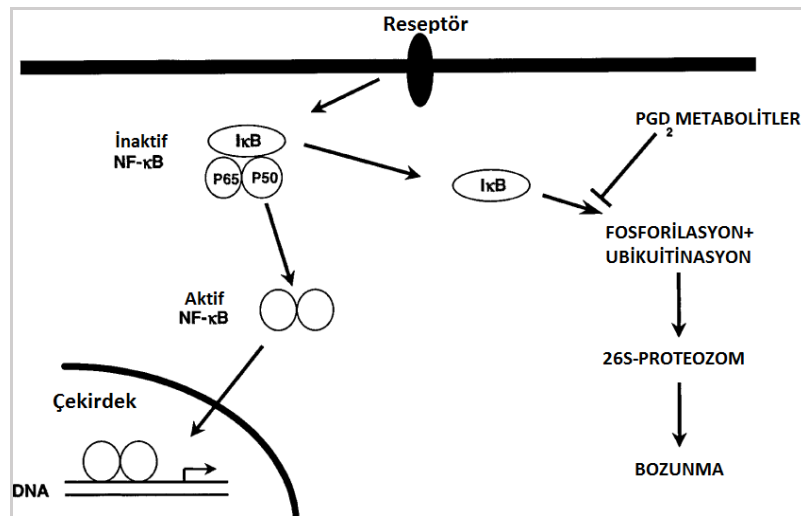
2.4.2. NF κ B'nin aktivasyonu

Transkripsiyon faktörü olan NF- κ B çok sayıda gen ekspresyonunu düzenleyen, akut inflamasyon gelişimi için kritik bir faktördür. NF- κ B, uyarılmamış hücrelerde sitoplazma içinde I-kappa-B proteinleri (I κ B α , β ve γ) adı verilen inhibitör proteinlere bağlı şekilde, sitoplazmada inaktif halde bulunmaktadır (Tak and Firestein, 2001).



Şekil 20. NFκB aktivasyon yolu (Tsoulfas and Geller, 2001)

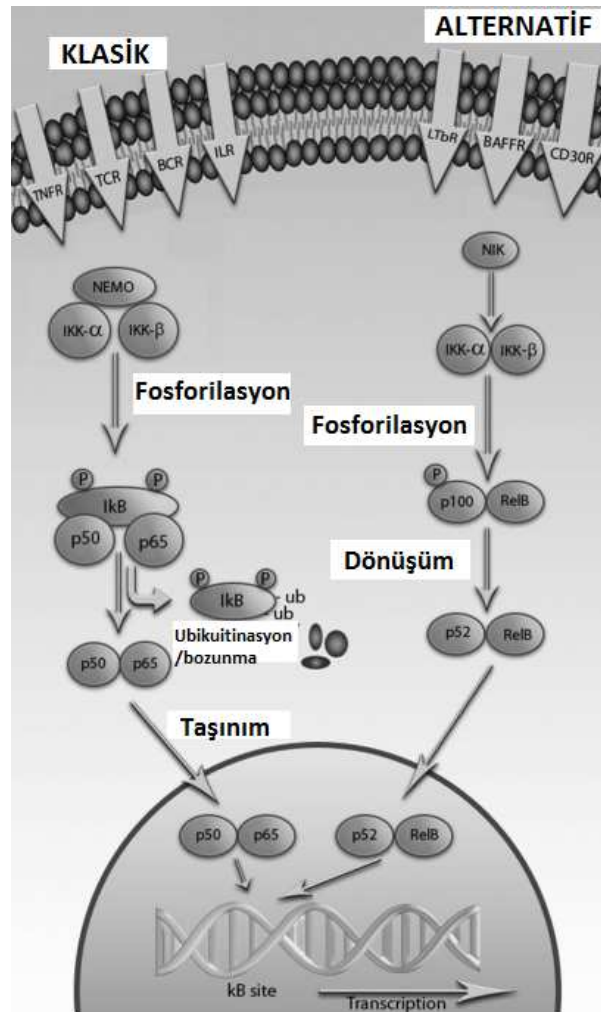
NFκB'nin aktivasyonu ile ilgili olarak üzerinde en çok odaklanılan dimeri olan p50/p65 dimeri, sitoplazmada IκB-α ile birlikte inaktif formda bulunmaktadır (Tak and Firestein, 2001). Ekstrasellüler sinyaller sonucu IKK kinaz (IKK) enzimlerinin düzenleyici alt üniteleri uyarılır ve sinyalleri algılayarak katalitik alt ünitelerine iletir. Bu durum inhibitör proteinlerin fosforilasyonu sonrası IκB'ler ubiquitinasyona uğrayarak proteolitik yolla yıkılırlar (Gilmore, 2003). Özetle, inflamatuvar uyarı sonucu (TNF-alfa, IL-1 beta ve reaktif oksijen bileşikler), I kappa B alfa spesifik kinaz aracılığıyla fosforillenir ve proteozomlarla parçalanır. IKK, IκBα proteinini fosforile eder, ubiquitinasyon sonucunda NF-κB'den IκBα ayrılır son olarak proteozom ile IκBα bozunur.



Şekil 21. IκB'nin parçalanması (Ward ve ark., 2004)

I kappaB alfa'nın parçalanması NF- κ B'nin açığa çıkmasına neden olur. Hücre sitoplazmasında I κ B proteininin yıkılımı ile I κ B- α 'dan ayrılan NF κ B aktive olmakta ve aktif hale gelen NF- κ B çekirdek zarını geçerek DNA zincirinde bulunan kendine özgü genlerin promotor bölgelerine bağlanarak gen transkripsiyonunu başlatır, bu şekilde çekirdeğe taşınmaktadır (Gilmore, 2003). Böylelikle, beta hücre kayıplarına neden olabilecek Fas, iNOS gibi moleküllerin gen ekspresyonlarını uyarmaktadır (Güney ve Bilgihan, 2002; Melloul, 2008).

NF κ B sinyal yolağı: NF- κ B sinyalizasyonu 2 yolla gerçekleşmektedir. Birinci yol NF- κ B1 (p50/RelA(p65)) tarafından başlatılan canonical (klasik) yol, diğeri ise NF- κ B2 (p52/RelB) tarafından başlatılan non-canonical (alternatif) yoldur (Bonizzi ve Karin, 2004) (Şekil 22).



Şekil 22. NF κ B klasik ve alternatif aktivasyon yolağı (Patel ve Santani, 2009)

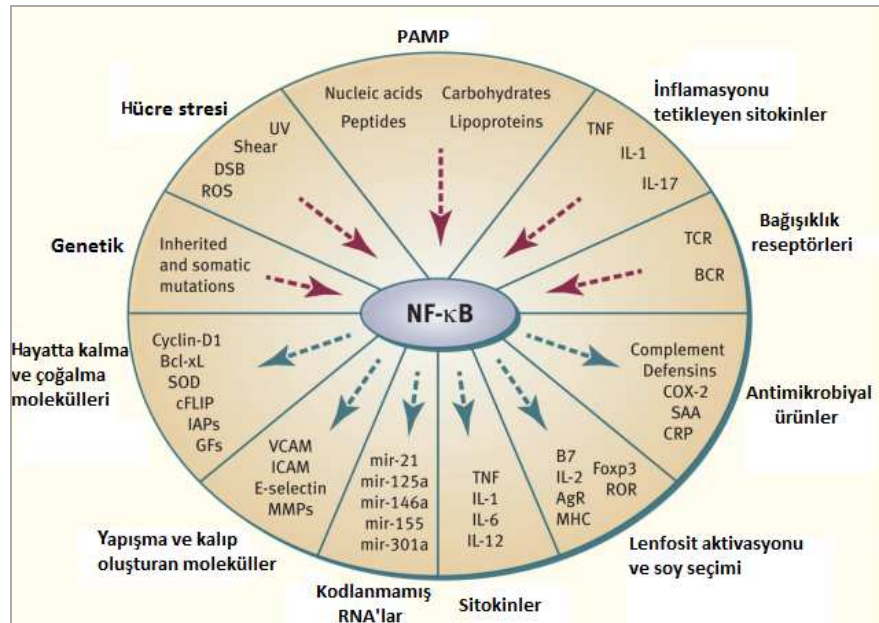
Klasik Yol: IκB kinaz (IKK) β ve IKK γ (NF-κB essential modulator, NEMO) bağımlıdır. NF-κB aktivasyonu IκB degradasyonu ile olur.

Klasik yolda; örneğin proinflamatuvar sitokin tümör nekroz faktör α (TNFα) IKK kompleksinin β altünitesini uyararak aktive eder (Brooks ve ark., 2000).

Alternatif yol: IKK α ve NF-κB inducing kinaz (NIK) bağımlıdır. P100 prekürsör proteinlerin çalışmasını regüle eder (Dejardin ve ark., 2002).

2.4.3. NFκB aktivasyonunun hücre biyolojisine etkileri

NF-κB aktive edici sinyaller ve NF-κB protein ailesinin düzenlediği hedef genler kısaca aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir.

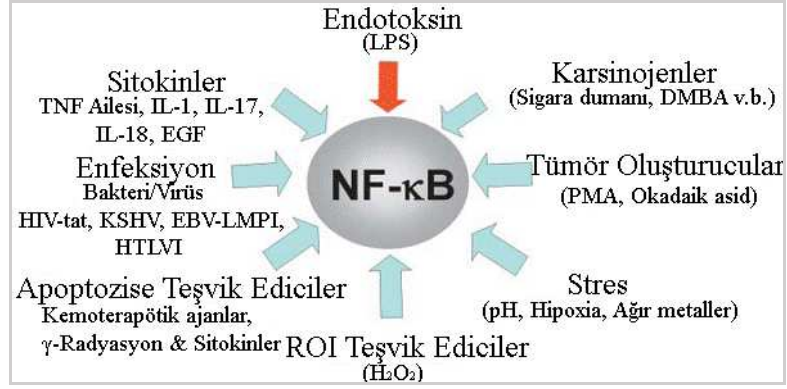


Şekil 23. Transkripsiyonel cevapların merkezi olarak NFκB (Ghosh ve Hayden, 2012)

Reaktif oksijen türleri (ROS), ultraviyole ışın (UV) ve DNA çift dal kırıkları (DSB), NF-κB aktivasyonuna sebep olan antijen reseptörlerine bağlanmasını içeren stresten proinflamatuvar sitokinlere sinyal aralığı. NF-κB, çok çeşitlilikte genlerin transkripsiyonel programlarını uyarır (Ghosh ve Hayden, 2012).

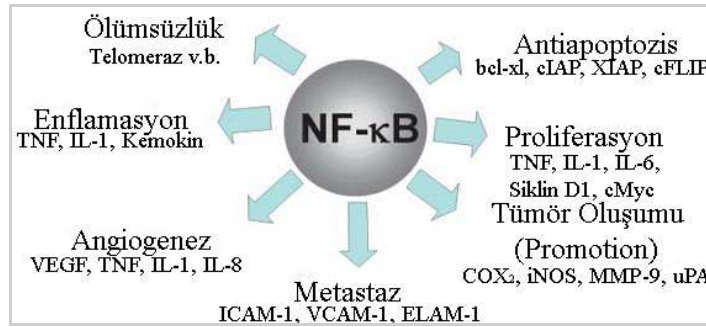
NF-κB'yi aktive edici sinyaller: NF-κB, bütün hücre tiplerinde bulunur ve stres, inflamatuvar ajanlar (sitokinler), serbest radikaller, ultraviyole ışınları, karsinojenler, tümör oluşturunucular, kemoterapötik, bakteriyel ve viral ajanlar gibi

uyaranlara hücreyel cevap oluşturmada görev alır. NF-κB, indükleyici nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz (COX-2) gibi indükleyici enzimler, büyüme faktörleri, kemokinler, adezyon molekülleri ve proinflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerin regülasyonuyla immün ve inflamatuvar cevapların oluşturulmasında önemli rol oynar (Özeren, 2008).



şekil 24. NFκB'yi aktive edici sinyaller (şenol, 2008)

NF-κB tarafından düzenlenen genler: NF-κB transkripsiyon faktörünün inflamasyon, lenfosit aktivasyonu, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre yüzey reseptörleri ve de çeşitli sitokinlerin dâhil olduğu 150'den fazla gende anlatım düzenlemesi yaparak, hücrede apoptosis ve hayatta kalma başarısına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Richmond, 2002).



şekil 25. NFκB tarafından düzenlenen genler (şenol, 2008)

NF-κB aktivasyonu yoluyla hücrede hayatta kalma başarısı, çoğalma, invazyon, anjiyojenez, inflamasyon ve metastaz oluşumlarıyla ilişkili genleri düzenler.

Aktive olmuş NF-κB, hedef genlerdeki KB elementleri denilen spesifik DNA sekanslarına bağlanarak immünoregülasyonda, büyüme kontrolünde, inflamasyonda,

karsinogenezde ve apoptozda görev alan 500'den fazla genin transkripsiyonunu düzenler (Dereci, 2012).

NFκB'nin fonksiyonu: Transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kappa B (NF-κB) birçok organ sisteminde klinik olarak önemli olan hastalıkların patofizyolojisinde kilit rol oynar (Selçuk, 2010).

NF-κB transkripsiyon faktörü, birçok farklı gen üzerindeki alışılmamış düzenleme mekanizması, yaşamsal süreçte göze çarpan korunmuş yapı, protein üyeleri arasındaki korunmuş fonksiyon ve de birçok insan hastalığı ile ilişkili olması nedeniyle, geniş ölçüde ilgiyi üzerine toplamıştır (Baldwin, 2001).

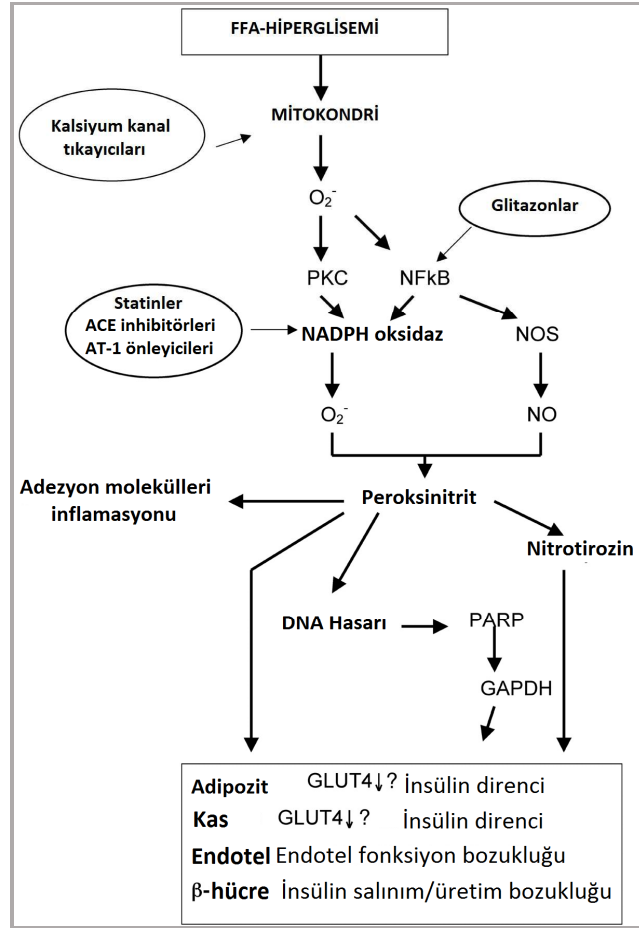
NF-κB'nin uygunsuz aktivasyonunun, astım, inflamatuvar artrit, septik şok, akciğer fibrozisi, diyabet, kanser, AIDS, arterosklerozis ve felç gibi inflamasyon ile ilişkili çeşitli insan hastalıkları ve patolojik durumlarla ilişkili olduğu saptanmıştır (Baldwin, 2001; Chen ve ark., 1999). Bunun yanı sıra NF-κB'nin tamamen ve sürekli inaktivasyonu, apoptosis, immün hücrelerinin gelişimi ve gecikmeli hücre büyümesine yol açmaktadır (Chen ve ark., 1999; Baldwin, 1996).

2.4.4. NFκB ve diyabet

NFκB, hücre büyümesi ve hayatta kalmayı içeren çoğu düzenlemede çok sayıda hedef geni düzenler. NFκB'nin hayatta kalma fonksiyonu pankreasta insülin hassasiyetini katkıda bulunur. NF-κB, TNF-α dönüşümlü apoptozisten β hücrelerini korur (Chang ve ark., 2003). Bununla birlikte NF-κB iletimi durmasıyla, diyabetojenik ajanlardan pankreatik adacıkları korur. İnflamasyonu yürüten NFκB'nin engellenmesi Tip 2 diyabeti hafifletir, hiperglisemi ve insülin direncini azaltır (Baker ve ark., 2011). Tip 1 diyabet gelişiminde; ROS aracılı NF-κB aktivasyonu, büyük olasılıkla pankreastaki β hücre ölümüne yol açan otoimmün süreci başlatıp yayan merkezi sinyaldir (Ho ve Bray, 1999).

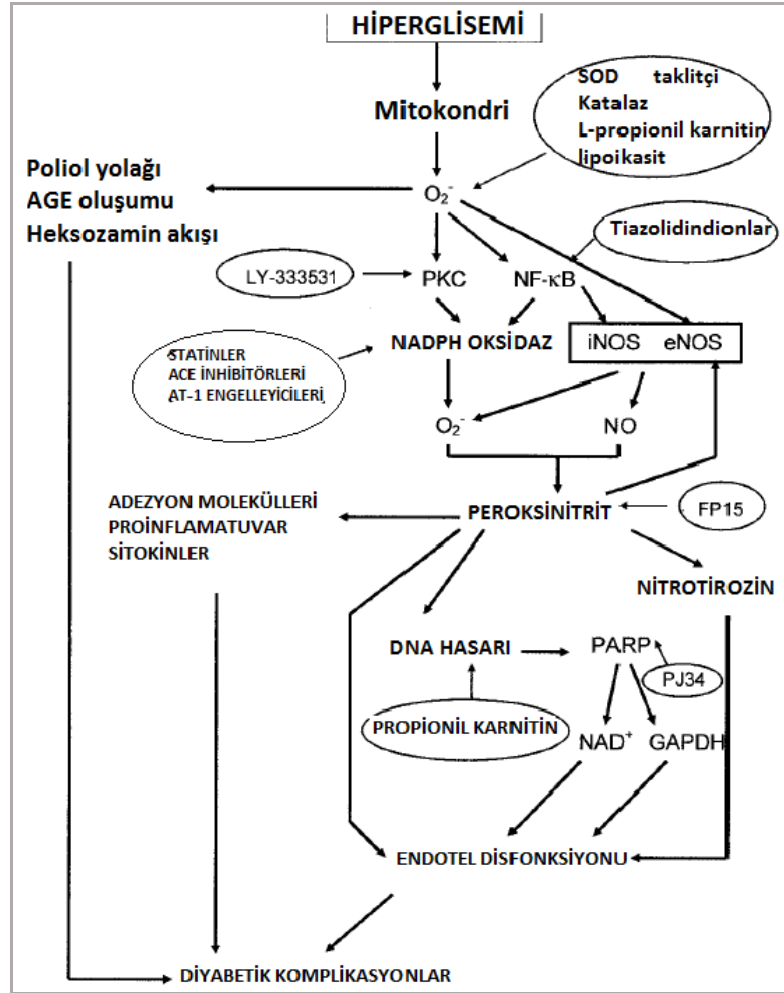
STZ'ye bağlı olarak gelişen oksidatif stresin NFκB'yi pankreas dokusunda aktive ettiğini, fakat karaciğer dokusunda NFκB aktivasyonunun gerçekleşmediği rapor edilmektedir (Ho ve ark., 2000).

Yapılan çalışmalarda NF- κ B'nin diyabetik nefropatinin oluşumunda önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Noh ve ark., 2002; Kang ve ark., 2006). Nükleer faktör kappa-B (NF- κ B), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi oksidatif strese yanıt olarak eyleme geçen ve birçok genin ekspresyonunda ve inflamatuvar genlerin üretiminden sorumlu olan redoks-duyarlı transkripsiyon faktörüdür (Abraham, 2000). Diyabetik durumlarda oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin yapımında artış olur (Rösen ve ark., 1998). SOR, nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'yi etkinleştirerek doku hasarına neden olur (Aras, 2008). Bu hasarın önlenmesinde SOR'nin etkisini azaltan NF- κ B inhibitörleri yani antioksidanlar tedavide kullanılmıştır (Montilla ve ark., 2005). Timokinon da bu amaçla kullanılan maddelerden biridir.



Şekil 26. Diyabet oluşumunun mekanizması (Ceriello ve Motz, 2004)

Hücrelerde hiperglisemi ve serbest yağ asitleri, mitokondrial seviyede süperoksit aşırı üretimini ve NOS nedeniyle nitrik oksit aşırı üretimini uyarır, PKC (protein kinaz c) ve NF-κB aktive olur (Ceriello ve Motz, 2004).



Şekil 27. Diyabetik komplikasyonlarda süperoksit ve peroksinitritin rolü (Ceriello, 2003)

Kronik hiperglisemi, ileri glikolizasyon son ürünlerinin (AGE) ortaya çıkmasına, bu da reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) oluşmasına neden olur, böylece NF-κB aktivasyonu sağlanır (Mohamed ve ark., 1999).

Sitokinler, β-hücreleri disfonksiyonuna yol açan ve apoptosis ile yıkılıma neden olan yüzlerce genin ifadesini değiştirirler. Sitokininin uyardığı bu çeşitli genler NF-κB aktivasyonu ile düzenlenir (Cardozo ve ark., 2001). Farelerde NF-κB1(p50)'in yetersiz olması STZ uygulanan diyabetlilere dayanıklılık sağlamıştır (Mabley ve ark., 2002).

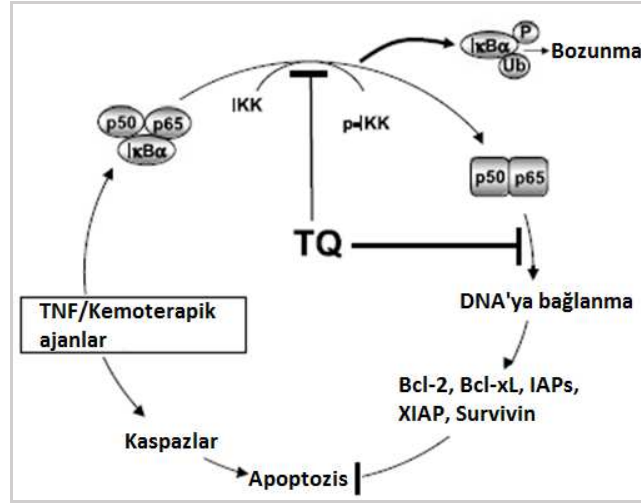
NF- κ B geçidi inhibisyonu, diyabete neden olan çoklu düşük doz STZ'den, apoptozise neden olan sitokinlerden pankreatik β -hücrelerini korur. Bu işlemin inhibisyonu potansiyel olarak β -hücrelerini korumada etkileyici bir stratejidir (Eldor ve ark., 2006).

NF- κ B aktivasyonu diyabetin patolojisinde erken tanıda anahtar bir olaydır. Diyabet ve komplikasyonlarının patojenine NF- κ B'nin dâhil olduğu kanıtlanmıştır (Patel ve Santani, 2009).

2.4.5. NF κ B ve timokinon

NF- κ B'nin uygunsuz aktivasyonu, astım, inflamatuvar artrit, septik şok, akciğer fibrozisi, diyabet, kanser, AIDS, arterosklerozis ve felç gibi inflamasyon ile ilişkili çeşitli insan hastalıkları ve patolojik durumlarla ilişkili olduğu saptanmıştır (Şenol, 2008).

Yapılan bir çalışmada TQ vasıtasıyla NF κ B aktivasyon yolağı hedefini, apoptozisi geliştirme ve antiapoptotik gen ürünlerini baskılamadaki rolünü incelemişler. TQ'nun çeşitli karsinojenler ve inflamatuvar uyaranları ile uyarılan NF κ B aktivasyonunu, doza ve zamana bağlı şekilde NF κ B aktivasyon uyarıcısı tümör nekrosis faktörü baskıladığını bulmuşlar. NF κ B aktivasyonunun baskılanması, sırayla; I κ B α kinaz aktivasyonunun inhibisyonu, I κ B α fosforilasyonu, I κ B α azalması, P65 fosforilasyonu, P65'in çekirdeğe taşınımı, NF κ B bağımlı gen ekspresyonu iletilimi ile ilişkilidir. TQ özellikle DNA'da rekombinant P65 ve nüklear P65'in direk bağlanımını baskılar. TQ hatta DNA'da P65 bağlanımını inhibe eder. Antiapoptotik, çoğalma, anjiyojenik gen ürünlerini düzenleyen NF κ B'nin ekspresyonunu düşürür. Tümör nekrosis faktör ve kemoterapik ajanlar apoptozisin uyarılmasına izin verir. TQ, bu NF κ B aktivasyon yolağının baskılanmasına aracılık eder. Bu da lösemi ve diğer kanserlerin tedavisinde potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Sethi ve ark., 2008).



Şekil 28. Timokininin NFκB aktivasyonuna inhibisyon mekanizması (Sethi ve ark., 2008)

Timokininin NFκB aktivasyonuna inhibe etmesine önerilen mekanizma görülmektedir. NFκB hücre sağkalım ve çoğalmasında gerekli gen ekspresyonunu düzenler (Sethi ve ark., 2008).

Timokininin, NF-κB antiinflamatuvar transkripsiyon faktörleri üzerine etkisini inceleyen araştırmalarda obezite, insülin direnci, aterosklerozis gibi metabolik bozuklukların gelişmesinde transkripsiyon faktörü NF-κB aktivasyonuna müdahalenin diyabeti azaltabileceği tespit edilmiştir (Baker ve ark., 2011).

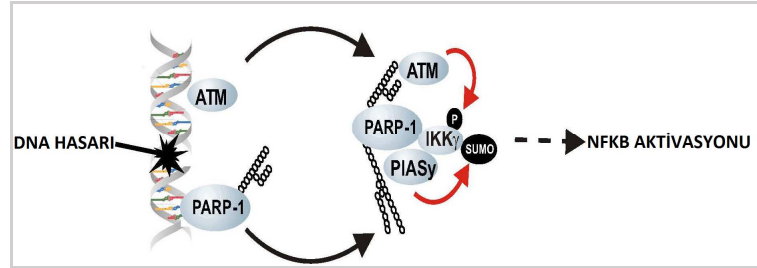
NF-κB'nin oligodeoksinükleotidleri çekmesiyle oluşan koruyucu etkisini incelemişler ve NF-κB'nin aktivasyonunun baskılanmasıyla koruyuculuğu sağladığı sonucuna varmışlar (Xu ve ark., 2005). NF-κB aktivitesinin, β-hücrelerinde hücre içindeki Ca^{+2} artışı ile uyarıldığı ortaya konmuştur (Norlin ve ark., 2005).

Bunun yanı sıra NF-κB'nin tamamen ve sürekli inaktivasyonu, apoptozis, immün hücrelerinin gelişimi ve gecikmeli hücre büyümesine yol açmaktadır (Chen ve ark., 1999).

2.4.6. NFκB ve DNA hasarı

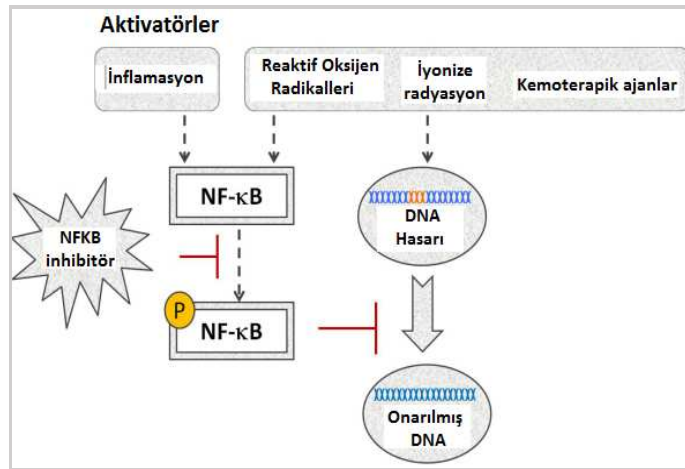
DNA hasar dedektörü PARP-1 (poliADP-riboz polimeraz) NF-kappaB'nin aktivasyonunda anahtar bir rol oynar. PARP-1 saniyeler içinde DNA hasarını tespit

eder, gen ekspresyonunun iyi bilinen regülatörü transkripsiyon faktörü NF-kappaB'yi harekete geçirir. NF-kappaB, programlanmış hücre ölümünü bloke eden bir hayatta kalma programını tetikler. NF-kappaB aktivasyonu kemoterapi ve ışın tedavisinde tümör hücresi direncinin olası nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (Stilman ve ark., 2009).



Şekil 29. DNA hasarı ve NFκB (Anonim, 2014i)

DNA hasarı, IKK uyarılması ve NF-κB aktivasyonu, PARP 1 aracılı PAR (poli ADP riboz) oluşumu ile tetiklenir. PARP-1 DNA kırıklarını iyileştirir ve PAR otomatik değişikliğe uğrar. Çekirdek plazması içine geçmesi üzerine, PARP-1 hızla PIASy, IKKg ve ATM'yi toplar. Sinyalizasyon oluşumu direkt protein-protein etkileşimine yol açar, PARB motiflerine bağlanan PAR poli ADP riboz polimerlerine bağlanır. PARP-1 aktivasyonu IKK sumolasyonunu tetikler. Bu da IKK ve NFκB aktivasyonuna izin verir. PARG (poli ADP riboz glikohidrolaz) vasıtasıyla PAR bozulması, IKKg (IKB kinaz) simolasyonu ve NF-κB aktivasyonu ile sonuçlanan sinyalizasyonun kararsız hale gelmesine neden olur (Stilman ve ark., 2009).



Şekil 30. DNA hasarı ve tamiri üzerine NFκB'nin etkisi (Kaur ve ark., 2013)

İyonize radyasyon ile NF- κ B transkripsiyonu artar. NF- κ B'nin DNA hasarında nedensel rolü, deri hücrelerinde T-T dimer oluşumu ile belirlenen DNA hasarında önemli bir azalma ile sonuçlanan farmakolojik bir inhibitör ile NF- κ B yolunun baskılandığı düşünülmüştür. Çekirdekteki DNA çift dal kırılmaları (DSBs), NF- κ B'yi aktive etmek için en güçlü DNA hasarı sinyalleridir. Bu süreç IKK kinaz (İKK) kompleksinin aktivasyonu ve I κ B α bozulması, kırılma başladıktan sonra 1-2 saat içinde oluşabilir (Mabb ve ark., 2006). NF- κ B, potansiyel olarak çift zincirli DNA kırıklarının oluşumunda potansiyel, topoizomeraz inhibitörleri (kamptotesin gibi) tarafından aktive edilebilir (McCool ve Miyamoto, 2012). Ayrıca NF- κ B aktivasyonu esas modülatöründe (NEMO) bir çinko-ibre alanına topoizomeraz inhibitörleri ile muamele edildikten sonra, IKK aktivasyonu tanımlanır (Piao ve ark., 2011). DSBs NEMO ile NF- κ B uyarılmasına izin veren bağımsız kademeli sinyalleri tetikleyebilir (Baumann, 2002). Bu durumda, DSBs, sırayla NEMO fosforilasyonuna ve dönüşte bağlanan ATM'yi aktive edebilir. Paralel iletim de, bir ölüm domaini p53-kaynaklı proteini (PIDD) NEMO simülasyonuna yol açan çekirdeğe geçiştir. Sonuç olarak, NF- κ B'nin aktivasyonu ile sonuçlanması çeşitli antiapoptotik genlerin transkripsiyonu dönüştürerek hücrenin hayatta kalmasını teşvik eder. DSB, PIDD ve ATM'ye yanıt olarak, muhtemel antiapoptotik iletimin bir parçası olan NF- κ B, antiapoptotik veya proapoptotik sinyallere yol açan başlatma yeteneğine sahiptir (Baumann, 2002). 'iki sinyal' modeli olarak DNA hasarı ile NF- κ B aktivasyon modeli, çift iplikli kırılmalar tarafından güçlü NF- κ B aktivasyonuna izin vermesi ATM aktivasyonu NEMO simülasyonuna uymasını gerektirir (Mabb ve ark., 2006). Bu bulgular birlikte ele alındığında, NF- κ B'nin, DNA-hasarının gelişiminde nedensel ve efektör rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir (Kaur ve ark., 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen, 28 adet 200–250 g ağırlığında Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Denekler rast gele her biri 7 rattan oluşan; kontrol (K), timokinon verilen (T), diyabet oluşturulup timokinon verilmeyen (D), diyabet oluşturulup timokinon verilen (DT) grup olmak üzere dört deneme grubu olarak ayrıldı. Ratlar 21 günlük deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlık uygulanmış, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Biyosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri (PlusMED Accuro)

Cam jelli tüp

Cobas Integra 800 otoanalizörü (Roche)

Derin dondurucu (İndesit),

EDTA'lı tüpler

ELISA cihazı (Anthos-Zenith-200 rt)

Enjektör

Eppendorf tüp

Hassas terazi (Scantec)

Hitachi / Modular P-P / ISE 900/ P800 otoanalizörü (Roche)

İnkübatör (NEL-EN-400)

Karıştırıcı -Vorteks (Yellowline TTS 2)

Kronometre (Elabscience)

Otomatik pipetler (50, 100, 250, 500, 1000, 5000 μl , Eppendorf, Almanya)

Portüp

Soğutmalı santrifüj (Universal 320R)

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Distile su

DNA Hasarı ELISA kit (Catalog Number: ADI-EKS-350),(Enzo Life Sciences)

Ketalar (Ketasol)

NF- κ B ELİSA kit analizi (Catalog Number: E-EL-R0673),(Elabscience)

Serum fizyolojik

Sitrik asit (Merck)

Sodyum sitrat (Merck)

Streptozotosin (Sigma, USA)

Timokinon (Aldrich)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması

Diyabet oluşturulacak D ve DT grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4.5 olan sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı (Vardı ve ark., 2005).

1. Grup (Kontrol-K): Rastgele seçilen yedi adet rat kontrol grubu olarak ayrıldı. İntraperitoneal (i.p) yoldan 45 mg/kg tek doz serum fizyolojik enjekte edildi.

2. Grup (Timokinon-T): Timokinon mısırözü yağında çözündürülerek yedi adet rata 30 mg/kg/gün olarak 21 gün süresince gavaj ile oral yoldan verildi.

3. Grup (Diyabet-D): Yedi adet rata, streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4.5 olan sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan tek doz 45 mg/kg olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biyosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 200 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi.

4. Grup (Diyabet+Timokinon-DT): Yedi adet rattan oluşan gruba, pH: 4.5 olarak ayarlanan sitrat tamponu içinde çözündürülen, 45 mg/kg STZ (Sigma, USA)

intraperitoneal (i.p) yoldan tek doz olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biyosensör şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 200 mg/dl ve üzerinde olan ratlara, mısırözü yağında çözdürülen timokinon çözeltisi 30 mg/kg/gün olarak 21 gün boyunca gavaj ile oral yoldan verildi.

3.2.2. Örneklerin toplanması

21 günlük deneme sürecinden sonra ketalar anestezi altında hayvanların kalplerinin sol ventrikülünden, jelli cam serum tüplerine ve EDTA'lı tüplere kan alındı. Jelli cam serum tüplerine alınan kanlar 3000 devirde +4°C'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Jelli cam serum tüplerinde ayrılan serum ependorf tüplere konuldu. Elde edilen serum örneklerinde 8-OHdG düzeyleri ve NF-κB düzeyleri ELISA yöntemiyle tespit edildi ve biyokimyasal parametre analizleri otoanalizörde elde edilen bu serum örneklerinde yapıldı. EDTA'lı tüplerdeki kan örneklerinde HbA1c düzeylerine bakıldı.

3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi

Kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biyosensör şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı.

3.2.4. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

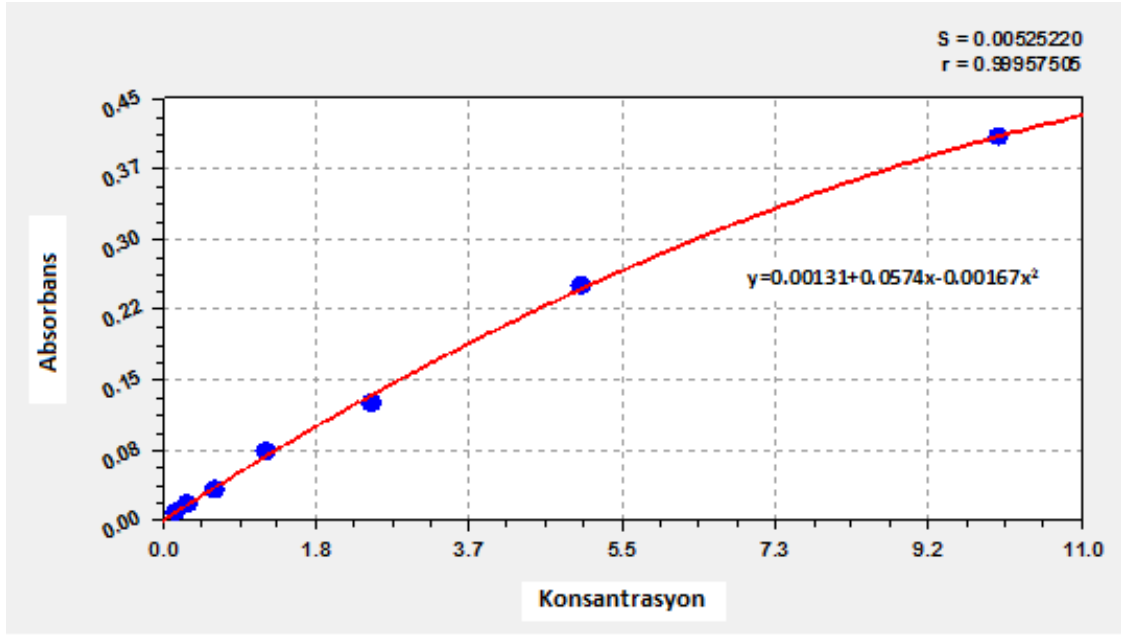
Serum örneklerinde kan glukoz, üre, ürik asit, kreatinin konsantrasyonları ve ALT, AST, GGT aktivite tayinleri ticari kit kullanılarak (Roche, Almanya), Hitachi/P800 modüler oto analizör cihazında (Roche, Almanya) yapıldı. EDTA'lı tüplere konulan tüm kanda HemogloblinA1c (HbA1c) tayini aynı gün, Roche marka Cobas Integra 800 otoanalizöründe, Roche marka ticari kitler kullanılarak yapıldı.

3.2.5. NFκB düzeylerinin ölçülmesi

NFκB düzeyleri, serum örneklerinde, Rat NF-κB (Nuclear factor-kappa B) ELISA Kit Elabscience firmasının ticari kiti kullanılarak ELİSA cihazı ile tayin edildi.

Serum NFκB düzeylerinin belirlenmesi için Rat NF-κB (Nuclear factor-kappa B) ELISA Kit (Catalog Number: E-EL-R0673) (Elabscience, China) kullanıldı. Bu ticari kitin kullanım prosedürü aşağıda özetlendi:

1. Standartlar ve örnekler belirlenen kuyucuklara 100 µl olarak eklendi ve 37°C’de 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
2. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa antikordan 100 µl ilave edildi ve 37°C’de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. Kuyucuklar boşaltılarak 3 kez 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı.
4. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 100µl HRP eklendi ve 37°C’de 30 dk inkübe edildi.
5. İnkübasyondan sonra kuyucuklar aspire edilerek 5 kez 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı.
6. Daha sonra her bir kuyucuğa 90 µl substrat eklendi ve 15 dakika karanlıkta 37°C’de inkübasyona tabi tutuldu,
7. 50 µl stop solüsyonu eklenerek Anthos 200 rt marka ELISA cihazı ile 450 nm’de absorbansı okundu.
8. NFκB standartlarının optik dansitelerine uygun standart eğri aşağıda verildiği şekilde hesaplandı. Bu eğri formülüne göre örneklerdeki NFκB yoğunluğu belirlendi.



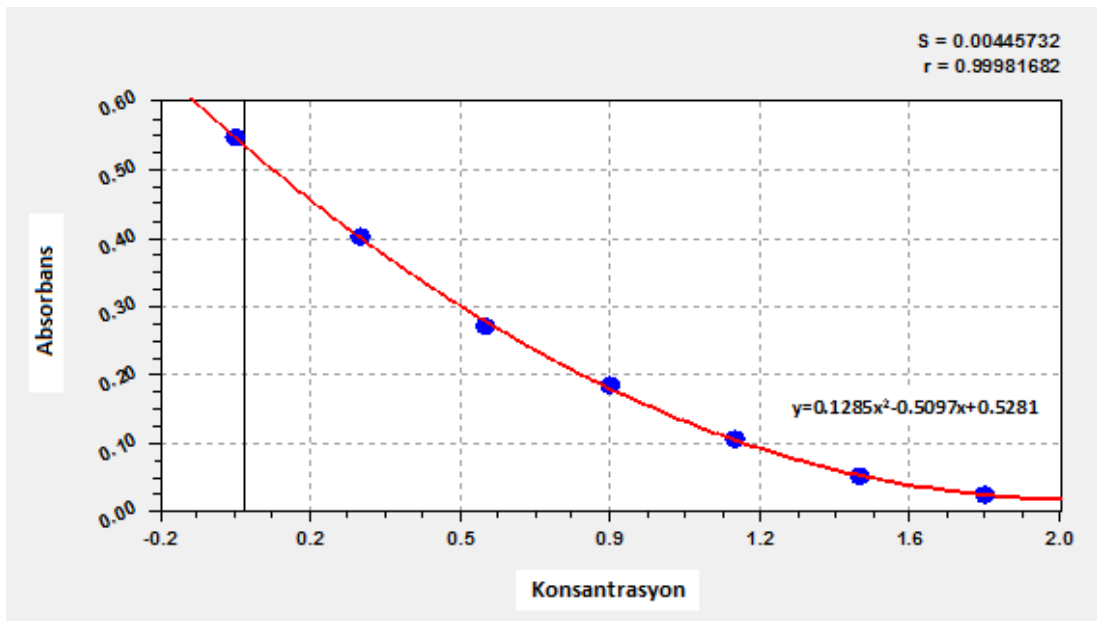
Şekil 31. NFκB standart eğrisi

3.2.6. Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi

Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi için DNA Damage ELISA kit (Catalog Number: ADI-EKS-350) Enzo Life Science firmasının ticari kiti kullanılarak ELİSA cihazı ile tayin edildi.

1. Hazırlanmış olan numuneler ve standartlar belirlenen kuyucuklara 50 µl olarak eklendi.
2. Her bir kuyucuğa sulandırılmış 50 µl antikor eklendi ve pleytin üzeri kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı.
3. Pleyt kuyucukları, 1X yıkama solüsyonu ile 300 µl/kuyucuk olacak şekilde 6 defa yıkandı.
4. 100 µl HRP konjugat eklendi ve pleytin üzeri örtülerek oda sıcaklığında 1 saat süreyle tekrar inkübasyona tabi tutuldu.
5. Pleyt kuyucukları, 1X yıkama solüsyonu ile 300 µl/kuyucuk olacak şekilde, 6 defa olmak üzere tekrar yıkama işlemi yapıldı.

6. Her bir kuyucuğa 100 µl substrat eklendi. Pleyt 15 dakika oda sıcaklığında (tercihen karanlıkta) tekrar inkübe edildi.
7. Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklendi ve pleyt absorbansı 450 nm’de Anthos 200 rt marka ELISA cihazında ölçüldü.
8. 8-OHdG standartlarının optik dansitelerine uygun standart eğri aşağıda verildiği şekilde hesaplandı. Bu eğri formülüne göre örneklerdeki 8-OHdG yoğunluğu belirlendi.



Şekil 32. 8-OHdG standart eğrisi

3.3. İstatistik Analiz

Çalışma sonunda elde edilen; kontrol, timokinon, diyabet ve diyabet+timokinon gruplarına ait veriler SPSS 22.0 paket programı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Tüm analizlerden elde edilen ham değerler, grupların ortalaması $\pm$ standart hata şeklinde sunuldu.

4. BULGULAR

Tablo 6. Çalışma gruplarından elde edilen sonuçlar

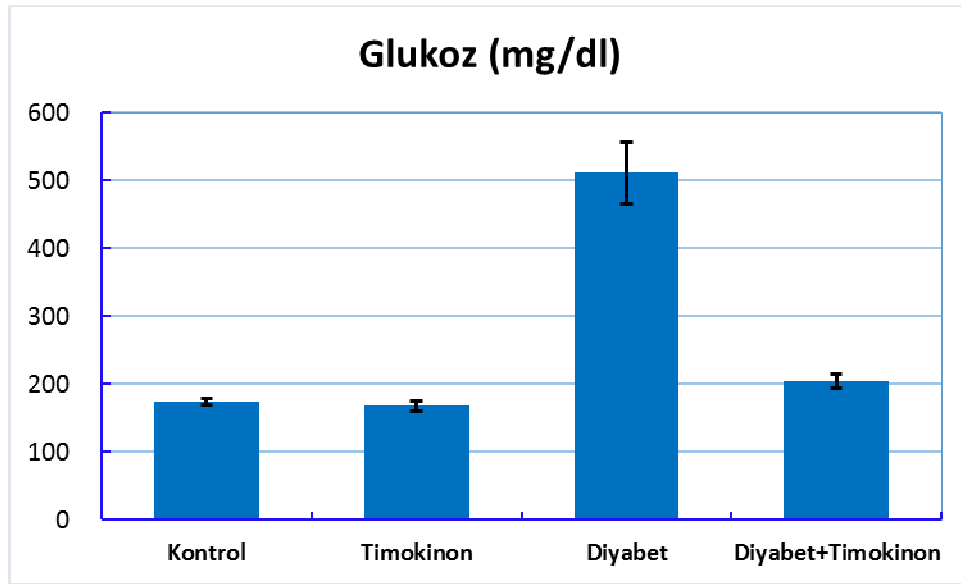
Parametreler	Kontrol	Timokinon	Diyabet	DT
Glukoz (mg/dl)	174.14±4.99b	167.71±6.93c	511.00±45.83a	204.71±10.08b
HbA1c (%)	3.597±0.07b	3.633±0.14b	5.843±0.32a	3.783±0.09b
ALT (U/l)	41.57±1.95b	42.14±1.35b	129.29±11.39a	43.71±1.95b
AST (U/l)	138.14±7.89b	139.57±5.35b	263.43±11.72a	143.43±10.15b
GGT (U/l)	0.714±0.14a	1.557±0.203ac	6.029±0.497b	2.771±0.442c
Üre (mg/dl)	49.561±1.73bc	44.23±2.89c	74.20±2.11a	51.30±1.84b
Ürik asit (mg/dl)	1.104±0.109	0.953±0.08	1.116±0.179	1.321±0.246
Kreatinin(mg/dl)	0.389±0.022	0.374±0.015	0.369±0.021	0.356±0.038
8OHdG (ng/ml)	9.99±0.52a	8.42±0.014a	11.60±0.37b	11.14±0.48b
NFκB (ng/ml)	0.089±0.007a	0.128±0.013ab	0.175±0.027b	0.151±0.031b

Aynı satırda farklı harfi alan grup ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05)

Glukoz düzeylerinin diyabet grubunda önemli oranda arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise bu düzeylerin azaldığı ve kontrol grubuna yaklaştığı ($p<0.05$), timokinon uygulanan grupta ise kontrole göre düştüğü ($p<0.05$) saptandı (Tablo 7 ve Şekil 33)

Tablo 7. Kan glukoz düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	174.14±4.99b	7
Timokinon grubu	167.71±6.93c	7
Diyabet grubu	511.00±45.83a	7
Diyabet+Timokinon grubu	204.71±10.08b	7

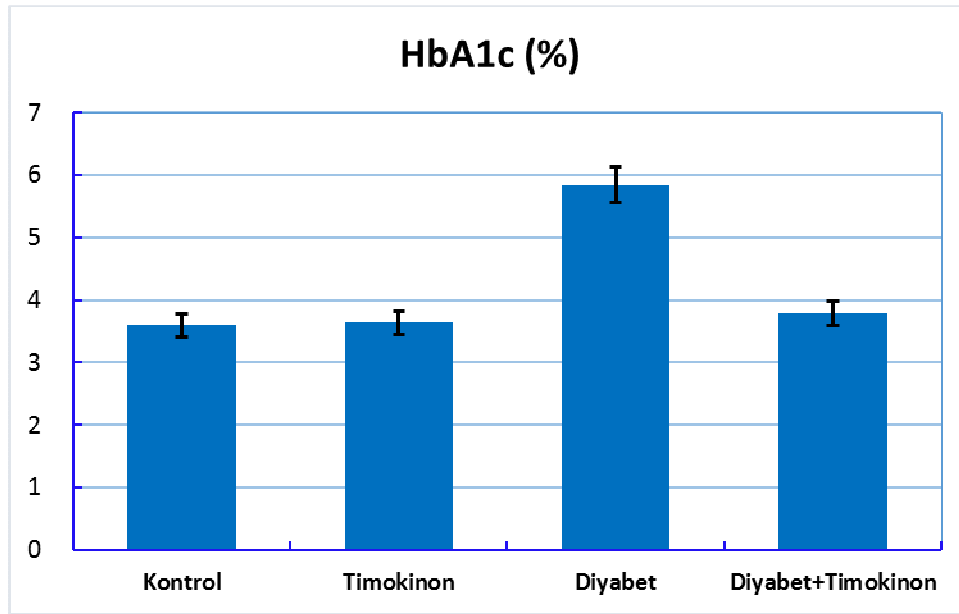


Şekil 33. Çalışma gruplarındaki ortalama kan glukoz düzeylerinin karşılaştırılması

HbA1c düzeylerinin diyabetli grupta önemli derecede artmış ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi (Tablo 8 ve Şekil 34).

Tablo 8. HbA1c düzeyleri (%)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	3.597±0.07b	7
Timokinon grubu	3.633±0.14b	7
Diyabet grubu	5.843±0.32a	7
Diyabet+Timokinon grubu	3.783±0.09b	7

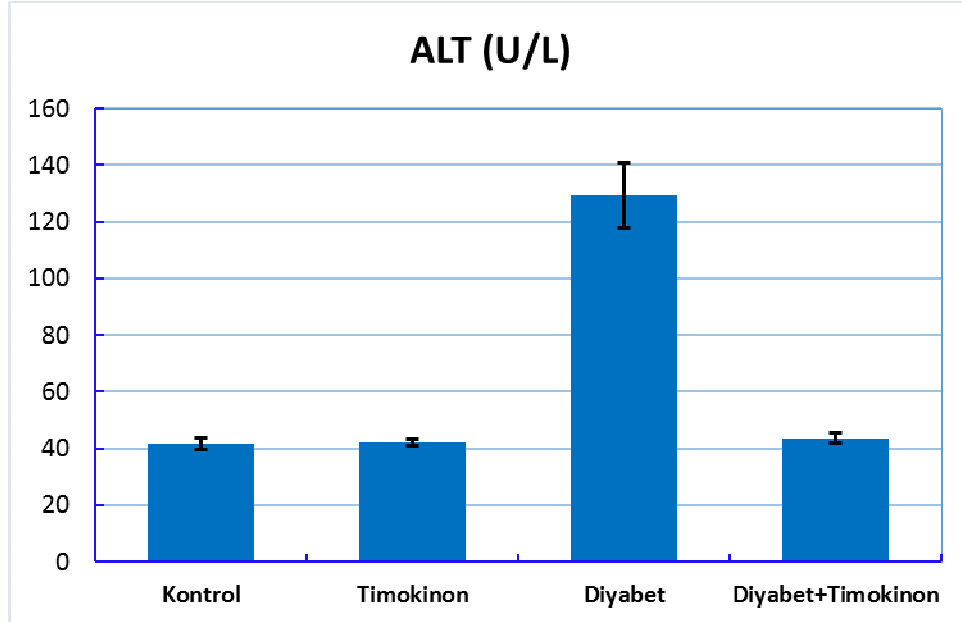


Şekil 34. Çalışma gruplarındaki ortalama HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması

ALT aktivitesinin diyabetli grupta önemli derecede arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi (Tablo 9 ve Şekil 35).

Tablo 9. Alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri (U/l)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	41.57±1.95b	7
Timokinon grubu	42.14±1.35b	7
Diyabet grubu	129.29±11.39a	7
Diyabet+Timokinon grubu	43.71±1.95b	7

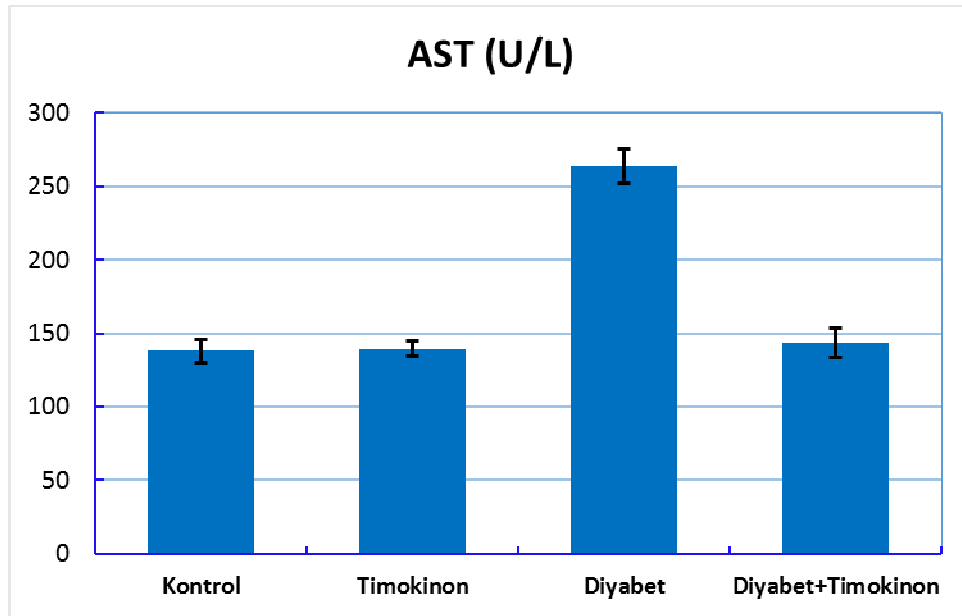


Şekil 35. Çalışma gruplarındaki ortalama ALT düzeylerinin karşılaştırılması

AST aktivitesinin diyabetli grupta önemli derecede arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi (Tablo 10 ve Şekil 36).

Tablo 10. Aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri (U/l)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	138.14±7.89b	7
Timokinon grubu	139.57±5.35b	7
Diyabet grubu	263.43±11.72a	7
Diyabet+Timokinon grubu	143.43±10.15b	7

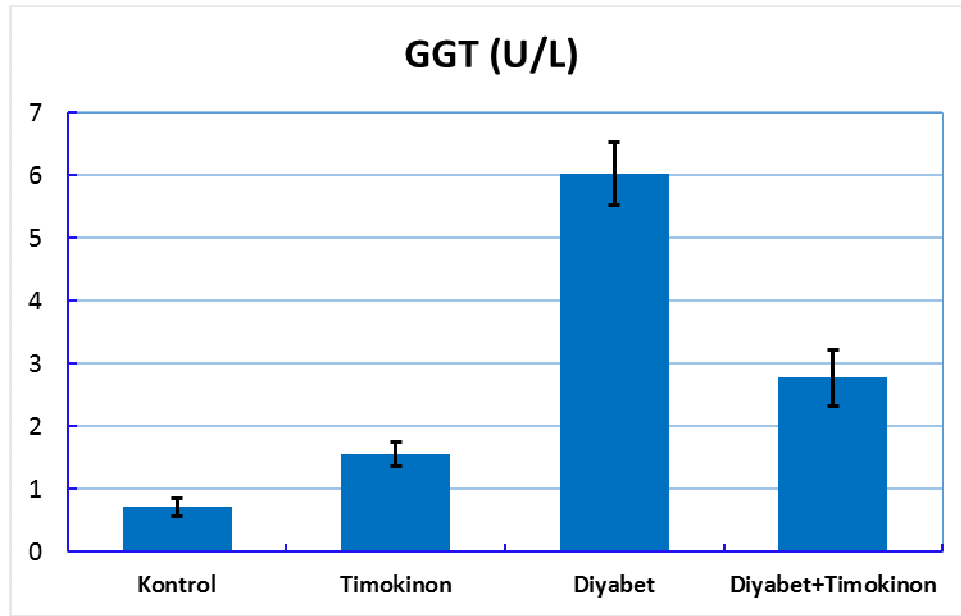


Şekil 36. Çalışma gruplarındaki ortalama AST düzeylerinin karşılaştırılması

GGT aktivitelerinin; diyabetli grupta en yüksek ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda diyabetli gruba göre önemli oranda azaldığı ($p<0.05$), ama kontrole göre halen yüksek olduğu ($p<0.05$) görüldü (Tablo 11 ve Şekil 37).

Tablo 11. Gama glutamil transferaz (GGT) düzeyleri (U/l)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	0.714±0.140a	7
Timokinon grubu	1.557±0.203ac	7
Diyabet grubu	6.029±0.497b	7
Diyabet+Timokinon grubu	2.771±0.442c	7

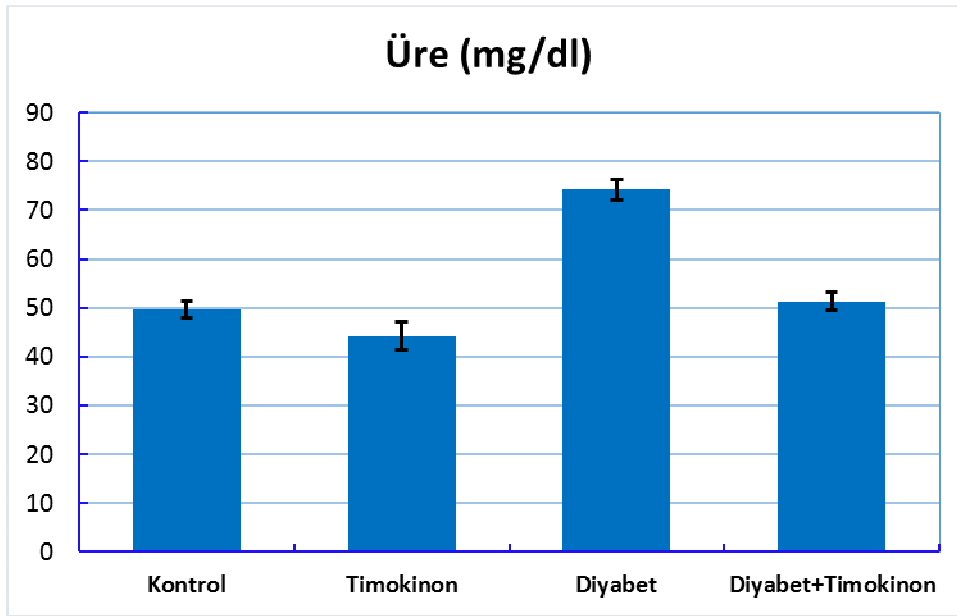


Şekil 37. Çalışma gruplarındaki ortalama GGT düzeylerinin karşılaştırılması

Üre konsantrasyonlarının, diyabet grubunda en yüksek, timokinon grubunda en düşük ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda ise diyabetli gruba göre önemli oranda azalarak ($p<0.05$) kontrol düzeylerine geldiği belirlendi (Tablo 12 ve Şekil 38).

Tablo 12. Üre düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	49.561±1.73bc	7
Timokinon grubu	44.23±2.89c	7
Diyabet grubu	74.20±2.11a	7
Diyabet+Timokinon grubu	51.30±1.84b	7

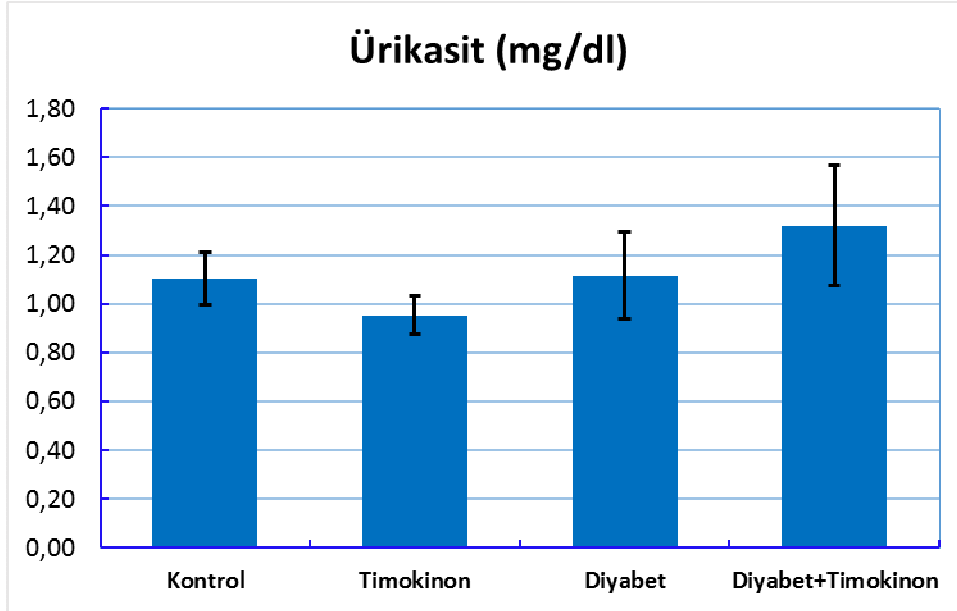


Şekil 38. Çalışma gruplarındaki ortalama üre düzeylerinin karşılaştırılması

Ürik asit düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel bir anlam tespit edilmedi (Tablo 13 ve Şekil 39).

Tablo 13. Ürik asit düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	1.104±0.109	7
Timokinon grubu	0.953±0.08	7
Diyabet grubu	1.116±0.179	7
Diyabet+Timokinon grubu	1.321±0.246	7

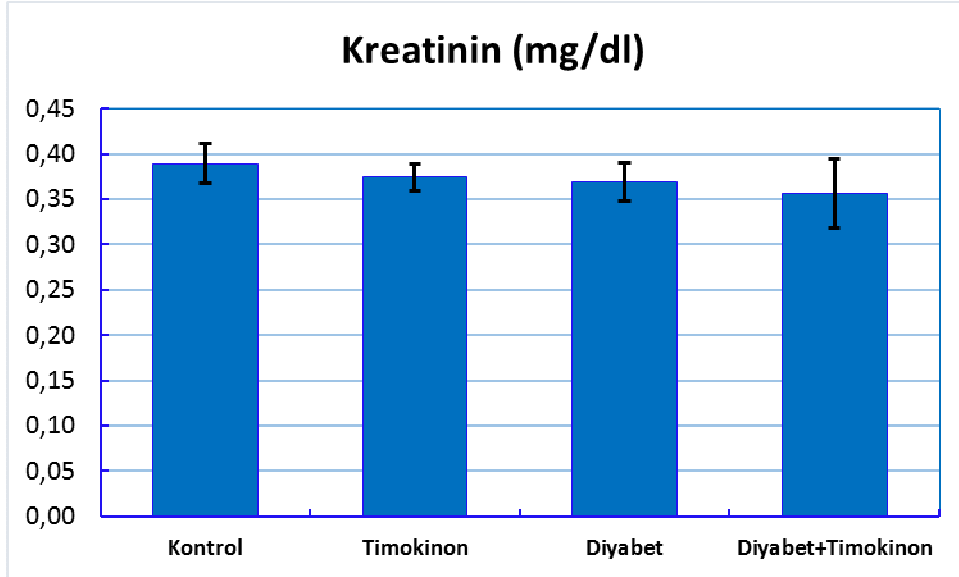


Şekil 39. Çalışma gruplarındaki ortalama ürik asit düzeylerinin karşılaştırılması

Kreatinin düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel bir anlam tespit edilmedi (Tablo 14 ve Şekil 40).

Tablo 14. Kreatinin düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	0.389±0.022	7
Timokinon grubu	0.374±0.015	7
Diyabet grubu	0.369±0.021	7
Diyabet+Timokinon grubu	0.356±0.038	7

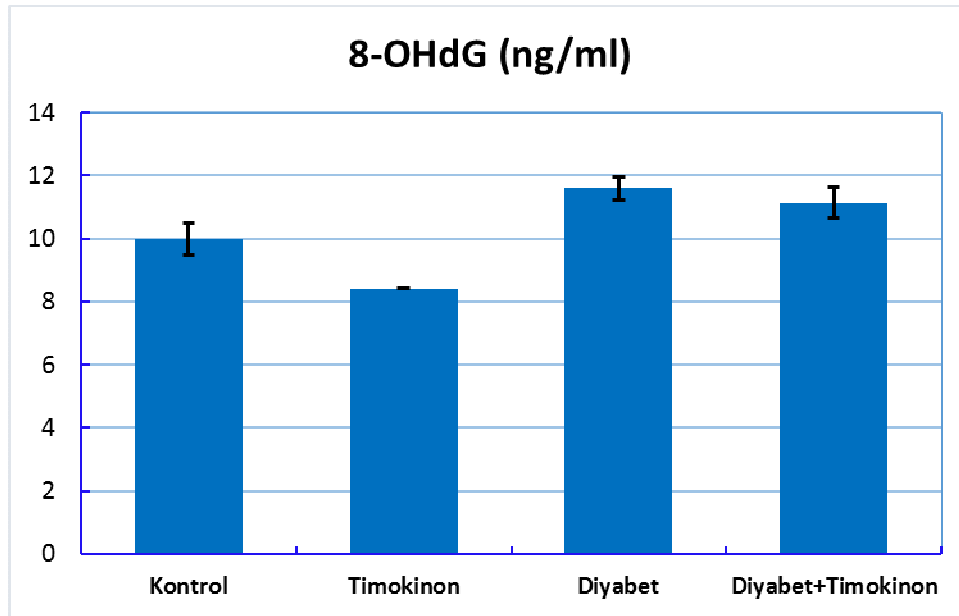


Şekil 40. Çalışma gruplarındaki ortalama kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

DNA hasarı düzeylerinin; deneysel diyabet oluşturulan her iki grupta da önemli oranda arttığı, timokinon uygulanan grupta bir miktar azalma olmasına rağmen, bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (Tablo 15 ve Şekil 41).

Tablo 15. 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	9.99±0.52a	7
Timokinon grubu	8.42±0.014a	7
Diyabet grubu	11.60±0.37b	7
Diyabet+Timokinon grubu	11.14±0.48b	7

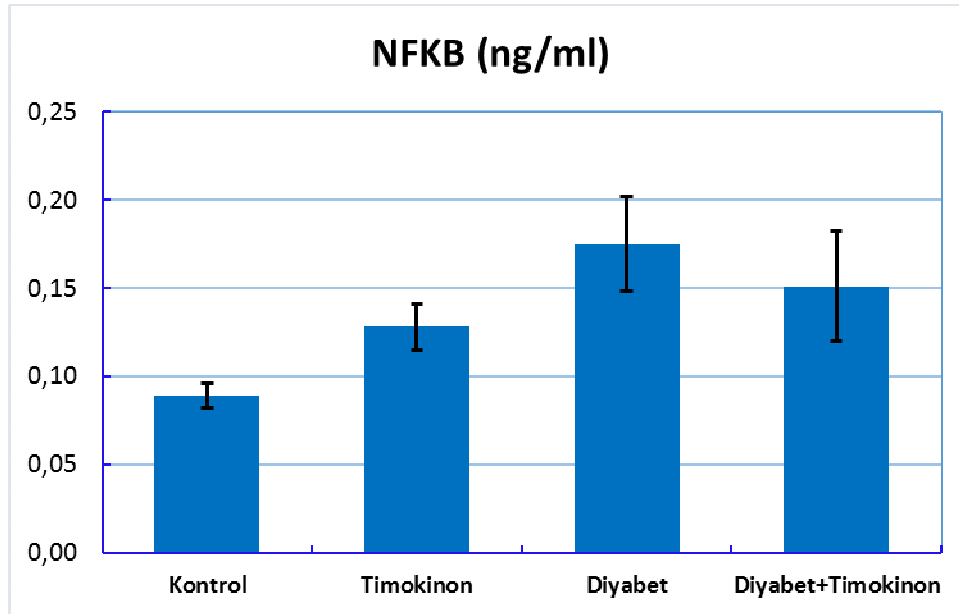


Şekil 41. Çalışma gruplarındaki ortalama 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması

NFκB düzeylerinin; diyabetli grupta en yüksek olduğu ($p<0.05$), timokinon ve DT gruplarında ise diyabetli gruba göre önemli bir fark olmadığı saptandı. Timokinon uygulanan diyabetli grupta ise, istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma tespit edildi (Tablo 16 ve Şekil 42).

Tablo 16. NFκB düzeyleri (ng/ml)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	0.089±0.007a	7
Timokinon grubu	0.128±0.013ab	7
Diyabet grubu	0.175±0.027b	7
Diyabet+Timokinon grubu	0.151±0.031b	7



Şekil 42. Çalışma gruplarındaki ortalama NFκB düzeylerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Timokinon tedavisinin, oksidatif stresi azaltarak ve pankreatik β -hücre yoğunluğunu koruyarak diyabette terapötik açıdan koruyucu etki gösterdiği çeşitli çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Kanter ve ark., 2004; Abdelmeguid ve ark., 2011; Abukhader, 2012).

STZ ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda serum insülin ve glukoz konsantrasyonları üzerine *N. sativa* su ekstraktı, *N. sativa* yağı ve timokinonun etkisinin araştırıldığı çalışmalarda oksidatif stresin azaldığı, diyabetlilere karşı koruyucu ve terapik etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Abdelmeguid ve ark., 2010; Abdelmeguid ve ark., 2011).

Abdelmeguid ve ark. (2010), diyabetik grupta serum glukoz seviyesinin arttığını, insülinin ise azaldığını, TQ uygulanmış diyabetlilerde serum glukoz seviyesinde azalış ve serum insülin seviyesinde önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yapılan diğer çalışmalarda, serum glukoz seviyesinin diyabet grubunda en yüksek, TQ tedavisi ile birlikte glukoz değerinde keskin bir düşüş ve düşük seyreden insülin seviyesinde bir artış olduğu bildirilmiştir (Kanter, 2008; Kanter, 2009b).

Diyabet oluşturulan sıçanlarda, TQ uygulanması yüksek serum glukoz seviyesini anlamlı bir şekilde düşürürken düşük olan serum insülin konsantrasyonunu ise arttırmıştır (Kanter, 2009a).

TQ'nun (3 mg/kg, 3 gün) insüline bağlı diyabette (Tip 1) STZ'nin toksik etkisini indirgeyerek patojenik işlemi azaltmada etkili olabileceği, insüline bağlı olmayan diyabette (Tip 2) ise yüksek glukoz düzeylerini normalize ederek iyileştirici etkiye sahip olabileceği belirtilirken, TQ'nun bu etkisi serbest radikalleri toplayıcı ve sitoprotektif özelliklerine bağlanmaktadır (El- Mahmoudy ve ark., 2005a).

Diyabetik ratlara gebelik ve laktasyon süresince TQ takviyesinin, yeni doğan sayısı ve ortalama vücut ağırlığındaki artış üzerine önemli etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca TQ, yavrularda kan glukoz, insülin, serbest radikal, plazma

sitokinler, lipidler ve lenfosit üretimi seviyelerini normale yaklaştırmıştır (Badr ve ark., 2013).

Coman ve ark. (2012), TQ'nun glukozun bağırsak absorpsiyonunu inhibe ettiği ve antidiyabetik etkili olduğu sonucuna varmışlardır. TQ'nun antidiyabetik etki mekanizmaları iki büyük noktada özetlenmiştir. 1) TQ, glukoz 6-fosfataz ve fruktoz 1,6-bisfosfataz, glikoneogenezis gibi glukoz metabolizmasında gerekli enzim aktivitelerini düzenler. 2) TQ, Nitrikoksit ve oksidatif stres hasar etkisine karşı pankreasın β -hücreleri üzerine koruyucu etkiye sahiptir, insülin sentezini artırır (Abukhader, 2012). Timokinonun insülin sekresyonunu artırarak glukoz kullanımında artışa ve glikoneogenezi engelleyerek kan glukozunun düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (Pari ve Sankaranarayanan, 2009; Fararh ve ark., 2005). Diyabetik ratlarda hepatik glukoneojenezde timokinon etkisiyle bir azalma olduğu, antidiyabetik etkinin karaciğerde glukoz üretimini azalttığı gösterilmiştir (Fararh ve ark., 2005). Ayrıca, kademeli olarak pankreatik β -hücre çoğalması ve yenilenmesini sağlayarak insülin sekresyonunu artırarak glukoz kullanımında artışa ve hepatik glukoz üretiminde azalışa sebep olduğu da bildirilmiştir (Kanter ve ark., 2003b).

Nitekim bu çalışmada da, glukoz düzeylerinin beklendiği üzere diyabet grubunda önemli oranda arttığı ($p<0.05$), diyabetli ratlara timokinon uygulanmasını takiben glukoz düzeylerinin önemli oranda düştüğü ve kontrol grubuna yaklaştığı ($p<0.05$) görüldü. Sadece timokinon uygulanan grupta ise antihiperglisemik etkisini gösterecek şekilde glukoz düzeylerinin azaldığı ($p<0.05$) saptandı. Bu sonuçlar literatür verilerini desteklemektedir.

Diyabetin uzun dönemde göstergesi olan HbA1c düzeylerinin tez çalışmasında, diyabetli grupta glukozla paralel olarak önemli derecede arttığı ($p<0.05$), timokinon uygulanan grupta ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi. Aynı şekilde, Pari ve Sankaranarayanan (2009), timokinonun potansiyel antihiperglisemik ve hepatik enzim aktivitesi üzerinde yaptıkları çalışmada, timokinon ile muamele edilen diyabetik farelerin plazma glukoz konsantrasyonlarında ve HbA1c değerlerinde önemli ölçüde düşüş ve insülin düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlendiğini bildirmektedirler.

Bu çalışmada, ALT ve AST aktivitelerinin; diyabetli grupta önemli derecede arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi. Bu durumun TQ'nun karaciğer koruyucu etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim pek çok kimyasal maddeden kaynaklı karaciğer hasarına karşı, çeşitli doz ve sürelerde TQ uygulanan çalışmalar literatürde mevcuttur.

TQ güvenilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada, genelde karaciğer enzimlerini etkilemediğini ve güvenli olduğu bildirilmektedir (Sivaramakrishnan ve ark., 2008). NS uygulanan ratlarda serum ALT, AST, GGT ve ALP aktivitelerinin önemli oranda arttığına (Ibraheim, 2002) dair bilgilere rağmen bu durumun, içerdiği timokinon miktarının terapötik dozdan fazla olması ile açıklanabileceği düşünülebilir.

Daba ve Abdel-Rahman (1998), N. Sativa'dan izole edilen timokinonun hepatoprotektif etkisi olduğunu bildirmektedir. Bu durumun intraselüler glutatyonun korunmasıyla ilişkili olabileceği ve etki mekanizmasının ayrıca timokinonun tromboksan B2 üretimi üzerindeki inhibitör etkisiyle bağlantılı olabileceği düşünülmüştür (Daba ve Abdel-Rahman, 1998).

TQ ilavesi hepatik enzimlerin artışını engeller. Bu etki, karaciğer enzimleri sızıntılarını azaltması sonucunda TQ ile hepatosit membranlarının stabilizasyonu sonucu olabilir (Ohkawa ve ark., 1979; Ismail ve ark., 2010; Sayed-Ahmed ve ark., 2010). Timokinonun en fazla bulunduğu N. sativa yağının ağız yoluyla 800 mg/kg/gün dozda 4 hafta süreyle uygulandığı bir çalışmada, karaciğer fonksiyonlarında herhangi bir bozulmanın görülmediği gözlenmiştir (Nagi ve ark., 1999). Besinsel dozda TQ uygulanmasının, hepatik ilaç metabolize edici enzimlere etkisinin araştırıldığı çalışmada, TQ 10 ve 20 mg/kg/günlük olarak ağızdan 8 hafta boyunca uygulandıktan sonra karaciğer enzim (ALT, AST) aktivitelerinin etkilenmediği gözlemlenmiştir (Elbarbry ve ark., 2012).

Asitaminofen ile oluşturulan hepatotoksitenin önlenmesinde TQ'nun, ağız yoluyla üç ayrı dozda (0.5, 1 ve 2 mg/kg/gün) 5 gün boyunca uygulandığı bir çalışmada, TQ ilavesinin asitaminofen kaynaklı hepatotoksiteni azalttığına kanıt olarak serum ALT aktivitesinde azalma olduğu bildirilmektedir (Nagi ve ark., 2010). Ayrıca CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulan hepatotoksitenin karşı da önleyici olarak kullanılmıştır (Al-

Ghamdi, 2003). TQ ilavesiyle, CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda, artan ALT, AST, LDH aktiviteleri saptandı. Farklı dozlarda TQ (4, 8, 12.5, 25 ve 50 mg/kg i.p.) verildiği zaman bu enzim düzeylerinin değişmediği, bununla beraber TQ yüksek dozlarının öldürücü olduğu görüldü (Mansour ve ark., 2001). Timokinonun antioksidan mekanizmalar yoluyla, farelerde CCl₄ ile oluşturulan hepatotoksisiteye karşı karaciğeri kısmi olarak koruduğu (Al-Ghamdi, 2003; Nagi ve ark., 1999), fakat D-galaktozamin ile oluşan hepatotoksisite için tam bir koruma sağlamadığı (Nagi ve ark., 1999) hakkında çalışmalar mevcuttur. TQ, lipopolisakkarit uygulanmasından sonra artan ALT ve AST aktivitelerini de azaltmıştır (Bai ve ark., 2013).

Dietilnitrozamin uygulandıktan sonra karaciğerde ALT, ALP, aktivitelerinin arttığı, buna karşın TQ (4 mg/kg/gün) uygulanmasından sonra karaciğerdeki bütün biyokimyasal ve histopatolojik değişimleri geri çevirdiği ve kontrole yaklaştırdığı saptanmıştır (Sayed-Ahmed ve ark., 2010). Rat hepatosit hücrelerinde tert-butil hidroperoksit ile oluşturulan toksisiteye karşı TQ'nun koruyucu etkilerini ortaya koymak için yapılan çalışmada, tert-butil hidroperoksitin sitozolik enzimler olan ALT ve AST enzim sızıntısına ve hücre canlılığını kaybetmeye yol açtığı görülmüş. Hücreler timokinon ile preinkübasyona tabi tutulunca ALT ve AST sızıntısının azaldığı ve hücre canlılığındaki azalmanın hafiflediği belirlenmiştir (Ragheb ve ark., 2009).

Aflatoksin B1 (AFB1)'in neden olduğu karaciğer zehirlenmesine karşı TQ kullanımının etkili olduğu görülmüş ve hepatotoksisiteye bağlı olarak artan AST, ALT, ALP aktivitelerinin düzeldiği görülmüştür (Nili-Ahmadabadi ve ark., 2011). Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan endotokseminde, TQ'nun LPS-kaynaklı hepatotoksisiteye karşı etkisinin araştırıldığı çalışmada, Serum ALP ve GGT aktivitelerinin önemli oranda arttığı ve TQ uygulanmasından sonra ALP ve GGT enzim aktivitelerinin ise azaldığı bildirilmiştir (Helal, 2010).

Timokinonun, optimum etkiyi hangi dozda ve sürede gösterdiğinin tespit edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, AST, ALT ve ALP aktivitelerinin sadece (60 mg/kg) TQ verilen 5. grupta önemli derecede arttığı ve daha düşük dozlarda karaciğer için güvenilirliğini ortaya koyduğu düşünülmüştür (Kurt, 2013).

Bai ve ark. (2013), timokinonun rat hepatik hücre hatlarında karaciğer fibrozisini, PI3K ve TLR4 yolları sayesinde hepatik hücreleri aktive ederek azalttığını, in vitro sonuçlara göre de ratlarda serum ALT ve AST seviyelerinde önemli azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bu çalışmada, GGT serum aktivitelerinin; diyabetli grupta en yüksek ($p<0.05$) olduğu, timokinon uygulanmasından sonra ise diyabetli gruba göre önemli oranda azalmasına rağmen ($p<0.05$), halen kontrol grubundan istatistiksel olarak yüksek olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Schneider ve ark. (2013), 9000 kişi üzerinde yaptıkları istatistiksel verilere göre yüksek karaciğer enzim seviyelerinin (ALT, AST, GGT) diyabet riski ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Aynı şekilde, Tip 2 diyabetlilerdeki karaciğer fonksiyon test sonuçlarına göre ALT, AST, GGT değerlerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Harris, 2005; Ni ve ark., 2012). Eidi ve ark. (2006), deneysel diyabetik ratlarda AST ve ALT değerlerinde önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Karbon tetraklorür (CCl_4) ile oluşturulan karaciğer hasarının tedavisinde, N. sativa yağının etkili olduğu bildirilmektedir (Salem, 2005). Sunulan bu çalışmada da, karaciğer fonksiyonlarını gösteren bu enzim aktivitelerine dayanarak, deneysel diyabette karaciğer hücrelerinde önemli derecede hasar meydana geldiği, timokinon uygulanmasından sonra bu durumun tersine döndüğü ve karaciğer hücreleri üzerinde onarıcı etkisinin söz konusu olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışmasında, üre konsantrasyonlarının, diyabet grubunda en yüksek, timokinon grubunda en düşük ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda ise diyabetli gruba göre önemli oranda azalarak ($p<0.05$) kontrol düzeylerine geldiği belirlendi. Ürik asit ve kreatinin düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel bir anlam tespit edilmedi.

Çeşitli etkenlere bağlı olarak deneysel olarak oluşturulan nefrotoksikozisin tedavisinde TQ uygulanmasının yararlı ve tedavi edici etkilerini ortaya koymak üzere yapılan çalışmalar mevcuttur. TQ'nun böbrek koruyucu etkileri vardır ve deneysel modellerde gösterilmiştir (Ragheb ve ark., 2009). Nefropatinin değerlendirilmesinde

kullanılan üre düzeylerinin arttığı saptanan ve günlük doz olarak TQ (50 mg/kg) verilen STZ diyabetik ratlarda, 12 hafta boyunca devam eden tedaviyi takiben, renal morfolojik ve fonksiyonel olarak düzelmelerin olduğu bildirilmektedir (Kanter, 2009a).

Deneyssel olarak STZ ile diyabet oluşturulmasını takiben 2. günden sonra başlayarak, 12 hafta süreyle günde bir kez TQ (50 mg/kg) uygulanmasının ratlarda olası nefropati komplikasyonlarına karşı koruyucu olduğu bildirilmektedir (Sayed, 2012). Çeşitli ilaçların (sisplatin) kullanımına bağlı olarak oluşabilen nefrotoksisitenin tedavisinde TQ uygulanmasını takiben, nefrotoksisite göstergesi olan artmış üre ve kreatinin düzeylerinin en yüksek oranda azaldığı ve kreatinin klirensinde en yüksek düzeyde arttığı saptanmıştır (Badary ve ark., 1997).

Gentamisin ile oluşturulan deneyssel nefropatinin göstergesi olarak, böbrek dokularında dejeneratif değişiklikler ile birlikte serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı bildirilmiş. İçme suyu ile yapılan TQ takviyesi ile böbrek dokularındaki değişiklikleri engellediği ve biyokimyasal olarak artan üre ve kreatinin düzeylerinin normal düzeylere döndüğü saptanmıştır (Sayed-Ahmed ve Nagi, 2007).

Başarslan ve ark. (2012), vankomisin (VCM) ile oluşturulan deneyssel böbrek hasarında, timokinonun koruyuculuğunu araştırdıkları çalışmada, i.p. (10 mg/kg) olarak 24 saat arayla 8 gün devam etmişler. Serum BUN ve kreatinin düzeylerinin vankomisin verilmesinden sonra arttığı, timokinon uygulanması ile bu parametre düzeylerinin düzene girmesine bağlı olarak, TQ' nun nefrotoksisitedeki koruyuculuğunu göstermesi bakımından bu verilerin önemini vurgulamışlardır.

Doksorubisin ile oksidatif stres ve nefropati oluşturulan ratlarda, serum ürede artış, hiperlipemi, idrarla albümin ve protein atılması gibi nefrotik sendrom belirtilerinin arttığı, doksorubisin verilmeden 5 gün önce içme suyu ile beraber TQ (10 mg/kg/gün) verilen grupta ise serum üre düzeylerinin önemli derecede azaldığı saptanmış. Bu sonuçların, TQ'un yüksek antioksidan özelliğinden kaynaklanan koruyuculuğu sayesinde nefrotik sendroma karşı koruyucu olarak kullanılabileceğini gösterdiği bildirilmektedir (Badary ve ark., 2000). Bundan başka TQ'nun, sisplatin (Badary ve ark., 1997) ve ifosfamide (Badary, 1999) gibi başka maddelerin nefrotoksik etkilerinin önlenmesinde yararlı olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.

Kurt (2013), belli bir dozun üzerinde (60 mg/kg) TQ verilen ratlarda üre, kreatin ve BUN düzeylerinin kontrole göre arttığını ancak günlük 5-30 mg/kg arasındaki dozların böbrekler için güvenilir olduğunu bildirmektedir.

Bunun yanında diyabete bağlı olarak gelişen böbrek hasarına karşı TQ uygulamasının yararlarını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Sayed (2012), yaptığı çalışmada, diyabet grubunda yüksek seviyede olan üre ve kreatinin değerlerinin TQ tedavisinden sonra önemli derece azaldığını gözlemlemiştir. Kanter (2009a), üre ve kreatinin değerlerinin diyabet grubunda en yüksek, TQ ile muamele edilmiş diyabet grubunda ise kontrole göre yüksek fakat diyabete göre önemli derecede düştüğünü bildirmiştir.

Yukarıda verilen literatür verilerinin ışığında, üre konsantrasyonlarının, diyabete bağlı olası nefropati başlangıcının göstergesi olarak bir miktar attığı, ancak TQ ilavesinin, bu duruma karşı böbrek koruyucu olarak önemli olabileceği düşünülmektedir.

STZ'nin β -hücre sitotoksitesinin serbest radikallerin temizlenmesini inhibe ettiği ve bu da süperoksit radikal ürünlerinin artmasına, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve sülfidril oksidasyonu ile sonuçlanmasına neden olduğu düşünülmektedir (Kanter ve ark., 2004). Diyabetli bireylerde lipid peroksidasyonunun arttığı bilinmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda; 8-OHdG, malondialdehit (MDA) gibi biyomarkırların ölçümü, organizmalardaki oksidatif stres durumunu belirlemek için önemlidir (Piconi ve ark., 2003). Oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG'in, gerek Tip I gerekse Tip II DM hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur (Dandona ve ark., 1996). Fidan (2007), diyabet grubundaki ratlarda DNA hasar düzeyinin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmektedir. Dinçer ve ark. (2003), DNA hasarını gösteren bir başka yöntem olan Comet Analiz yöntemiyle Tip I DM hastalarında mononükleer lökosit DNA hasar düzeylerini araştırdıkları çalışmada, Tip I DM hastası kadın ve erkeklerde mononükleer lökosit DNA hasar düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu tespit etmişlerdir.

Diyabetik hastalarda, oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG miktarı, dokular ve vücut sıvılarında arttığını gösteren çalışmalar yapıldı (Andican ve Burçak, 2005). Ihara ve ark. (1999) pankreas adacık β -hücrelerinde, Andican (2000) karaciğer dokusunda, Cesur (2009) kalp dokusunda, STZ diyabetik ratlarda 8-OHdG düzeylerinde artış olduğunu bildirmektedirler.

Diyabetik hastalardaki idrar 8-OHdG seviyesi sağlıklı kişilerin idrarından daha yüksektir ve 8-OHdG'in idrarla atılımı, mikroalbüminüri artışı ile birlikte (Krapfenbauer ve ark., 1998; Tsukahara ve ark., 2003).

Hinokio ve ark. (1999), İnsuline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus hastalarında (NIDDM), idrar ve lökosit 8-OHdG seviyesinin, komplikasyonsuz hastalardan daha yüksek olduğunu tespit etmiş ve bu durumun hiperglisemi ile indüklenen artmış oksidatif stresin, diyabetik komplikasyonların oluşumunda rol oynadığının bir göstergesi olduğunu ileri sürmektedirler. Dandona ve ark. (1996), Diabetes mellitus'lu hastalarda, kontrol grubuna göre daha yüksek oksidatif DNA hasarı gözlemlemiştir.

Kasznicki ve ark. (2012), Tip 2 diyabetli bireylerde oksidatif DNA hasarının, sağlıklı kontrollerden önemli oranda yüksek olduğunu ve Tip 1 diyabetli bireylerde, ilk aşamada idrardaki 8-OHdG artışının, oksidatif stres ve veziküler komplikasyon riskini göstermesi açısından önemli olabileceği düşünülmektedir (Hata ve ark., 2006). Oksidatif DNA hasarı prediyabetli ve Tip 2 diyabetli obez bireylerde kontrolden yüksektir. Oksidatif stresin artmış düzeyleri Tip 2 diyabetin patolojisinde önemli rol oynar. Erken bir stres biyomarkırı olarak 8-OHdG diyabet ve diyabete meyilli bireylerde kontrolden yüksek bulunmasının (Al-Aubaidy ve Jelinek, 2011), erken teşhis ve takip için önemli olduğu düşünülebilir.

Yapılan bir çalışmada, STZ ile oluşturulan deneysel diyabette, glukoz, glikozillenmiş hemoglobin ve oksidatif DNA hasarı kontrolden önemli oranda yüksek olduğu, glikozillenmiş hemoglobin ve oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG arasında bir korelasyon varlığı gösterilmiş. Bu sonuçlar, oksidatif yıkımın diyabette arttığını ve bu durumun glikatif stresle ilgili olduğunu desteklemektedir (Andican ve Burçak, 2005).

Oksidatif DNA hasarına karşı TQ ve bol miktarda bulunduğu çörek otunun koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Yüksek (2011), mononükleer lökositlerde oksidatif DNA hasarına karşı çörek otu sulu ekstresinin potansiyel koruyuculuğunu değerlendirmiş ve bu sulu ekstresinin 100, 50, 25 µg/mL konsantrasyonları ile muamelenin DNA hasarını azalttığını ve böylece H₂O₂ tarafından oluşturulan endojen DNA hasarına karşı hücresel koruma gösterdiği sonucuna varmıştır. DNA hasarını gösteren 8-OHdG düzeylerinin bu tez çalışmasında; deneysel diyabet oluşturulan diyabet ve diyabet+TQ gruplarında literatür verileri ile uyumlu olarak önemli oranda arttığı saptandı. Diyabet+TQ grubunda bir miktar azalma olmasına rağmen, bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. TQ ve kontrol gruplarının ise farklı olmadığı ve TQ uygulamasının DNA üzerinde güvenilir olduğunu düşündürmektedir.

Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Kontrolsüz glikasyona uğramış proteinlerin (AGEs), moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna, enzimlerin inaktive olmasına ve transkripsiyon faktörü NF-κB'nin aktivasyonunu artırarak NO seviyelerinin yükselmesine, böylelikle oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Pankreasta ise NO seviyelerinin normalin üzerine çıkması durumunda beta hücre hasarının geliştiği (Maritim ve ark., 2003; Melloul, 2008), ancak oksidatif stresin artmasıyla NFκB ve iNOS dışında başka genlerin de aktive olarak diyabet komplikasyonlarının ortaya çıkacağı bildirilmektedir (Hazman, 2011). Kronik hiperglisemi, ileri glikolizasyon son ürünlerinin (AGE) ortaya çıkmasına, bu da reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) açığa çıkmasına neden olur, böylece NF-κB aktivasyonu sağlanır (Mohamed ve ark., 1999).

İnsülin sekratoglarından (salgı yapımını uyarıcı) thiazolidinediones (TZDs) grubu ilaçların da diyabet hastalarında HbA1c'yi anlamlı bir şekilde düşürmesine eş zamanlı olarak, aşırı serbest radikal oluşumunu inhibe ederek oksidatif stresi düşürdüğü ve buna bağlı olarak iNOS ve NFκB faktörünün de inhibe olmasıyla diğer diyabetik komplikasyonların oluşmasının önüne geçildiği belirtilmektedir (Da Ros ve ark., 2004).

Endotelial hücre kültüründe, damar düz kas hücreleri ve proksimal tübül hücreleri ile hipergliseminin kendi başına NF- κ B'yi aktive edebildikleri gösterilmiştir (Craven ve ark., 1997). Aktivasyondan sonra, NF- κ B sitokinleri, adhezyon moleküllerini, nitrik oksit sentezi ve diyabetik nefropati patogeneğinde rol oynayan çeşitli inflamatuvar ve proliferatif proteinleri içeren pek çok genin transkripsiyonunu kolaylaştırabilir (Forbes ve ark., 2002).

Diyabetin hiperglisemi ve oksidatif stresi artırarak NF- κ B düzeylerinde artış sağladığını, diyabetlilere yapılan CrHis (krom histidinat) takviyesinin NF- κ B düzeylerinde azalma sağlayabileceğini ve hem diyabetin hem de diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropatinin tedavisinde katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür (Selçuk, 2010).

Iwasaki ve ark. (2007), yüksek glukoz konsantrasyonunun, tek başına, NF- κ B bağımlı transkripsiyon için bağımsız bir uyarıcı olduğunu ve bu etki insülin varlığında daha belirgin hale geldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada; NF κ B düzeylerinin; hem diyabet hem de diyabet+TQ verilen gruplarda kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek ($p<0.05$) olduğu saptandı. Diyabet+TQ grubunda bu düzeylerin bir miktar düşmesine rağmen istatistiksel bir önem tespit edilmedi. TQ verilen grupta da NF κ B düzeylerinin arttığı ama kontrolden farklı olmadığı görüldü.

Timokinonun NF- κ B antiinflamatuvar transkripsiyon faktörleri üzerine etkisini inceleyen araştırmalarda obezite, insülin direnci, aterosklerozis gibi metabolik bozuklukların gelişmesinde transkripsiyon faktörü NF- κ B aktivasyonuna müdahalenin diyabeti azaltabileceği tespit edilmiştir (Baker ve ark., 2011).

Sethi ve ark. (2008), TQ vasıtasıyla NF κ B aktivasyonu yolağı hedefinin, apoptozisi geliştirme ve antiapoptotik gen ürünlerini baskılamadaki rolü; NF κ B yolağı üzerine TQ etkisini inceledikleri çalışmada, doz ve zamana bağlı durumda NF κ B aktivasyon uyarıcısı tümör nekrozis faktörü baskıladığını bulmuşlardır.

Çeşitli karsinojenler ve inflamatuvar uyaranları NF κ B aktivasyonunu inhibe eder. NF κ B aktivasyonunun baskılanması, I κ B α kinaz, I κ B α fosforilasyon aktivasyonunun inhibisyonu, I κ B α azalması, P65 fosforilasyonu, P65 çekirdeğe taşınımı, NF κ B bağımlı

gen ekspresyonu iletimi ile ilişkilidir. TQ özellikle DNA’da rekombinant P65 ve nükleer P65’e direk bağlanımını baskılar. TQ, antiapoptotik (IAP1, IAP2, XIAP Bcl-2, Bcl-xL, and survivin), çoğalma (cyclin D1, cyclooxygenase-2, and c-Myc), anjiojenik (matriks metaloproteinaz-9 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü) gen ürünleri düzenlemelerinde, NFκB ekspresyonunu düşürür. Bu tümör nekrozis faktör ve kemoterapik ajanlar apoptozisin uyarımına izin verir. TQ, NFκB aktivasyon yolağının baskılanmasına aracılık eder. Timokinonun NFκB aktivasyonunu inhibe etmesinde önerilen mekanizma ve NFκB hücre sağkalım ve çoğalmasında gerekli gen ekspresyonunu düzenler (Sethi ve ark., 2008).

Finlay ve ark. (2010), TQ’nun, primer kemik iliği makrofajları ve HEKTLR4/MD2 hücrelerinde NFκB aktivasyonunu uyardığını gözlemlemişlerdir (Finlay ve ark., 2010).

Selçuk (2010), yağlı diyetle beslenen ve deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda krom histidinat verilmesinin; böbrek dokusunda NF-κB protein ekspresyon düzeylerini azaltıp, Nrf2 ve Akt protein ekspresyon düzeylerini de artırarak diyabet ve diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropatinin gelişiminin önlenmesinde destek sağladığını gözlemlemiştir.

Nitrik oksit, STZ ile Tip 1 diyabet geliştirme esnasında β-hücrelerinin yıkımına neden olur. Bu ratlara TQ verildiğinde serum ve pankreatik nitritleri azalttığı görülmüştür. Sadece NFκB aktive etmesiyle değil aynı zamanda p44/42 ve p38 mitojen aktiviteli protein kinazı (MAPKs) önemli derecede inhibe etmiştir. Nitrik oksit sentaz ve NO üretiminde transkripsiyonel mekanizmaya katkı sağlamış ve NO sentaz uyarılarını baskılamıştır. Bu veriler timokinonun NO inhibitör geçidi yoluyla Tip 1 diyabetin gelişimine karşı koruyucu etkisi ile antioksidan etkiye sahip olduğunu desteklemektedir. Diyabet tedavisinde TQ’nun hipoglisemik etkiye sahip olduğunun kanıtıdır (El-Mahmoudy ve ark., 2005b).

TQ’nun antidiyabetik etkisi, diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde etkili bir bileşik yapısına sahip olması ile antiglikasyon ajanı olduğunu kanıtlamıştır (Anwar ve ark., 2014; Khan ve ark., 2014). TQ’nun Tip 1 ve Tip 2 diyabette inflamatuvar medyatör seviyelerini yükselterek normalize yeteneğinde olduğu bildirilmektedir (El-

Mahmoudy ve ark., 2005a). TQ uygulanmasının çeşitli diyabet türlerinde farklı mekanizmalarla tedavi edici etkilerinin araştırıldığı çalışmalar son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Klinik çalışmalar, gelecekte TQ'nun diyabetin kontrolü ve önlenmesinde sentetik analoglarının üretilmesinde potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır (Mathur ve ark., 2011).

TQ'nun diyabetin neden olduğu oksidatif stresin azalmasında ve β -hücre bütünlüğünün korunmasında tedavi edici etki gösterdiği ve bunun sonucunda da TQ'nun oksidatif strese karşı β -hücrelerinin korunmasında klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (Kanter, 2009b).

Badr ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada, gebelik ve laktasyon süresince diyabete maruz kalan annelerin yavrularını diyabetik olmayan annelerden doğan yavrularla karşılaştırmışlar ve yavruların sonraki yaşamlarında yedi kat fazla sağlık komplikasyonlarına maruz kaldıklarını tespit etmişlerdir.

Gebelik ve laktasyon süresince diyabetli annelere besinsel timokinon ilavesiyle yavrularda etkili T hücre bağışıklık yanıtı gözlemlenmiş ve diyabetik komplikasyonlarında düzelme ve yavruların sonraki yaşamlarında koruyucu bir etki sağladığını tespit etmişlerdir. Doğum öncesi TQ takviyesi sıçan yavrularında diyabetik komplikasyonları azaltmış ve T hücre immün yanıtlarını geliştirmiştir (Badr ve ark., 2011).

Diyabette glukoz toksisitesine bağlı olarak gelişen oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması incelendiğinde, nonenzimatik glikozilasyon reaksiyonları, mitokondride elektron transport zinciri, heksozamin yolağı gibi çeşitli işlemlerle reaktif oksijen türlerin üretildiği, bu moleküllerin pankreatik beta hücre fonksiyon bozukluğunun ilerlemesine ve antioksidan enzim ekspresyonunun azalmasına yol açtığı görülmektedir. Oksidatif strese bağlı olarak görülen bu durumun, antioksidan tedavisiyle beta hücrelerinde oluşan apoptosis ve yıkımın baskılanmasıyla yararlı sonuçlar alınabileceği anlaşılmaktadır (Kajimoto ve Kaneto, 2004).

Sonuç olarak; bu tez çalışmasından elde edilen ve yukarıda literatür bilgileri ile tartışılan verilere dayanılarak; STZ ile oluşturulan deneysel diyabette artan glukoz ve

HbA1c düzeyleri ile karaciğer ve böbrek hasar göstergelerinin TQ uygulanmasını takiben önemli oranda düştüğü ve kontrol grubuna yaklaştığı, DNA hasarını gösteren 8-OHdG ve NFκB düzeylerinin ise diyabetli grupta arttığı, TQ uygulanmasının istatistiksel olarak önemsiz bir azalmaya neden olduğu saptandı. Deneysel diyabete bağlı olarak meydana gelmesi olası komplikasyonların saptanmasında, 8-OHdG ve NFκB oluşumunun etkisinin önemli bir kriter olarak karşımıza çıktığı, bu parametrelerin takibi ile komplikasyonların önlenmesi ve tedavisinde, TQ'nun rolünün değerlendirilmesinin göz ardı edilmemesi gerektiği ve farklı doz, süre ve kombinasyonlar ile sistematik olarak koruyuculuğunun araştırılmaya değer olduğu kanısına varıldı.

ÖZET

Usta Ayşe, Deneysel diyabetli ratlarda timokinon uygulanmasının Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve DNA hasarı üzerine etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2014. Bu çalışmada, deneysel diyabete bağlı olarak meydana gelmesi olası komplikasyonların saptanmasında, Nükleer faktör kappa B ve DNA hasarı oluşumunun etkisi ve bu komplikasyonların önlenmesi ve tedavisinde timokinonun olası rolünün değerlendirilmesi amaçlandı. Bu amaçla 28 adet 200-250 gr ağırlığında erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Her biri yedi rattan oluşan; kontrol (K), timokinon (T), diyabet (D) ve diyabet+timokinon (DT) grupları olmak üzere dört gruba ayrıldı. Diyabet oluşturmak için D ve DT grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. DT ve T grubundaki ratlara timokinon ayçiçeği yağında çözülürülerek, 30 mg/kg/gün olarak gavaj yoluyla uygulandı. 21 günlük denemeden sonra toplanan kan örneklerinde glukoz, HbA1c, ALT, AST, GGT, üre, ürik asit, kreatinin değerlerine ayrıca NF-kappaB ve 8-OHdG miktarlarına bakıldı. Analiz sonuçlarına göre, glukoz düzeylerinin diyabet grubunda önemli oranda arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise bu düzeylerin azaldığı ve kontrol grubuna yaklaştığı ($p<0.05$) ve timokinon uygulanan grupta ise kontrole göre düştüğü ($p<0.05$) saptandı. HbA1c düzeylerinin ise sadece diyabetli grupta önemli derecede artmış ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi. ALT ve AST aktivitelerinin; diyabetli grupta önemli derecede arttığı ($p<0.05$), DT grubunda ise önemli oranda azalarak kontrole yaklaştığı gözlemlendi. GGT aktivitelerinin; diyabetli grupta en yüksek ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda diyabetli gruba göre önemli oranda azaldığı ($p<0.05$), ama kontrole göre halen yüksek olduğu ($p<0.05$) görüldü. Üre konsantrasyonlarının, diyabet grubunda en yüksek, timokinon grubunda en düşük ($p<0.05$) olduğu, DT grubunda ise diyabetli gruba göre önemli oranda azalarak ($p<0.05$) kontrol düzeylerine geldiği belirlendi. Ürik asit ve kreatinin düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistik bir anlam tespit edilmedi. DNA hasarı düzeylerinin; deneysel diyabet oluşturulan her iki grupta da önemli oranda arttığı, timokinon uygulanan grupta bir miktar azalma olmasına rağmen, bunun istatistik olarak anlamlı olmadığı belirlendi. NF κ B düzeylerinin; diyabetli grupta en yüksek olduğu ($p<0.05$), timokinon ve DT gruplarında ise diyabetli gruba göre önemli bir fark olmadığı saptandı. Timokinon uygulanan diyabetli grupta ise, istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma tespit edildi. Sonuç olarak, STZ ile oluşturulan deneysel diyabette artan glukoz ve HbA1c düzeyleri ile karaciğer ve böbrek hasar göstergelerinin TQ uygulanmasını takiben önemli oranda düştüğü ve kontrol grubuna yaklaştığı görüldü. NF κ B düzeyleri ve DNA hasarını gösteren 8-OHdG'nin ise diyabetli grupta arttığı, TQ uygulanmasının istatistiksel olarak önemsiz bir azalmaya neden olduğu saptandı.

Anahtar sözcükler: Diabetes Mellitus, DNA hasarı, Nükleer faktör-kappa B, Rat, Timokinon, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin.

SUMMARY

Usta Ayşe, The effect of thymoquinone treatment on Nuclear factor kappa B (NF- κ B) and DNA damage on experimental diabetic rats, Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Ph. D. Thesis, Department of Biochemistry, Van, 2014. In this study, effects of nuclear factor kappa B and formation of DNA damage on detection of the possible occurrence of complications depending on experimental diabetics were investigated, and the evaluation of the possible role of thymoquinone was aimed in the prevention and treatment of these complications. For this purpose, 28 male Wistar-Albino rats weighing between 200-250 g were used. Each containing of seven rats, the rats were divided into four groups of control (C), thymoquinone (T), diabetes (D) and diabetes + thymoquinone (DT). To create diabetes in the rats belonging to D and DT groups, 45 mg / kg single dose of streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally (ip). Dissolving in sunflower oil, thymoquinone was administered as 30 mg/kg/day by oral gavage to the rats in DT and T groups. In the blood samples collected after 21 days of trial, the values of glucose, HbA1c, ALT, AST, GGT, urea, uric acid, creatinine were measured as well as the quantities of NF-kappaB and 8-OHdG. According to results, it was determined that glucose levels were increased significantly in the diabetic group ($p < 0.05$), decreased significantly and approached to control group in DT group ($p < 0.05$) and decreased in the group in which thymoquinone was implemented compared to the control group ($p < 0.05$). HbA1c levels were significantly increased only in the diabetic group ($p < 0.05$), and decreased significantly in DT group and approached to the control group. It was observed that ALT and AST activities were increased significantly in the diabetic group ($p < 0.05$), while significantly decreased in DT group closing to the control. GGT activity was the highest in the diabetic group ($p < 0.05$) but decreased significantly in DT group compared to diabetic group ($p < 0.05$), but still was higher compared to control $p < 0.05$). It was determined that urea concentrations were the highest in diabetes group and the lowest in thymoquinone group ($p < 0.05$) while decreased significantly in DT group compared to the diabetic group ($p < 0.05$) and approached to the control levels. When uric acid and creatinine levels were considered, there was no statistical meaning between the groups. Levels of DNA damage were increased in both of the groups induced diabetic. Although there has been a slight decrease in the levels of DNA damage in the thymoquinone treated group, it was determined to be statistically insignificant. NF κ B levels were the highest in the diabetic group ($p < 0.05$), while there was no important difference in thymoquinone and DT groups compared to the diabetic group. A statistically insignificant decrease was observed in the thymoquinone administered diabetes group. As a result, it was observed that increased glucose and HbA1c levels by STZ-induced diabetes and indicators of liver and kidney damages were decreased significantly and approached to the control group following the administration of TQ. It was determined that 8-OHdG which is an indicator of DNA damage and NF κ B levels were increased in the diabetic group, and TQ administration caused statistically insignificant reduction.

Key words: Diabetes Mellitus, DNA damage, Nuclear factor-kappa B, Rat, Thymoquinone, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine.

KAYNAKLAR

- Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, AL Wafa RJ (2010). Effects of nigella sativa and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats, *J Diabetes*, 2, 4, 256–266.
- Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, Al-Wafai RJ (2011). Effects of nigella sativa and thymoquinone on streptozotocin induced cellular damage in pancreatic islets of rats, *Asian J Cell Biol*, 6, 1, 1-21.
- Abraham E (2000). NF-kappaB activation, *Crit Care Med*, 28, 4, 100-104.
- Abukhader MM (2012). Thymoquinone: a promising antidiabetic agent, *Int J Diabetes Dev Ctries*, 32, 2, 65–68.
- Akhtar AH, Ahmad KD, Gilani SN, Nazir A (1996). Antiulcer effect of aqueous extracts of Nigella sativa and Pongamia pinnata in rats, *Fitoterapia*, 67, 3, 195–199.
- Al-Aubaidy HA, Jelinek HF (2011). Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus, *Eur J Endocrinol*, 164, 6, 899-904.
- Al-Enazi MM (2007). Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice, *Pak J Biol Sci*, 10, 18, 3115-3119.
- Al-Ghamdi MS (2001). The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of Nigella sativa, *J Ethnopharmacol*, 76, 1, 45-48.
- Al-Ghamdi MS (2003). Protective effect of nigella sativa seeds against carbon tetrachloride-induced liver damage, *Am J Chin Med*, 31, 5, 721-728.
- Ali BH, Blunden G (2003). Pharmacological and toxicological properties of nigella sativa, *Phytother Res*, 17, 4, 299-305.
- Al-Majed AA, Daba MH, Asiri YA, Al-Shabanah OA, Mostafa AA, El-Kashef HA (2001). Thymoquinone-induced relaxation of guinea-pig isolated trachea, *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 110, (5-6), 333-345.
- Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN (2006). Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus, *Eur J Pharmacol*, 543, 1-3, 40–47.
- Alsaif MA (2007). Effect of thymoquinone on ethanol-induced hepatotoxicity in Wistar rats, *J Med Sci*, 7, 7, 1164-1170.
- Al-Shabanah OA, Badary OA, Nagi MN, Al-Gharably NM, Al-Rikabi AC, Al-Bekairi AM (1998). Thymoquinone protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity, *J Exp Clin Cancer Res*, 17, 2, 193-198.

Andican G (2000). Oksidatif DNA Hasarının Göstergesi Olan 8-Hidroksideoksiguanozinin Analiz Yöntemi ve STZ Diyabetik Sıçanlara Uygulanması, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul.

Andican G, Burçak G (2005). Oxidative damage to nuclear DNA in streptozotocin-diabetic rat liver, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 32, 8, 663-666.

Anonim (2014a). Sağlık Bakanlığı, T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Türkiye Diyabet Önleme ve Kontrol Programı Eylem Planı (2011-2014) Ankara, Sağlık Bakanlığı, Yayın No: 816, S1, 15, Erişim tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014b). UCSF Diabetes Education Online, The University of California, San Francisco.<http://transplant.surgery.ucsf.edu/conditions--procedures/islet-cell-transplantation.aspx>, Erişim tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014c). Türkiye Diyabet Vakfı, <http://www.turkdiab.org/page.aspx?s=1>, Erişim Tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014d). T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Obezite, Diyabet ve Metabolik Hastalıklar Daire Başkanlığı, <http://www.diyabet.gov.tr/index.php?lang=tr&page=25>, Erişim Tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014e). Vikipedi, özgür ansiklopedi, Wikimedia Foundation, Inc. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Diyabet>, Erişim Tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014f). Vikipedi, özgür ansiklopedi, Wikimedia Foundation, Inc. http://tr.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin_A1c, Erişim tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014g). Mu Herbs. <http://muherbs.com/nigella-sativa-black-seed.html>, Erişim tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014h). Vikipedi, özgür ansiklopedi, Wikimedia Foundation, Inc. http://tr.wikipedia.org/wiki/Transkripsiyon_fakt%C3%B6r%C3%BC. Erişim tarihi: 24.02.2014.

Anonim (2014ı). Vikipedi, özgür ansiklopedi, Wikimedia Foundation, Inc. wikipedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/NF-%CE%BAB>, Erişim tarihi: 25.02.2014.

Anonim (2014i). Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC) Berlin-Buch, https://www.mdc-berlin.de/34445645/en/news/archive/2009/20091116-how_cells_tolerate_dna_damage__mdc_research/Schema.jpg, Erişim Tarihi: 25.02.2014.

Anonymous (2006). WHO (World Health Organization), definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia, Report of a WHO/IDF consultation, part 1, diagnosis and classification of diabetes mellitus, Geneva, depart of noncommunicable disease surveillance, 1-59.

Anonymous (2013). IDF (International Diabetes Federation), IDF International Diabetes Atlas I Sixth Edition, Brussels, S11, 12, 27, 55, (www.idf.org/diabetesatlas), Erişim Tarihi: 16.12.2013.

Anonymous (2014a). ADA (American Diabetes Association), Diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes Care, 37, supplement 1, 81-90, Erişim Tarihi: 25.02.2014.

Anonymous (2014b). ADA (American Diabetes Association), Standards of medical care in diabetes, Diabetes Care, 37, Supplement 1, 14-80, Erişim Tarihi: 25.02.2014.

Anwar S, Khan MA, Sadaf A, Younus H (2014). A structural study on the protection of glycation of superoxide dismutase by thymoquinone, *Int J Biol Macromol*, 69, 1, 476–481.

Aras B (2008). Streptozosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Pirolidyum dithiyokarbamat'ın Böbrek Dokusu Üzerine Koruyucu Etkisi, Sağlık Bakanlığı, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Aruoma OI, Halliwell B, Gajewski E, Dizdaroglu M (1989). Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates, *J Biol Chem*, 264, 34, 20509-20512.

Atmaca E, Aksoy A (2009). Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi, *YYÜ Vet Fak Derg*, 20, 2, 79–83.

Attia A, Ragheb A, Sylwestrowicz T, Shoker A (2010). Attenuation of high cholesterol-induced oxidative stress in rabbit liver by thymoquinone, *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 22, 7, 826-834.

Attoub S, Sperandio O, Raza H, Arafat K, Al-Salam S, Al Sultan MA, Al Safi M, Takahashi T, Adem A (2012). Thymoquinone as an anticancer agent: evidence from inhibition of cancer cells viability and invasion in vitro and tumor growth in vivo, *Fundam Clin Pharmacol*, 27, 5, 557-569.

Aycan İÖ, Tüfek A, Tokgöz O, Evliyaoğlu O, Fırat U, Kavaka GÖ, Turgut H, Yüksel MU (2014). Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats, *Int J Surg*, 12, 3, 213–218.

Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibani MO, Al-Bekairi AM (1997). Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity, *Can J Physiol Pharmacol*, 75, 12, 1356-1361.

Badary OA (1999). Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice, *J Ethnopharmacol*, 67, 2, 135-142.

- Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats, *Toxicology*, 143, 3, 219-226.
- Badr G, Alwasel S, Ebaid H, Mohany M, Alhazza I (2011). Perinatal supplementation with thymoquinone improves diabetic complications and T cell immune responses in rat offspring, *Cell Immunol*, 267, 2, 133-140.
- Badr G, Mahmoud MH, Farhat K, Waly H, Al-Abdin OZ and Rabah DM (2013). Maternal supplementation of diabetic mice with thymoquinone protects their offspring from abnormal obesity and diabetes by modulating their lipid profile and free radical production and restoring lymphocyte proliferation via PI3K/Akt signaling, *Lipids Health Dis*, 12, 37, 1-10.
- Bai T, Lian LH, Wu YL, Wan Y, Nan JX (2013). Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells, *Int Immunopharmacol*, 15, 2, 275–281.
- Baker RG, Hayden MS, Ghosh S (2011). NF- κ B, inflammation and metabolic disease, *Cell Metab*, 13, 1, 11–22.
- Baldwin AS Jr (1996). The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights, *Annual Rev Immunol*, 14, 643–683.
- Baldwin AS Jr (2001). Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease, *J Clin Invest*, 107, 1, 3–6.
- Başarslan F, Yilmaz N, Ateş S, Özgür T, Tutanç M, Motor VK, Arica V, Yilmaz C, İnci M, Büyükbaş S (2012). Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats, *Hum Exp Toxicol*, 31, 7, 726-733.
- Baumann L (2002). *Cosmetic Dermatology: principles and practice*, New York: McGraw-Hill, xii, 226 p.
- Bayşu Sözbilir N, Bayşu N (2008). *Biyokimya, Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara.
- Baytop T (1984). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255, İstanbul, pp. 211.
- Bonizzi G, Karin M (2004). The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity, *Trends Immunol*, 25, 6, 280–288.
- Borodaco A (2007). Classification and diagnosis of diabetes, *Terapia*, 15, 6-11.
- Brooks P, Fuertes G, Murray RZ, Bose S, Knecht E, Rechsteiner MC, Hendil KB, Tanaka K, Dyson J, Rivett J (2000). Subcellular localization of proteasomes and their regulatory complexes in mammalian cells, *Biochem J*, 346, 1, 155–161.

Buyuran A (2007). Tip 2 Diabetes Mellitus’lu Hastalarda Diabet Başlangıç Yaşının Komplikasyon Gelişme Süresine Etkisi, T.C, Sağlık Bakanlığı, Okmeydanı Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, 1. İç Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Cardozo AK, Heimberg H, Heremans Y, Leeman R, Kutlu B, Kruhoffer M, Ørntoft T, Eizirik DL (2001). A comprehensive analysis of cytokine-induced and nuclear factor- κ B dependent genes in primary rat pancreatic beta-cells, *J Biol Chem*, 276, 52, 48879–48886.

Ceriello A (2003). New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy, *Diabetes Care*, 26, 5, 1589–1596.

Ceriello A, Motz E (2004). Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24, 5, 816-823.

Cesur A (2009). Diyabetik Ratların Kalp Doku DNA Hasarında Tiroid Hormonlarının Olası Rolü, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.

Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR (2007). Lippincott’s Biyokimya, 3. Baskı, Çev: Prof. Dr. Ulukaya E, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Chang I, Kim S, Kim JY, Cho N, Kim YH, Kim HS, Lee MK, Kim KW, Lee MS (2003). Nuclear factor kappaB protects pancreatic beta-cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis, *Diabetes*, 52, 5, 1169–1175.

Chehl N, Chipitsyna G, Gong Q, Yeo CJ, Arafat HA (2009). Anti-inflammatory effects of the nigella sativa seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells, *Hepato-Pancreato-Biliary Association HPB (Oxford)*, 11, 5, 373–381.

Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM (1999). New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases, *Clin Chem*, 45, 1, 7–17.

Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT (2003). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers, *Clin Chim Acta*, 334, 1-2, 87-94.

Coman, C, Rugină, OD, Socaciu C (2012). Plants and natural compounds with antidiabetic action, *Not Bot Horti Agrobo*, 40, 1, 314-325.

Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: mechanism, mutation and disease, *FASEB J*, 17, 10, 1195-1214.

Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J (2000). Urinary 8-oxo-2-deoxyguanosine source, significance and supplements, *Free Radic Res*, 32, 5, 381–397.

Craven PA, Studer RK, Felder J, Phillips S, DeRubertis FR (1997). Nitric oxide inhibition of transforming growth factor-beta and collagen synthesis in mesangial cells, *Diabetes*, 46, 4, 671-681.

Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A (2004). The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance, *Diabet Med*, 21, 11, 1249-1252.

Daba MH, Abdel-Rahman MS (1998). Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes, *Toxicol Lets*, 95, 1, 23-29.

Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T (1996). Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus, *Lancet*, 347, 8999, 444-445.

De Martinis BS, De Lourdes PBM (2002). Methodology for urinary 8 hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection, *Pharmacol Res*, 46, 2, 129-131.

Dede S (1999). Hormonlar, Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Yayını, Van (Ed. Mert N). 146-177.

Dejardin E, Droin NM, Delhase M, Haas E, Cao Y, Makris C, Li Zw, Karin M, Ware CF, Green DR (2002). The lymphotoxin-beta receptor induces different patterns of gene expression via two NF-kappaB pathways, *Immunity*, 17, 4, 525-535.

Demirci F, Berber H, İşcan G (2008). Biyokatalizörler yardımıyla p-simen'den timokinon ve benzeri biyoaktif metabolitlerin üretimi, Temel Bilimler Araştırma Grubu (TBAG), Proje No: 106T117, Eskişehir.

Dereci Ö (2012). Ağızda Görülen Dev Hücreli Granülomaların Patogenezinde Nükleer faktör kappa beta Sinyal Yolağının Aktivitesinin Araştırılması, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.

Dinçer Y, Akçay T, İlkova H, Alademir Z ve Özbay G (2003). DNA damage and antioxidant defense in peripheral leukocytes of patients with type 1 diabetes mellitus, *Mutat Res*, 527, 1-2, 49-55.

Dizdaroğlu M (1991). Chemical determination of free radical-induced damage to DNA, *Free Radic Biol Med*, 10, 3-4, 225-242.

Dizdaroğlu M (1992). Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin, *Mutat Res*, 275, 3-6, 331-342.

Dizdaroğlu M (1998). Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry, *Free Radic Res*, 29, 6, 551-563.

Dündar Y (2001). Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam, *Kocatepe Tıp Derg*, 2, 131-138.

- Eidi A, Eidi M, Esmaeili E (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine*, 13, 9-10, 624-629.
- El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC (2006). Antiinflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation, *Int Immunopharm*, 6, 7, 1135-1142.
- El Gazzar MA, El Mezayen R, Nicolls MR, Dreskin SC (2007). Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation, *Biochim Biophys Acta*, 1770, 4, 556–564.
- El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S (2003). Gastroprotective activity of nigella sativa oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats, *J Ethnopharmacol*, 84, 2-3, 251-258.
- Elbarbry F, Ragheb A, Marfleet T, Shoker A (2012). Modulation of hepatic drug metabolizing enzymes by dietary doses of thymoquinone in female New Zealand White rabbits, *Phytother Res*, 26, 11, 1726-1730.
- El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM (2000). Effects of nigella sativa oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats, *J Ethnopharmacol*, 72, 1-2, 299–304.
- El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HP (2002). Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats, *J Ethnopharmacol*, 81, 2, 161-164.
- Eldor R, Yeffet A, Baum K, Doviner V, Amar D, Ben-Neriah Y, Christofori G, Peled A, Carel JC, Boitard C, Klein T, Serup P, Eizirik DL, Melloul D (2006). Conditional and specific NF-κB blockade protects pancreatic beta cells from diabetogenic agents, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 13, 5072–5077.
- Elledge SJ (1996). Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis, *Science*, 274, 5293, 1664-1672.
- El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan MA, Shimizu Y, El-Sayed MG, Minamoto N, Takewaki T (2002). Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages, *Int Immunopharmacol*, 2, 11, 1603–1611.
- El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, Nikami H, Takewaki T (2005a). Macrophage-derived cytokine and nitric oxide profiles in type I and type II diabetes mellitus: effect of thymoquinone, *Acta Diabetol*, 42, 1, 23–30.
- El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayed M, Takewaki T (2005b). Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism, *Int Immunopharmacol*, 5, 1, 195-207.

Ercan N, Fidancı UR (2012). Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 59, 163-168.

Erdem A, Gündoğan NU, Usubütün A, Kiliç K, Erdem SR, Kara A, Bozkurt A (2000). The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rat, *Nephrol Dial Transplant*, 15, 8, 1175-1182.

Farah KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T (2005). Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters, *Res Vet Sci*, 79, 3, 219-223.

Farah KM, Ibrahim AK, Elsonosy YA (2010). Thymoquinone enhances the activities of enzymes related to energy metabolism in peripheral leukocytes of diabetic rats, *Res Vet Sci*, 88, 3, 400-404.

Fidan F (2007). Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyet Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Afyonkarahisar.

Finlay TM, Abdulkhalek S, Gilmour A, Guzzo C, Jayanth P, Amith SR, Gee K, Beyaert R, Szezewczuk MR (2010). Thymoquinone-induced Neu4 sialidase activates NFκB in macrophage cells and pro-inflammatory cytokines in vivo, *Glycoconj J*, 27, 6, 583-600.

Forbes JM, Cooper ME, Thallas V, Burns WC, Thomas MC, Brammar GC, Lee F, Grant SL, Burrell LM, Jerums G, Osicka TM (2002). Reduction of the accumulation of advanced glycation end products by ACE inhibition in experimental diabetic nephropathy, *Diabetes*, 51, 11, 3274-3282.

Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R (2004a). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism, *Int J Oncol*, 25, 4, 857-866.

Gali-Muhtasib HU, Abou Kheir WG, Kheir LA, Darwiche N, Crooks PA (2004b). Molecular pathway for Thymoquinone-induced cell cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes, *Anticancer Drugs*, 15, 4, 389-399.

Gatei M, Young D, Cersaletti KM, Desai-Mehta A, Spring K, Kozlov S, Lavin MF, Gatti RA, Concannon P, Khanna K (2000). ATM-dependent phosphorylation of nibrin in response to radiation exposure, *Nature Genet*, 25, 1, 115-119.

Ghosh S, Hayden MS (2012). Celebrating 25 years of NF-κB Research, *Immunol Rev*, 246, 1, 5-13.

Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA (1999). High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*L. Nigella sativa*), *J Pharm Biomed Anal*, 19, 5, 757-762.

- Gilmore TD (2003). The Rel/NF-kappa B/I kappa B signal transduction pathway and cancer, *Cancer Treat Res*, 115, 241–265.
- Greenberg MM (2004). In vitro and in vivo effects of oxidative damage to deoxyguanosine, *Biochem Soc Trans*, 32, 1, 46–50.
- Güllü EB, Avcı G (2013). Timokinon: *Nigella sativa*’nın biyoaktif komponenti, *Kocatepe Vet J*, 6, 1, 51-61.
- Güney Y, Bilgihan A (2002). Ubikitin sistem, *T Klin J Med Sci*, 22, 616-619.
- Ha H, Kim KH (1999). Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C, *Diabetes Res Clin Pract*, 45, 2-3, 147-151.
- Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H (2004). Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug, *Phytother Res*, 18, 3, 195-199.
- Harris E (2005). Elevated liver function tests in type 2 diabetes, *Clinic Diabetes*, 23, 3, 115-119.
- Hata I, Kaji M, Hirano S, Shigematsu Y, Tsukahara H, Mayumi M (2006). Urinary oxidative stress markers in young patients with type 1 diabetes, *Pediatr Int*, 48, 1, 58–61.
- Hazman Ö (2011). Oral Antidiyabetik İlaç Sitagliptin’in Oksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkisinin Deneysel Tip 2 Diyabet Modeli Oluşturulan Ratlarda Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı (Vet.), Doktora Tezi, Afyonkarahisar.
- Helal GK (2010). Thymoquinone supplementation ameliorates acute endotoxemia-induced liver dysfunction in rats, *Pak J Pharm Sci*, 23, 2, 131-137.
- Hinokio Y, Suzuki S, Hirai M, Chiba M, Hirai A, Toyota T (1999). Oxidative DNA damage in diabetes mellitus: its association with diabetic complications, *Diabetologia*, 42, 8, 995-998.
- Hirao A, Kong YY, Matsuoka S, Wakeham A, Ruland J, Yoshida H, Liu D, Elledge SJ, Mak TW (2000). DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase Chk2, *Science*, 287, 5459, 1824-1827.
- Ho E, Bray TM (1999). Antioxidants, NFkappaB activation, and diabetogenesis, *Proc Soc Exp Biol Med*, 222, 3, 205-213.
- Ho E, Chen G, Bray TM (2000). Alfa-phenyl-tert-butylnitron (pbn) inhibits NFkB activation offering protection against chemically induced diabetes, *Free Radical Biol Med*, 28, 4, 604-614.
- Hoffmann A, Baltimore D (2006). Circuitry of nuclear factor κ B signaling, *Immunol Rev*, 210, 1, 171–186.

- Hosseinzadeh H, Parvardeh S (2004). Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds in mice, *Phytomedicine*, 11, 1, 56–64.
- Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M (2012). Effect of thymoquinone, a constituent of *Nigella sativa* L., on ischemia–reperfusion in rat skeletal muscle, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 385, 5, 503–508.
- Ibraheim ZZ (2002). Effect of *N. sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicin volunteer, *Saudi Pharmaceut J*, 10, 1-2, 54-59.
- Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K, Odaka H, Tanaka T, Ikeda H, Hiai H, Seino Y, Yamada Y (1999). Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic β cells of GK rats, a model of type 2 diabetes, *Diabetes*, 48, 4, 927-932.
- Ismail M, Al-Naqeeq G, Chan KW (2010). *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats, *Free Radic Biol Med*, 48, 5, 664-672.
- Iwasaki Y, Kambayashi M, Asai M, Yoshida M, Nigawara T, Hashimoto K (2007). High glucose alone, as well as in combination with proinflammatory cytokines, stimulates nuclear factor kappa-B-mediated transcription in hepatocytes in vitro, *J Diabetes Complications*, 21, 1, 56-62.
- Johnston PA, Grandis JR (2011). STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges, *Mol Interventions*, 11, 1, 18–26.
- Kajimoto Y, Kaneto H (2004). Role of oxidative stress in pancreatic beta-cell dysfunction, *Ann NY Acad Sci*, 1011, 168–176.
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM (2006). *Biyokimya*, 3. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Kang KS, Kim HY, Yamabe N, Nagai R, Yokozawa T (2006). Protective effect of sun ginseng against diabetic renal damage, *Biol Pharm Bull*, 29, 8, 1678-1684.
- Kanter M, Meral I, Yener Z, Özbek H, Demir H (2003a). Partial regeneration/proliferation of the beta-cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats, *Tohoku J Exp Med*, 201, 4, 213- 219.
- Kanter M, Meral İ, Dede S, Gündüz H, Cemek M, Özbek H, Uygan İ (2003b). Effects of *Nigella sativa* L. and *urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 50, 5, 264-268.
- Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S (2004). Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats, *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 279, 1, 685-691.

- Kanter M, Demir H, Karakaya C, Özbek H (2005). Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats, *World J Gastroenterol*, 11, 42, 6662-6666.
- Kanter M (2008). Effects of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on sciatic nerves in experimental diabetic neuropathy, *Neurochem Res*, 33, 1, 87-96.
- Kanter M (2009a). Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy, *J Mol Histol*, 40, 2, 107-115.
- Kanter M (2009b). Protective effects of thymoquinone on β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats, *Tıp Araştırmaları Derg*, 7, 2, 64-70.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000). Klinik Biyokimya, Medisan Yayınları, 45, Ankara.
- Kasai H (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage 8-hydroxy-20-deoxyguanosine as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis, *Mutat Res*, 387, 3, 147-163.
- Kasai H (2002). Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis, *Free Radical Biol Med*, 33, 4, 450-456.
- Kasai H (2003). A new automated method to analyze urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by a high-performance liquid chromatography-electrochemical detector system, *J Radiat Res*, 44, 2, 185-189.
- Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejawani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP (2007). Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer, *Cancer Res*, 67, 16, 7782-7788.
- Kaseb AO, Shama M, Sahin IH, Nooka A, Hassabo HM, Vauthey JN, Aloia T, Abbruzzese JL, Subbiah IM, Janku F, Curley S, Hassan MM (2013). Prognostic indicators and treatment outcome in 94 cases of fibrolamellar hepatocellular carcinoma, *Oncology*, 85, 4, 197-203.
- Kasznicki J, Kosmowski M, Sliwinski A, Mrowicka M, Stanczyk M, Majsterek I, Drzewoski J (2012). Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy, *Mol Biol Rep*, 39, 9, 8669-8678.
- Kaur S, Oddos T, Tucker-Samaras S, Southall MD (2013). Regulation of DNA Repair Process by the Pro-inflammatory NF- κ B Pathway, licensee InTech, Medicine, Medical Genetics, New Research Directions in DNA Repair, Chapter 8, 213-227.
- Keha EE, Küfrevioğlu Öİ (2010). Biyokimya, 7. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Khan MA, Chen HC, Tania M, Zhang DZ (2011). Anticancer activities of *nigella sativa* (black cumin), *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 8, 5, 226-232.

- Khan MA, Anwar S, Aljarbou AN, Al-Orainy M, Aldebasi YH, Islam S, Younus H (2014). Protective effect of thymoquinone on glucose or methylglyoxal-induced glycation of superoxide dismutase, *Int J Biol Macromol*, 65, 16–20.
- Krapfenbauer K, Birnbacher R, Vierhapper H, Herkner K, Kampel D, Lubec G (1998). Glycooxidation and protein and DNA oxidation in patients with diabetes mellitus, *Clin Sci (Lond)*, 95, 3, 331-337.
- Kulaksız G, Sancar A (2007). Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser, *Türk Biyokimya Derg*, 32, 3, 104-111.
- Kundu JK, Liu L, Shin JV, Surh YJ (2013). Thymoquinone inhibits phorbol ester-induced activation of NF- κ B and expression of cox-2, and induces expression of cytoprotective enzymes in mouse skin in vivo, *Biochem Biophys Res Commun*, 438, 4, 721–727.
- Kurt E (2013). Timokinon Uygulanan Ratlarda Total Antioksidan Durumu (TAS) ve Biyokimyasal Serum Profilinin Araştırılması, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Kurt İ (2003). Glukozile hemoglobin (HbA1c) ölçümü ve diabetes mellitusun uzun dönem glisemik kontrolünde kullanılması, *Gülhane Tıp Derg*, 45, 4, 387-395.
- Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, Li H, Li H, Jiang Y, An Y, Shuai Y, Zhang B, Zhang J, Thompson TJ, Gerzoff RB, Roglic G, Hu Y, Bennett PH (2008). The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study, *Lancet*, 371, 9626, 1783-1789.
- Loft S, Deng XS, Tuo J, Wellejus A, Sorensen M, Poulsen HE (1998). Experimental study of oxidative DNA damage, *Free Radic Res*, 29, 6, 525–539.
- Mabb AM, Wuerzberger-Davis SM, Miyamoto S (2006). PIASy mediates NEMO sumoylation and NF-kappaB activation in response to genotoxic stress, *Nat Cell Biol*, 8, 9, 986-993.
- Mabley JG, Hasko G, Liaudet L, Soriano FG, Southan GJ, Salzman AL, Szabo C (2002). NF κ B1(p50)-deficient mice are not susceptible to multiple low-dose streptozotocin induced diabetes, *J Endocrinol*, 173, 3, 457–464.
- Mansour MA (2000). Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice, *Life Sci*, 66, 26, 2583-2591.
- Mansour MA, Ginawi OT, El-Hadiyah T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA (2001). Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone, *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 110, 3-4, 239-251.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, (2003). Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review, *J Biochem Mol Toxicol*, 17, 1, 24-38.

- Martin, SG, Laroche T, Suka N, Grunstein M, Gasser SM (1999). Relocalization of telomeric Ku and SIR proteins in response to DNA strand breaks in yeast, *Cell*, 97, 5, 621-633.
- Mathur ML, Gaur J, Sharma R, Haldiya KR (2011). Antidiabetic properties of a spice plant nigella sativa, *Elmer Press J Endocrinol Metab*, 1, 1, 1-8.
- McCool KW, Miyamoto S (2012). DNA damage-dependent NF- κ B activation: NEMO turns nuclear signaling inside out, *Immunol Rev*, 246, 1, 311-326.
- McDorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA (2005). Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products, *Chem Biol Interact*, 152, 2-3, 107-117.
- Medenica R, Mukerjee S, Huschart T, Koffskey J, Corbit W (1993). Nigella sativa plant extract increases number and activity of immune component cell in humans, *Exper Hematol*, 21, 3, 1186.
- Melloul D (2008). Role of NF κ B in β - cell death, *Biochem Soc Trans*, 36, 3, 334-339.
- Mert N (1996). Veteriner Klinik Biyokimya, Uludağ Üniversitesi Yayını, Bursa.
- Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP (1999). The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications, *Biofactors*, 10, 2-3, 157-167.
- Mohany M, El-Feki M, Refaat I, Garraud O, Badr G (2012). Thymoquinone ameliorates the immunological and histological changes induced by exposure to imidacloprid insecticide, *J Toxicol Sci*, 37, 1, 1-11.
- Molitch ME (1990). Diabetes Mellitus, In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations, 3rd edition. Boston, Butterworths, Chapter 136.
- Montilla P, Barcos M, Munoz MC, Bujalance I, Munoz-Castaneda JR, Tunez I (2005). Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats, *J Biochem Mol Biol*, 38, 5, 539-544.
- Mousavi SH, Tayarani-Najaran Z, Asghari M, Sadeghnia HR (2010). Protective effect of nigella sativa extract and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced PC12 cells death, *Cell Mol Neurobiol*, 30, 4, 591–598.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA and Rodwell VW (2004). Harper'ın Biyokimyası. 25. Baskı. Çev: Prof. Dr. N. Dikmen, Prof. Dr. T. Özgönen, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Mutabagani A, El-Mahdy SAM (1997). A study of the anti-inflammatory activity of Nigella sativa L. and thymoquinone in rats, *Saudi Pharma J*, 5, 2, 110–113.

Müftüoğlu M (2003). DNA tamiri ve erken yaşlanma sendromları, *Türk Biyokimya Derg*, 28, 1, 20-24.

Nagi MN, Alam K, Badary OA, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Bekairi AM (1999). Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism, *Biochem Mol Biol Int*, 47, 1, 153-159.

Nagi MN, Almakki HA, Sayed-Ahmed MM, Al-Bekairi AM (2010). Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver, *Food Chem Toxicol*, 48, 8-9, 2361-2365.

Nakano M, Kawanishi Y, Kamohara S, Uchida Y, Shiota M, Inatomi Y, Komori T, Miyazawa K, Gondo K, Yamasawa I (2003). Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status: a study on 2507 healthy people, *Free Radic Biol Med*, 35, 7, 826-832.

Neşe AÇ, Ovayolu N (2006). Diyabetik ayak ve bakımı, *Atatürk Üniv Hemşirelik Yüksekokulu Derg*, 9, 2, 89-97.

Ni H, Kyaw Soe HH, Htet A (2012). Determinants of abnormal liver function tests in diabetes patients in Myanmar, *Int J Diabetes Res*, 1, 3, 36-41.

Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran, *Z Naturforsch C*, 58, 9-10, 629-631.

Nili-Ahmadabadi A, Tavakoli F, Hasanzadeh G, Rahimi H, Sabzevari O (2011). Protective effect of pretreatment with thymoquinone against Aflatoxin B1 induced liver toxicity in mice, *Daru*, 19, 4, 282-287.

Noh H, Ha H, Yu MR, Kang SW, Choi KH, Han DS, Lee HY (2002). High glucose increases inducible NO production in cultured rat mesangial cells. Possible role in fibronectin production, *Nephron*, 90, 1, 78-85.

Norlin S, Ahlgren U, Edlund H (2005). Nuclear factor- κ B activity in β -cells is required for glucose-stimulated insulin secretion, *Diabetes*, 54, 1, 125–132.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal Biochem*, 95, 2, 351-358.

Onat T, Emerk K, Sözmen EY (2006). İnsan Biyokimyası, 2. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.

Örnek Diker V (2009). Bozulmuş Açlık Glukozu, Bozulmuş Glukoz Toleransı ve Tip 2 Diabeti Olan Hastalarda Rbp4, Lipokalin-2 ve Hscrp Seviyeleri, Sağlık Bakanlığı, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Özeren Y (2008). Endometriyum Hücrelerinde Hormonlara Bağlı β -Katenin ve Nükleer Faktör- κ B Düzeylerindeki Değişiklikler, İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Özmutlu Ş (2011). Deneysel Diyabetli Ratlarda Likopen Uygulamasının ACE Aktivitesi Üzerine Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van.

Pari L, Sankaranarayanan C (2009). Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats, *Life Sci*, 85, 23-26, 830–834.

Patel S, Santani D (2009). Role of NF- κ B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications, *Pharmacol Rep*, 61, 4, 595-603.

Piao MJ, Kim KC, Choi JY, Choi J, Hyun JW (2011). Silver nanoparticles down-regulate Nrf2-mediated 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 through inactivation of extracellular regulated kinase and protein kinase B in human Chang liver cells, *Toxicol Lett*, 207, 2, 143-148.

Piconi L, Quagliaro L, Ceriello A (2003). Oxidative stress in diabetes, *Clin Chem Lab Med*, 41, 9, 1144–1149.

Prabhakar S, Starnes J, Shi S, Lonis B, Tran R (2007). Diabetic nephropathy is associated with oxidative stress and decreased renal nitric oxide production, *J Am Soc Nephrol*, 18, 11, 2945-2952.

Ragheb A, Attia A, Eldin WS, Elbarbry F, Gazarin S, Shoker A (2009). The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review, *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 20, 5, 741-752.

Randhawa MA and Al-Ghamdi MS (2011). Anticancer activity of nigella sativa (black seed)-a review, *Am J Chin Med*, 39, 6, 1075–1091.

Richmond A (2002). NF-kappa B, chemokine gene transcription and tumour growth, *Nat. Rev. Immunol*, 2, 9, 664–674.

Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H (2007). Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells, *Cancer Biol. Ther*, 6, 2, 160-169.

Rother KI (2007). Diabetes treatment--bridging the divide, *N Engl J Med*, 356, 15, 1499-1501.

Rösen P, Du X, Tschöpe D (1998). Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by α -tocopherol?, *Mol Cell Biochem*, 188, 1- 2, 103-111.

- Salama RHM (2010). Clinical and therapeutic trials of nigella sativa, *TAF Prev Med Bull*, 9, 5, 513-522.
- Salem ML (2005). Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the Nigella L Seed, *Int Immunopharmacol*, 5, 13-14, 1749-1770.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the damage checkpoints, *Annu Rev Biochem*, 73, 39-85.
- Sayed AA (2012). Thymoquinone and proanthocyanidin attenuation of diabetic nephropathy in rats, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 16, 6, 808-815.
- Sayed-Ahmed MM, Nagi MN (2007). Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 34, 5-6, 399-405.
- Sayed-Ahmed MM, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Yahya AA, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Nagi MN (2010). Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling, *Oxid Med Cell Long*, 3, 4, 254-261.
- Schneider AL, Lazo M, Ndumele CE, Pankow JS, Coresh J, Clark JM, Selvin E (2013). Liver enzymes, race, gender and diabetes risk: the Atherosclerosis risk in communities (ARIC) study, *Diabet Med*, 30, 8, 926-933.
- Schoonbroodt S, Piette J (2000). Oksidative stres interference with the Nuclear faktor- κ B aktivasyon pathways, *Biochem Pharmacol*, 60, 1075-1083.
- Selçuk Y (2010). Streptozotosin ile İndüklenmiş Diyabetik Ratlarda Krom Histidinatin NF- κ B, Nrf2 ve Akt Proteinlerinin Ekspresyonu Üzerine Etkileri, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Elazığ.
- Sen R, Baltimore D (1986). Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism, *Cell*, 47, 6, 921-928.
- Sethi G, Ahn KS, Aggarwal BB (2008). Targeting Nuclear factor- κ B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis, *Mol Cancer Res*, 6, 6, 1059-1070.
- Shen J, Deininger P, Hunt JD, Zhao H (2007). 8-hydroxy-2-deoxyguanosine(8-OH-dG) as a potential survival biomarker in patients with nonsmall-cell lung cancer, *Cancer*, 109, 3, 574-580.
- Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage, *Proc Natl Acad Sci USA*, 86, 24, 9697-9701.
- Shoieb AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK (2003). In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone, *Int J Oncol*, 22, 1, 107-113.

Shuid AN, Mohamed N, Mohamed IN, Othman F, Suhaimi F, Ramli ESM, Muhammad N, Soelaiman IN (2012). *Nigella sativa*: a potential antiosteoporotic agent, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-6.

Sivaramakrishnan V, Shilpa PN, Praveen Kumar VR, Niranjali Devaraj S (2008). Attenuation of N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinogenesis by a novel flavonol-Morin, *Chem Biol Interact*, 171, 1, 79-88.

Stilmann M, Hinz M, Arslan SC, Zimmer A, Schreiber V, Scheidereit C (2009). A nuclear poly(ADP-ribose)-dependent signalosome confers DNA damage-induced I κ B kinase activation, *Mol Cell*, 36, 3, 365-378.

Stower H (2013). Genome evolution: Adaptive human regulatory variation, *Nat Rev Genet*, 14, 8, 520-521.

Swamy SM, Tan BK (2000). Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* seeds, *J Ethnopharmacol*, 70, 1, 1-7.

Şenol S (2008). Aydın İli Popölasyonunda Nükleer faktör-kappaB1 (NF- κ B1) ve NF- κ B1a Genlerinin Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

Tak PP, Firestein GS (2001). NF-kappa B: a key role in inflammatory diseases, *J Clin Invest*, 107, 1, 7-11.

Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA (2002). Current Medical Diagnosis and Treatment, International edition, NewYork: Lange Medical Books/McGraw-Hill.; pp. 1203-1215.

Tsoulfas G, Geller DA (2001). NF- κ B in transplantation: friend or foe?, *Transplant Infectious Disease*, 3, 4, 212-219.

Tsukahara H, Sekine K, Uchiyama M, Kawakami H, Hata I, Todoroki Y, Hiraoka M, Kaji M, Yorifuji T, Momoi T, Yoshihara K, Beppu M, Mayumi M (2003). Formation of advanced glycosylation end products and oxidative stress in young patients with type 1 diabetes, *Pediatr Res*, 54, 3, 419-424.

Turner PC, Mc Lannan AG, Bates AD, White MRH (2004). Moleküler Biyoloji, 2. baskıdan çeviri, çeviri editörü: Prof. Dr. M. Konuk, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C (2009). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis, *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 27, 2, 120-139.

Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlı A (2005). Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri, *İnönü Üniv Tıp Fak Derg*, 12, 3, 145-152.

- Wagner H, Fransworth NR (1990). Economic and Medicinal Plant Research, Vol. 4, Plants and Traditional Medicine, Academic press, London.
- Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG (1995). Gamma-glutamyltransferase: determinants and association with mortality from ischemic heart disease and all causes, *Am J Epidemiol*, 142, 7, 699-708.
- Ward C, Walker A, Dransfield I, Haslett C, Rossi AG (2004). Regulation of granulocyte apoptosis by NF- κ B, *Biochem Soc Trans*, 32, 3, 465-467.
- Williams GM, Jeffrey AM (2000). Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced, *Regul Toxicol Pharmacol*, 32, 3, 283-292.
- Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KH (2012). Thymoquinone, potential cure for inflammatory disorders and cancer, *Biochem Pharmacol*, 83, 4, 443-451.
- Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics, *Clin Chim Acta*, 339, 1-2, 1-9.
- Xu MQ, Shuai XR, Yan ML, Zhang MM, Yan LN (2005). Nuclear factor- κ B decoy oligodeoxynucleotides attenuates ischemia/reperfusion injury in rat liver graft, *World J Gastroenterol*, 11, 44, 6960-6967.
- Yanaroğlu S (2011). Çörek otunun (*nigella sativa* L.) Biyolojik Etkileri Üzerine Bir Araştırma, K.K.T.C., Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Lefkoşa.
- Yokuş B, Çakır DÜ (2002). İn vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkırı; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, *T Klin Tıp Bilimleri*, 2002, 22, 535-543.
- Yüksek Ş (2011). *Nigella Sativa* Sulu Ekstresinin Oksidatif DNA Hasarına Etkileri, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.
- Zhou BB, Elledge SJ (2000). The DNA damage response: putting checkpoints in perspective, *Nature*, 408, 6811, 433-439.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Denizli’ de dünyaya geldi. İlk, orta ve lise eğitimini Denizli’nin Tavas ilçesinde tamamladı. 2002 yılında girdiği Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2006 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Organik Kimya Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 2008 yılında mezun oldu. 2008 yılında Aydın Adnan Menderes Üniversitesinde doktora başladı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü’ne açılan Uzmanlık sınavını kazanarak, 2009 yılında Uzman olarak göreve başladı. Halen burada çalışmaya devam etmektedir. Doktora eğitimine 2011’de Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı’na yatay geçişle devam etti. Evlidir.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Yazısı (Sayı:B.08.6.YÖK.2.YY.0.05.0.06/300-44)



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı:B.08.6.YÖK.2.YY.0.05.0.06/300 -44 -
Konu :

25/01/2013

Sayın: Prof. Dr. Semiha DEDE
(Veteriner Fakültesi)

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 17.01.2013 tarih ve 01 sayılı kararı gereğince; Yürüttüğünüz yapmış olduğunuz “Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi” isimli projenize raportör değerlendirme sonucuna göre YUHADYEK tarafından çalışma onayı verilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, çalışmalarınızı kurul üyelerinin denetimine açmanız zorunludur.

Projenizi denetlemek için Eczacılık Fakültesinden Prof. Dr. İdris TÜREL ve Deney Hayvanları Ünitesinden Vet. Hekim Yıldırım BAŞBUĞAN görevlendirilmiştir. İlgili denetleyiciler ile çalışmaya başlamadan önce temasa geçmeniz gerekmektedir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. İdris TÜREL
YUHADYEK Başkanı

Eki: Araştırma Başvuru Onay Belgesi (1adet)

Ek-2. Araştırma Başvuru Onay Belgesi (Sayı:B.08.6.YÖK.2.YY.0.05.0.06/300-44)

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

Araştırmanın Adı	Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi
Araştırmanın Yürütücüsü	Prof. Dr. Semiha DEDE
Yardımcı Araştırmacılar	Doktora Öğr. Ayşe USTA
Kurumu	Veteriner Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	12 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 32 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	
Başvuru Tarihi	21.11.2012

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2013/-01/...	Tarih:17.01.2013
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi /elemanı Prof. Dr. Semiha DEDE'nin sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
BASKAN Prof. Dr. İdris TÜREL	BASKAN YARDIMCISI Prof. Dr. Hasan ÜLKER
ÜYELER Prof. Dr. Murat DEMİREL Doç. Dr. Fazıl ŞEN Doç. Dr. Sıddık KESKİN Yrd. Doç. Dr. Fatih GARÇA Yrd. Doç. Dr. Barış Atalay USLU Vet. Hekim Yıldırım BAŞBUĞAN	Prof. Dr. Duran BOLAT Doç. Dr. Ali İhsan ZENGİNGÜL Doç. Dr. Fatma ULHAN Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.

Ek-3. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi



**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ**

**YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE**

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Deneyssel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Nükleer Faktör Kappa B (Nf-Kb) ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi The effect of thymoquinone treatment on Nuclear factor kappa B and DNA damage on experimental diabetic rats
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü: Prof. Dr. Semiha DEDE Yardımcı Araştırmacı: Ayşe USTA
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i> : 08.07.2013	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i> : 29.09.2014	
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i> : 18 ay	
Proje No / <i>Project Number</i> : 2013-SBE-D046	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i> : Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı	
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i> : 13,000.00 TL	
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 13 / 11 / 2014 tarih ve 2014/12 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 13 / 11 / 2014 (decision number 2014/12).	
Prof. Dr. Duran BOLAT Doç. Dr. Fatma HAN Doç. Dr. Ayşe DURMUŞ Doç. Dr. Barış Atalay USLU Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	BASKAN V. Prof. Dr. Hasan ÜLKER ÜYELER Prof. Dr. Sıddık KESKİN Doç. Dr. Erol ŞEN Doç. Dr. M. Fatih GARÇA Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)